



ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE BUIATRIA

PRESIDENTE: Valentim Arabicano Gheller (MG)

1º VICE-PRESIDENTE: Rudiger Daniel Ollhoff (PR)

2º VICE-PRESIDENTE: Maria Clorinda Soares Fioravanti (GO)

SECRETÁRIO-GERAL: Maurício Garcia (SP)

COMISSÃO ORGANIZADORA VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA

PRESIDENTE

Maria Izabel Carneiro Ferreira (UFMG)

MEMBROS

Antônio Último de Carvalho (UFMG)

Douglas Kiarelly Godoy de Araujo (UFMG)

Elias Jorge Facury Filho (UFMG)

Paulo Marcos Ferreira (UFMG)

Sandra Gesteira Coelho (UFMG)

Valentim Arabicano Gheller (UFMG)

RESPONSÁVEIS POR MÓDULOS

Adriana de Souza Coutinho (UFLA)

Andrey Pereira Lage (UFMG)

Bolivar Nóbrega de Faria (PUC Betim)

Eduardo Bastianetto (UFMG)

Eliane Vianna da Costa e Silva (UFMS)
Márcio Gianordoli Teixeira Gomes (UFMG)
Mônica Maria de Oliveira Pinho Cerqueira (UFMG)

COMITÊ CIENTÍFICO DO VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA
PRESIDENTE:

Maria Clorinda Soares Fioravanti (UFG)

MEMBROS:

Alice Maria Melville Paiva Della Libera (USP)
Antônio Último de Carvalho (UFMG)
Carla Lopes Mendonça (UFRPE)
Cícero Araújo Pitombo (UFF)
Elias Jorge Facury Filho (UFMG)
Ivan Roque de Barros Filho (UFPR)
José Augusto Bastos Afonso da Silva (UFPE)
José Diomedes Barbosa Neto (UFPA)
José Renato Junqueira Borges (UnB)
Joselito Nunes Costa (UFBA)
Júlio Augusto Naylor Lisbôa (UEL)
Luiz Antônio Franco da Silva (UFG)
Naida Cristina Borges (UFG)
Paulo Marcos Ferreira (UFMG)
Rudiger Daniel Ollhoff (PUC Paraná)

CONSULTORES AD HOC

Cecília Nunes Moreira (UFG)
Cláudia Pestana Ribeiro (Instituto Biológico)
Eliane Sayuri Miyagi (UFG)
Fernando Nogueira de Souza (USP)
Flávia Gontijo de Lima (UFG)
Maiara Garcia Blagitz (USP)
Marcos Fernando Oliveira e Costa (UFG)
Paulo Cesar Amaral Ribeiro da Silva (UFF)

Rogério Elias Rabelo (UFG)
Valéria de Sá Jayme (UFG)
Viviani Gomes (UNIANHANGUERA)

EDITORES

Maria Clorinda Soares Fioravanti (UFG)
Flávia Gontijo de Lima (UFG)

EDITORAÇÃO ELETRÔNICA

Antônio José Siqueira Borges (UFG)

REVISOR DE LINGUA INGLESA

Gisele Dionísio da Silva (UFG)

EDITORIAL

Ao assumir a responsabilidade de coordenar as ações para que o VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, a ser realizado em Belo Horizonte neste ano de 2009, muitas preocupações ocupavam nossos pensamentos. A idéia principal baseava-se em formatar um evento dinâmico, abordando assuntos de interesse da medicina Veterinária voltada para a produção, com espaço para a qualidade na produtividade, respeitando o meio ambiente e os animais.

Ainda tínhamos o sonho de ter algo mais duradouro, que permanecesse além dos dias do evento, que servisse de fomento para posteriores discussões e que de maneira moderna, de fácil consulta e com agilidade desse continuidade à interação entre os buiatras.

A concretização deste sonho foi atingida pela publicação dos anais na Revista Ciência Animal Brasileira de Goiânia, de forma on line permitindo acesso irrestrito de uma coletânea de trabalhos que surpreenderam nossas expectativas pela qualidade e quantidade, fato que revela a competência dos buiatras brasileiros.

Cabe-nos agora planejar e executar outras ações que demonstrem ao País a importância da Buiatria na certificação de produtos e propriedades produtoras, zelando pela sanidade dos rebanhos, pela otimização produtiva e pela qualidade internacional, fatos que abrem portas no mercado mundial.

Aguardando a todos em Belo Horizonte apresentamos nossas saudações buiatricas

Valentim Gheller

Presidente Associação Brasileira de Buiatria

EDITORIAL

A Associação Brasileira de Buiatria realizará, de 21 a 24 de outubro de 2009 em Belo Horizonte, o VIII Congresso Brasileiro de Buiatria. Esse será um momento único para congregar os buiatras brasileiros, espalhados pelo país, mas unidos pelo assunto e método de trabalho.

O congresso trará como tema central a Medicina de Produção de Ruminantes e a responsabilidade do buiatra com o meio ambiente e bem estar animal.

A medicina de produção desponta como uma forma de trabalho que integraliza conhecimentos variados, tomando como ferramentas de trabalho a clínica, a cirurgia, a epidemiologia, a zootecnia e a medicina veterinária preventiva.

O desafio do tema proposto é acrescentar à prática da medicina veterinária tradicional, uma visão integrada do sistema de produção com objetivos de determinar a distribuição e as causas do status sanitário de uma população e de desenvolver, implementar e monitorar programas para manter a saúde. Espera-se otimizar a produção, a qualidade dos produtos e a viabilidade econômica do sistema, em sintonia com o bem estar animal e a qualidade ecológica do ambiente.

Aguardamos a sua presença na capital das Minas Gerais para que se possa fazer desse evento um grande momento para a Buiatria Brasileira.

Comissão Organizadora

EDITORIAL

A comunicação científica é a troca de informações entre membros da comunidade científica, incluindo atividades associadas à produção, disseminação e uso da informação, desde o momento em que a idéia é concebida, até quando os resultados da pesquisa são aceitos como parte do conhecimento científico.

O trabalho escrito, uma das formas de comunicação científica, é o momento em que os autores apresentam pela primeira vez seus resultados, sujeitando-se as críticas da comunidade.

A revista *Ciência Animal Brasileira* é uma publicação da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, com periodicidade trimestral, e que publica trabalhos originais de pesquisa científica em Medicina Veterinária, Zootecnia, Biologia e áreas correlatas, em forma de artigos científicos.

Na era da informação é cada vez mais comum o uso de mídias digitais para divulgação de imagens e textos científicos. O VIII Congresso de Brasileiro de Buiatria destaca-se neste contexto por disponibilizar, via internet, em sistema *open access*, desde o início do evento os anais com os trabalhos e as palestras apresentados e discutidos durante o congresso. Adicionalmente, ao publicar as informações científicas sob a forma de resumos expandidos com os respectivos *abstracts*, melhora a qualidade da informação por visibilizar conteúdos mais completos, bem como a sua difusão por contar com um resumo em língua inglesa.

A parceria entre a Universidade Federal de Minas Gerais e a Universidade Federal de Goiás alicerça a relação de proximidade histórica ao mesmo tempo que, juntas, buscam novas formas de uso racional dos recursos naturais. Ao optarem pela divulgação exclusivamente *on line* dos anais, não consomem materiais extraídos na natureza e reduzem a produção de resíduos.

Na certeza de que os buiatras aproveitarão os conhecimentos científicos aqui disponibilizados para a otimização e crescimento da produção animal, recebemos a todos com satisfação.

Comissão Científica do VIII Congresso Brasileira de Buiatria

CAPÍTULO 1

RELAÇÃO DAS PALESTRAS

Módulo: Período de Transição

Coordenador BOLIVAR NÓBREGA DE FARIA

Palestra 1 - Fisiologia do período de transição - EULER RABELO

Palestra 2 - Enfermidades do período de transição - ENRICO LIPPI ORTOLANI

Palestra 3 - Cirurgias freqüentes em vacas no período de transição - JOSÉ AUGUSTO BASTOS AFONSO

Palestra 4 - Ferramentas de monitoramento e diagnóstico das doenças metabólicas - FÉLIX HILARIO DIAZ GONZÁLES

Módulo: Sanidade de Bezerros

Coordenadora ADRIANA DE SOUZA COUTINHO

Palestra 1 - Desafios na criação e saúde de bezerros - SANDRA GESTEIRA COELHO

Palestra 2 - Tristeza parasitária bovina - MÚCIO FLÁVIO BARBOSA RIBEIRO

Palestra 3 - Diarréia dos bezerros - ELIAS JORGE FACURY FILHO

Palestra 4 - Sistema respiratório - ROBERTO CALDERON GONÇALVES

Módulo: Bubalinocultura

Coordenador EDUARDO BASTIANETTO

Palestra 1 - Diferenças fisiológicas entre bubalinos e bovinos: Interferência na produção

JOSÉ DIOMEDES BARBOSA NETO e EDUARDO BASTIANETTO

Palestra 2 - Principais enfermidades não infecciosas de búfalos na Amazônia - JOSÉ DIOMEDES BARBOSA NETO

Palestra 3 - Enfermidades infecciosas de búfalos no Brasil - RÔMULO CERQUEIRA LEITE

Palestra 4 - Aspectos epidemiológicos e controle das doenças parasitárias em bubalinos - EDUARDO BASTIANETTO

Módulo: Doenças Emergentes e Re-emergentes de Bovinos e a Defesa Sanitária Animal

Coordenador ANDREY PEREIRA LAGE

Palestra 1- Neuropatias bovinas emergentes - CLÁUDIO SEVERO LOMBARDO DE BARROS

Palestra 2 - Tripanossomose em bovinos no Brasil - CLÁUDIO ROBERTO MADRUGA

Palestra 3 - Situação da brucelose no Brasil - JOSÉ SOARES FERREIRA NETO

Palestra 4 - Papel da universidade na interação com o sistema de defesa sanitária animal - LUCIANO JOSÉ COSTA FIGUEIREDO

Palestra 5 - Papel do veterinário no sistema de defesa sanitária animal do Brasil - JOSÉ RICARDO LOBO

Módulo: Produção e Qualidade do Leite

Coordenadora MÔNICA MARIA DE OLIVEIRA PINHO CERQUEIRA

Palestra 1 - Saúde da glândula mamária - ELIZABETH OLIVEIRA DA COSTA FREITAS GUIMARÃES

Palestra 2 - Diagnóstico microbiológico na mastite - MARIA APARECIDA VASCONCELOS PAIVA BRITO

Palestra 3 - Mastite em novilhas - MÔNICA MARIA DE OLIVEIRA PINHO CERQUEIRA

Palestra 4 - Qualidade de leite e política de pagamento: Visão da indústria - FERNANDO FERREIRA PINHEIRO

Módulo: Pequenos Ruminantes

Coordenador MÁRCIO GIANORDOLI TEIXEIRA GOMES

Palestra 1 - Resistência aos anti-helmínticos em pequenos ruminantes - FELIPE POHL DE SOUZA

Palestra 2 - Biotecnologia da reprodução - FABIANA CRISTINA VARAGO

Palestra 3 - Alterações hepáticas em pequenos ruminantes - PEDRO EDUARDO BRANDINI NÉSPOLI e JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES

Palestra 4 - Desafios sanitários e de manejo na ovinocultura - FERNANDO HENRIQUE MELO ANDRADE RODRIGUES DE ALBUQUERQUE

Módulo: Bem Estar Animal e Meio Ambiente

Coordenadora ELIANE VIANNA DA COSTA E SILVA

Palestra 1 - Bem estar, ambiência e saúde animal - ELIANE VIANNA DA COSTA E SILVA

Palestra 2 - Instalações e saúde em rebanhos leiteiros - ROBSON VILELA DE SÁ FORTES

Palestra 3 - Aspectos legais e técnicos dos efluentes e resíduos em sistema intensivo de produção de leite - ISRAEL JOSÉ DA SILVA

CAPÍTULO 2

RELAÇÃO DOS RESUMOS

1 – Clínica Médica

2 – Patologia Clínica

3 – Doenças Tóxicas

4 – Cirurgia e Diagnóstico por Imagem

5 – Doenças Infecciosas

6 – Doenças Parasitárias

7 – Mastite e Qualidade do Leite

8 – Reprodução e Produção

[Início](#) [Equipe Editorial](#) [Sobre a CAB](#) [Política Editorial](#) [Submissões](#)[Arquivos](#) [Outras informações](#) ▾ [Início](#) / [Arquivos](#) / 2009: SUPLEMENTO 1 - VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA - ANAIS

2009: SUPLEMENTO 1 - VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA - ANAIS

Este suplemento contém as palestras e resumos de trabalho apresentados durante o VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, realizado em Belo Horizonte MG em outubro de 2009.

Publicado: 21-10-2009

EXPEDIENTE SUPLEMENTO

EXPEDIENTE



CLÍNICA MÉDICA

COMPACTAÇÃO DO CÓLON EM VACA. RELATO DE CASO

José Augusto Bastos Afonso, José Cláudio de Almeida Souza, Eduardo Levi de Sousa Guaraná, Carla Lopes de Mendonça, Nivaldo de Azevedo Costa, Rafael Otaviano do Rego

1 - 7



USO INTRAPALPEBRAL DE FLORFENICOL NO TRATAMENTO DA CERATOCONJUNTIVITE INFECCIOSA BOVINA

Marcus Luciano Guimarães Rezende, Maria Clorinda Soares Fioravanti, Flávia Gontijo de Lima, Gustavo Lage Costa, Hilary Wanderley Hidasí, Rinaldo Batista Viana

8 - 12



PDF



HTML

DOENÇAS CONGÊNITAS EM BOVINOS DIAGNOSTICADAS PELA CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO (CEDIVET) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, NO PERÍODO DE 1999 a 2009

Karinny Ferreira Campos, Melina Garcia Saraiva de Sousa, Natália da Silva e Silva, Henrique Sousa de Oliveira, Marcos Dutra Duarte, José Diomedes Barbosa, Carlos Magno Chaves Oliveira

13-18



PDF



HTML

OCORRÊNCIA E CLASSIFICAÇÃO DOS CORPOS ESTRANHOS ENCONTRADOS EM 17 PIQUETES DE UMA PROPRIEDADE NO PARANÁ

Fernanda Simões da Fontoura, Caio Galvão Cordeiro, Camila Martins de Melo, Cristina Yumi Massuda, Felipe Volpato, Marcela Pititto Scanavaca, Maria Fernanda Passos de Almeida, Tamyres Moro Abib, Rodrigo Azambuja Machado de Oliveira, Rüdiger Daniel Ollhoff

19-23



PDF



HTML

HIDRATAÇÃO ENTERAL EM BOVINOS VIA Sonda NASOGÁSTRICA POR FLUXO CONTÍNUO

José Dantas Ribeiro Filho, Luiz Carlos Fontes Baptista Filho, Camila Oliveira Silveira, Rodrigo Melo Meneses

24-28



PDF



HTML

ONFALOPATIAS EM BEZERROS DE REBANHOS LEITEIROS NO NORDESTE DO ESTADO DO PARÁ

Alessandra dos Santos Belo Reis, Cleyton Prado Pinheiro, Cinthia Távora de Albuquerque Lopes, Valéria Duarte Cerqueira, Carlos Magno Chaves Oliveira, Marcos Dutra Duarte, Diomedes Barbosa

29 - 34



PDF



HTML

CETOSE NERVOSA EM BOVINOS, DIAGNOSTICADA PELA CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO (CEDIVET) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, NO PERÍODO DE 2000 A 2009

José Diomedes Barbosa, Natália da Silva e Silva, Cleyton Prado Pinheiro, José Alcides Sarmento da Silveira, Cairo Henrique Sousa Oliveira, Carlos Magno Chaves Oliveira, Marcos Dutra Duarte

35 - 40



PDF



HTML

UROLITÍASE OBSTRUTIVA EM BOVINOS NO SEMI-ÁRIDO PARAIBANO

Adriana Cunha de Oliveira Assis, Tatiane Rodrigues da Silva, Gildeni Maria Nascimento de Aguiar, Diego Barreto de Melo, Fabíola Carla de Almeida, Josemar Marinho Medeiros, Pedro Izidro da Izidro da Nóbrega Neto

41 - 45



PDF



HTML

CARACTERIZAÇÃO DAS AFECÇÕES PODAIS EM REBANHO DE GADO HOLANDÊS CONFINADO

Pedro Ivo de Albuquerque, Fábio Henrique Bezerra Ximenes, Augusto Coelho Ricardo Moscardini, Liana Villela de Gouvêa, Ana Lourdes Arrais de Alencar Mota, Roberta Ferro de Godoy, José Renato Junqueira Borges

46 - 52



PDF



HTML

TEOR DE FERRO E DE OUTROS COMPONENTES DO SORO SANGUÍNEO DE BEZERROS DA RAÇA HOLANDESA SUBMETIDOS À SUPLEMENTAÇÃO INJETÁVEL DE FERRO DEXTRANO

Camila Franciosi, Thaís Gomes Rocha, Marcos Vinicius Vilela, Renata Lemos Nagib Jorge, José Carlos Barbosa, José Jurandir Fagliari

53 - 57



PDF



HTML

TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA EM BEZERROS MISTIÇOS CANCHIM-NELORE

Thaís Gomes Rocha, Camila Franciosi, Ricardo Perecin Nociti, Cláudia Aparecida da Silva Nogueira, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio, José Jurandir Fagliari

58 - 63



PDF



HTML

INDICADORES SANGUÍNEOS DE LIPOMOBILIZAÇÃO E FUNÇÃO HEPÁTICA NO INÍCIO DA LACTAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS DE ALTA PRODUÇÃO

Félix González González, Rodrigo Muiño, Víctor Pereira, Rómulo Campos, José Luis Benedito Castellote

64 - 69



PDF



HTML

DETERMINAÇÃO DO PERFIL HIDROELETROLÍTICO E DO EQUILÍBRIO ÁCIDO-BÁSICO DE BEZERRAS HÍGIDAS DE TRÊS AOS TRINTA DIAS DE IDADE

Moisés Dias Freitas, Elias Jorge Facury Filho, Marcos Bryan Heinemann, Paulo Marcos Ferreira, Antônio Último de Carvalho, Andrey Lage, Marina Guimarães Ferreira

70 - 75



PDF



HTML

PARAPARESIA ESPÁSTICA E HIPERREFLEXIA EM UM BOVINO ASSOCIADA A CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS: RELATO DE CASO

Lívia Maria Túlio, Marina Tie Shimada, Liege Giorgia Andrioli Martins, Andrea Cristina F. Meirelles, Roney Zimpel, Amanda Furjan Rial

76 - 82



PDF



HTML

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO SULFETO DE HIDROGÊNIO RUMINAL UTILIZANDO TUBOS COLORIMÉTRICOS EM BOVINOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE

Paulo Henrique Jorge da Cunha, Peres Ramos Badial, José Paes de Oliveira Filho, Didier Quevedo Cagnini, Mariana Fontanetti Marinheiro, Ana Claudia Gorino, Alexandre Secorun Borges

83 - 87



PDF



HTML

DERMATOFIOSE: RELATO DE CASO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE CRIADOS EM REGIME DE CONFINAMENTO

Paulo Henrique Jorge da Cunha, Amanda Keller Siqueira, José Paes de Oliveira Filho, Peres Ramos Badial, Andreza Pimenta de Oliveira, Fernando José Paganini Listoni, Márcio Garcia Ribeiro, Alexandre Secorun Borges

88 - 92



PDF



HTML

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DO HERPESVIRUS BOVINO TIPO 5 EM UM BOVINO CONFINADO ASSOCIADO COM DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL LABORATORIAL DE OUTRAS CAUSAS DE POLIOENCEFALOMALACIA

Paulo Henrique Jorge da Cunha Cunha, Diego José Zanzarini Delfiol, Didier Quevedo Cagnini, Peres Ramos Badial, José Paes de Oliveira Filho, Giovane Olivo, Rogério Martins Amorim, Alexandre Secorun Borges

93 - 98



PDF



HTML

PARÂMETROS METABÓLICOS SANGUÍNEOS DE VACAS LEITEIRAS DE ALTA PRODUÇÃO NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Tiago André Frigotto, Rüdiger Daniel Ollhoff, Ivan Roque de Barros Filho, Rodrigo de Almeida

99 - 105



PDF



HTML

INFLUENCIA DO ALEITAMENTO DE BEZERROS BUBALINOS COM LEITE DE VACA INTEGRAL NO GANHO DE PESO E NA GLICEMIA

Daniela Gomes da Silva, André Marcos Santana, Priscila Arrigucci Bernardes, Lucas José Luduverio Pizauro, José Jurandir Fagliari

106 - 110



PDF



HTML

MEGAESÔFAGO EM CAPRINO: RELATO DE CASO

Luiz Cosme da Silva Júnior, Lúcia Cristina Pereira Arruda, Danilo Gonçalves Beltrão da Silva, Filipe Aureliano Pedrosa Soares, Álvaro Veloso Borba Neto, Jacinta Eufrásia Brito Leite, Pierre Castro Soares

111 - 116



PDF



HTML

ACIDOSE LACTICA RUMINAL AGUDA EM CAPRINOS

Diego Medeiros Oliveira, João Marcos Araújo Medeiros, Adriana Cunha de O. Assis, Patrícia Bueno Neves, Glauco José Nogueira Galiza, Sara Vilar Dantas Simões, Antônio Flávio M. Dantas, Franklin Riet-Correa

117 - 122



PDF



HTML

TOXEMIA DA PRENHEZ EM CAPRINOS: RELATO DE SURTO

Diego Barreto de Melo, Tatiane Rodrigues Silva, Josemar M. Medeiros, Fabíola C. de Almeida, Elaine Silva Dantas, Clarice R. M. Pessoa, Sara Vilar D. Simões

123 - 127



PDF



HTML

UTILIZAÇÃO DA MONENSINA SÓDICA NA PREVENÇÃO DA ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL INDUZIDA EM CAPRINOS (Resultados Preliminares)

Eldinê Gomes de Miranda Neto, José Augusto Bastos Afonso, Saulo de Tarso Gusmão da Silva, Carla Lopes de Mendonça

128 - 133



PDF



HTML

SURTO DE ATAXIA ENZOÓTICA EM OVINOS EM MOSSORÓ - RN

Isadora Karolina Freitas de Sousa, Antonio Humberto Hamad Minervino, Isabella de Oliveira Barros, Rejane dos Santos Sousa, Dowglish Ferreira Chaves, Carolina Akiko Sato Cabral de Araujo, Raimundo Alves Barrêto Júnior, Enrico Lippi Ortolani

134 - 139



PDF



HTML

USO DE PROPILENOGLICOL, COBALTO E VITAMINA B12 EM OVELHAS E SEUS REFLEXOS SOBRE O PERFIL ELETROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS SÉRICAS DOS BORREGOS

Anne Grace Silva Siqueira Campos, José Augusto Bastos Afonso, Rogério Adriano dos Santos, Carla Lopes de Mendonça

140 - 145



PDF



HTML

INFLUÊNCIA DA ADMINISTRAÇÃO DE PROPILENOGLICOL, COBALTO E VITAMINA B12 SOBRE O PERFIL ENZIMÁTICO E METABÓLICO DE OVELHAS SANTA INÊS

Rogério Adriano dos Santos, Anne Grace Silva Siqueira Campos, José Augusto Bastos Afonso, Carla Lopes de Mendonça

146 - 151



PDF



HTML

SÍNDROME DO ABSCESSO PITUITÁRIO EM OVINOS: RELATO DE CASOS

Eduardo Levi de Sousa Guaraná, Pedro Leopoldo Jerônimo de Monteiro Júnior, Rafael Otaviano do Rego, José Augusto Bastos Afonso, Carla Lopes de Mendonça, Franklin Riet-Correa, Antonio Flávio Medeiros Dantas, José Claudio de Almeida Souza

152 - 157



PDF



HTML

FALHA DA TRANSFERÊNCIA DA IMUNIDADE PASSIVA EM CORDEIROS MESTIÇOS (SANTA INÊS X DORPER): EFEITO NO PROTEINOGRAMA E TAXA DE MORTALIDADE DO NASCIMENTO ATÉ O DESMAME

Débora de Fátima Matias da Silva, Joselito Nunes Costa, Alexandre Lôpo Araújo, Vitor Santiago de Carvalho, Ana Paula Cardoso Peixoto, Lilian Oliveira Alves, Margareth Moura Ferreira

158 - 163



PDF



HTML

COMPRESSÃO E ESTENOSE ESOFÁGICA ASSOCIADAS À LINFADENITE CASEOSA EM OVINO

Leonardo de Rago Nery Alves, Marina Rios de Araújo, Luigi Francis Lima Cavalcanti, Márcio Gianordoli Teixeira Gomes, Juliana Del Giúdice Paniago, Rubens Antônio Carneiro, Roselene Ecco

164 - 169



PDF



HTML

OTITE INTERNA SECUNDÁRIA A BRONCOPNEUMONIA EM OVINO: RELATO DE CASO

Talita Maria Pimenta de Paoli, Graziela Barioni, Maria Aparecida da Silva, Marcus Alexandre Vaillant Beltrame

170 - 175



PDF



HTML

POTENCIAL ALCALINIZANTE DE SOLUÇÕES INTRAVENOSAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE LACTATO E DE BICARBONATO DE SÓDIO ADMINISTRADAS EM OVELHAS SADIAS

Karina Keller M. C. Flaiban, Fernanda Tamara N. M. A. Romão, Ronaldo Souza e Silva, Renata Caminha Gomes, Evandro Doine Vettorato, Mara Regina Stipp Balarin, Júlio Augusto Naylor Lisbôa

176 - 180



PDF



HTML

TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA EM CORDEIROS CUJAS MÃES RECEBERAM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ENERGIA OU PROTEÍNA NO TERÇO FINAL DA GESTAÇÃO

Karina Keller Marques da Costa Flaiban, Mara Regina Stipp Balarin, Edson Luís de Azambuja Ribeiro, Filipe Alexandre Boscaro de Castro, Rinaldo Masato Mori, Júlio Augusto Naylor Lisboa

181 - 185



PDF



HTML

ACHADOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS, ULTRASSONOGRÁFICOS E ANÁTOMO-PATOLÓGICOS EM UM CASO DE HEMATÚRIA ENZOÓTICA BOVINA

Antônio Carlos L. Câmara, José Renato J. Borges, Ceci Ribeiro Leite, Ana Lourdes A. A. Mota, Roberta F. de Godoy, Karla M. R. Guedes, Vanessa S. Mustafa, Giane R. Paludo

186 - 190



PDF



HTML

ACIDOSE RUMINAL EM OVINOS, DIAGNOSTICADA PELA CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO (CEDIVET) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, NO PERÍODO DE 2000 A 2008

Natália da Silva e Silva, José Alcides Sarmento da Silveira, Karinny Ferreira Campos, Melina Garcia Saraiva de Sousa, Cinthia Távora de Albuquerque Lopes, Carlos Magno Chaves Oliveira, Marcos Dutra Duarte, José Diomedes Barbosa

191 - 196



PDF



HTML

METABOLISMO DE INDICADORES PREDITIVOS DA TOXEMIA DA PRENHEZ EM OVELHAS DORPER NO TERÇO FINAL DA GESTAÇÃO, PARTO E PÓS-PARTO

Filipe Aureliano Pedrosa Soares, Álvaro Veloso Borba Neto, Janaína Azevedo Guimarães, Alexandre Cruz Dantas, Cleyton Charles Dantas Carvalho, Allan Vieira dos Santos Marques, Pierre Castro Soares

197 - 203



PDF



HTML

PATOLOGIA CLÍNICA

INFLUÊNCIA DA SINDROME DIARRÉIA NO METABOLISMO OXIDATIVO DOS NEUTRÓFILOS DE BEZERROS DA RAÇA GIROLANDO

Nívea Caroline M. Silva, Tamires Soares Assis, Marcos Roberto A. Ferreira, Cecília Nunes Moreira

204 - 208

**PDF****HTML**

EFEITOS DO PERÍODO PUERPERAL SOBRE O HEMOGRAMA E TESTE DE NBT EM VACAS GIROLANDO

Marcos Roberto A. Ferreira, Tamires Soares de Assis, Nívea Caroline M. Silva, Cecília Nunes Moreira
209 - 213

**PDF****HTML**

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CÁLCIO, FÓSFORO, MAGNÉSIO, FERRO, SÓDIO E POTÁSSIO EM BEZERROS MESTIÇOS CANCHIM-NELORE E DA RAÇA HOLANDESA DO NASCIMENTO AOS 30 DIAS DE IDADE

Thaís Gomes Rocha, Camila Franciosi, Ricardo Perecin Nociti, Renata Lemos Nagib Jorge, José Jurandir Fagliari
214 - 219

**PDF****HTML**

ELETROFORETOGRAMA DAS PROTEÍNAS DO SORO LÁCTEO DE VACAS CANCHIM PRIMÍPARAS E PLURÍPARAS

Thaís Gomes Rocha, Camila Franciosi, Ricardo Perecin Nociti, Paulo César da Silva, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio, José Jurandir Fagliari
220 - 225

**PDF****HTML**

TEORES SÉRICOS DE PROTEÍNA TOTAL, Ig A E Ig G, OBTIDOS POR ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA, EM BEZERROS MESTIÇOS CANCHIM-NELORE, DO NASCIMENTO AOS 30 DIAS DE IDADE

Thaís Gomes Rocha, Camila Franciosi, Ricardo Perecin Nociti, Paulo César da Silva, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio, José Jurandir Fagliari
226 - 231

**PDF****HTML**

TEORES DE MINERAIS E ATIVIDADE DA ENZIMA GAMAGLUTAMILTRANSFERASE NO SORO COLOSTRAL DE VACAS DAS RAÇAS CANCHIM E HOLANDESA E INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE LACTAÇÕES

Camila Franciosi, Thaís Gomes Rocha, Pablo Puertas Ernandes, Cláudia Aparecida da Silva Nogueira, José Carlos Barbosa, José Jurandir Fagliari
323 - 237

**PDF****HTML**

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE GAMAGLOBULINA E IgG EM BEZERROS DAS RAÇAS NELORE E HOLANDESA DO NASCIMENTO AOS SEIS MESES DE VIDA

Evandro Doine Vettorato, Karina Keller Marques da Costa Flaiban, Márcio Carvalho da Costa, Mara Regina Stipp Balarin, Odilon Vidotto Vidotto, Julio Augusto Naylor Lisboa

238 - 243



PDF



HTML

INFLUÊNCIA DO PERÍODO PÓS-PARTO NO PROTEINOGRAMA DE VACAS HOLANDESES, OBTIDO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

João Paulo Elsen Saut, Samantha Ive Miyashiro, Raquel Fraga e Silva Raimondo, Eduardo Harry Birgel Junior

244 - 249



PDF



HTML

DETERMINAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO HEPÁTICO SÉRICO DE BEZERROS HOLANDESES E MESTIÇOS, NA REGIÃO DE ARAÇATUBA/SP

Francisco Leydson Formiga Feitosa, Juliana Regina Peiró, Luis Cláudio Nogueira Mendes, Fabiano Antonio Cadioli, Diogo Gaubeur de Camargo, Rodrigo Yanaka, Fernanda Bovino, Sílvia Helena Venturoli Perri

250 - 254



PDF



HTML

DETERMINAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO RENAL SÉRICO DE BEZERROS HOLANDESES E MESTIÇOS, NA REGIÃO DE ARAÇATUBA/SP

Francisco Leydson Formiga Feitosa, Juliana Regina Peiró, Luis Cláudio Nogueira Mendes, Fabiano Antonio Cadioli, Diogo Gaubeur de Camargo, Rodrigo Yanaka, Fernanda Bovino, Sílvia Helena Venturoli Perri

255 - 260



PDF



HTML

DINÂMICA DO LEUCOGRAMA DE CAPRINOS JOVENS, DO NASCIMENTO ATÉ SEIS MESES DE IDADE: INFLUÊNCIA DO FATOR RACIAL

Maria Consuelo Caribé Ayres, Rafaela Duplat Dorea, Eduardo Harry Birgel Junior, Rinaldo Batista Viana, Maria do Carmo C. de Souza H. Lara, Thereza Cristina B. dos Santos C. de Bittencourt, Eduardo Harry Birgel

261 - 265



PDF



HTML

PERFIL BIOQUÍMICO DE CABRAS LACTANTES DAS RAÇAS SAANEN E ANGLO-NUBIANA

Kalina Simplicio, Felipe Cotrim, José Jurandir Fagliari, Cláudia Aparecida da Silva Nogueira

266 - 269



PDF



HTML

PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE CABRAS DAS RAÇAS SAANEN E BOER

Kalina Simplício, Felipe Cotrim, José Jurandir Fagliari, Renata Lemos Nagib Jorge

270 - 275



PDF



HTML

NÍVEIS DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) EM ERITRÓCITOS DE OVINOS ANÊMICOS

Andreza Amaral da Silva, Fernanda Martins de Abreu, Danilo Otávio Laurenti Ferreira, Débora Cristina Damasceno, Adriano Dias, Roberto Calderon Gonçalves

276 - 281



PDF



HTML

NÍVEIS DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) EM ERITRÓCITOS DE OVINOS SUBMETIDOS À BIOPSIA PULMONAR

Andreza Amaral da Silva, Danilo Otávio Laurenti Ferreira, Bianca Paola Santarosa, Débora Cristina Damasceno, Adriano Dias, Roberto Calderon Gonçalves

282 - 285



PDF



HTML

HEMOGRAMA E PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE OVINOS EM IDADE DE ABATE

André Marcos Santana, Daniela Gomes da Silva, Priscila Arrigucci Bernardes, Lucas José Luduverio Pizauro, Renato Pariz Maluta, Gabriel de Vasconcellos Aquino, Kleber Ormande Garcia, Fernando Antonio Ávila, José Jurandir Fagliari

286 - 289



PDF



HTML

AVALIAÇÃO DE SANGUE TOTAL OVINO ARMAZENADO EM BOLSAS DE SANGUE (CPDA-1) MANTIDO SOB REFRIGERAÇÃO

Rejane dos Santos Sousa, Raimundo Alves Barrêto Junior, Isadora Karolina Freitas de Sousa, Dowglis Ferreira Chaves, Herbert Sousa Soares, Isabella de Oliveira Barros, Antonio Humberto Hamad Minervino, Enrico Lippi Ortolani

290 - 295



PDF



HTML

DOENÇAS TÓXICAS

SURTO DE INTOXICAÇÃO POR ANTIBIÓTICOS IONÓFOROS EM BOVINOS NA PARAÍBA

Tatiane Rodrigues da Silva, Adriana C. O. Assis, Diego M. Oliveira, João Marcos Medeiros, Josemar M. Medeiros, Antônio Flávio M. Dantas, Sara V. D. Simões

296 - 301

**PDF****HTML**

INTOXICAÇÃO AGUDA POR PTERIDIUM AQUILINUM EM DOIS BOVINOS

Roberto Calderon Gonçalves, Eric de Castro Pereira, Hugo Shisei Toma, Diego José Zanzarini Delfiol, Simone Biagio Chiacchio, Alexandre Secorun Borges, Rogério Martins Amorim

302 - 307

**PDF****HTML**

CALCINOSE ENZOÓTICA EM BEZERROS NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO - RELATO DE DOIS CASOS

Alonso Pereira Silva Filho, José Augusto Bastos Afonso, Antônio Flávio Dantas, Franklin Riet-Correa, José Cláudio de Almeida Souza, Pedro Leopoldo Jerônimo Monteiro Junior, Carla Lopes de Mendonça, Nivaldo Azevedo Costa

308 - 313

**PDF****HTML**

DESEMPENHO DE BOVINOS ALIMENTADOS COM FENO DE *Brachiaria brizantha* OU CANA-DE-AÇUCAR

Flávia Gontijo Lima, Carolina dos Santos Ribeiro, Diogo Di Francescantonio Andrade, Victor Yunes Guimarães, Gustavo Lage Costa, Marcus Luciano Rezende, Pedrita Carvalho Ferreira Assunção, José Neuman de Miranda Neiva, Maria Clorinda Soares Fioravanti

314 - 318

**PDF****HTML**

SINAIS NERVOSOS E MORTE ASSOCIADOS A ACARICIDA CONTAMINADO POR TORDON® (2,4 - D, 64/240 TRIETANOLAMINA) EM BEZERROS, NO MUNÍCIPIO DE GUARAPARI, NO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Maria Aparecida da Silva, Talita Maria Pimenta de Paoli, Tayse Domingues de Souza, Leandro Abreu da Fonseca, Poliana Salvador Alves Domingues, Graziela Barioni

319- 324

**PDF****HTML**

INDUÇÃO DE NECROSE CEREBROCORTICAL EM BEZERROS COM DIETA RICA EM ENXOFRE

Paulo Henrique Jorge da Cunha, Peres Ramos Badial, José Paes de Oliveira Filho, Didier Quevedo Cagnini, Ana Claudia Gorino, Mariana Fontanetti Marinheiro, Renée Laufer Amorim, Alexandre Secorun Borges

325 - 330

**PDF****HTML**

CALCINOSE ENZOÓTICA EM BUBALUS BUBALIS NO PANTANAL NORTE MATOGROSSENSE, BRASIL

Carlos Eduardo Pereira dos Santos, Luiz Carlos Marques, Celso Figueiredo, Daniele Costa Borges, Nilton Ferreira Borges, Cláudio José de Assis

331 - 335



PDF



HTML

FOTOSSENSIBILIZAÇÃO HEPATÓGENA EM CAPRINOS ASSOCIADA À INGESTÃO DE *Brachiaria brizantha* NO ESTADO DO PARÁ

José Alcides Sarmiento da Silveira, Tatiane Teles Albernaz, Natália da Silva e Silva, Cinthia Távora de Albuquerque Lopes, Valéria Duarte Cerqueira, Carlos Magno Chaves Oliveira, Marcos Dutra Duarte, José Diomedes Barbosa

336 - 341



PDF



HTML

INTOXICAÇÃO POR MONENSINA EM OVINOS NO SEMI-ÁRIDO PARAIBANO RELATO DE CASO

Islaine de S. Salvador, Clarice R. M. Pessoa, Tatiane R. Silva, Adriana C. O. de Assis, Kézia Carvalho dos Santos, João Marcos Araújo Medeiros, Antônio Flávio Medeiros Dantas

342 - 347



PDF



HTML

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE ERITRÓCITOS DE OVINOS SUBMETIDOS A INTOXICAÇÃO CÚPRICA ACUMULATIVA

Wanderson Adriano Biscola Pereira, Mário Roberto Hatayde, Joice Lara Maia Faria

348 - 353



PDF



HTML

PROTEINOGRAMA SÉRICO DE OVINOS INTOXICADOS POR COBRE

Wanderson Adriano Biscola Pereira, Joice Lara Maia Faria, Paulo César da Silva, Mário Roberto Hatayde, José Jurandir Fagliari

354 - 359



PDF



HTML

AVALIAÇÃO HISTOPATOLOGICA HEPÁTICA E DESEMPENHO OVINOS ALIMENTADOS COM FENO DE *Brachiaria brizantha* OU CANA-DE-AÇUCAR

Flávia Gontijo Lima, Carolina Santos Ribeiro, Diogo Di Francescantonio Andrade, Victor Yunes Guimarães, Gustavo Lage Costa, Antônio Souza Silva, Maria Clorinda Soares Fioravanti

360 - 366



PDF



HTML

BRAQUIÁRIA: FATORES QUE INTERFEREM NOS NÍVEIS DE SAPONINA

Flávia Gontijo Lima, Carolina Santos Ribeiro, Diogo Di Francescantonio Andrade, Victor Yunes Guimarães, Harry Léo Wysocki Júnior, Mitsue Haraguchi, Maria Clorinda Soares Fioravanti

367 - 372



PDF



HTML

CIRURGIA E DIAGNÓSTICO POR IMAGEM

EXTRATO DA CASCA DO BARBATIMÃO (*Stryphnodendron barbatiman* Martius) ASSOCIADO AO TRATAMENTO CIRÚRGICO E TOALETE DOS CASCOS NA RECUPERAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE COM DERMATITE DIGITAL

Luiz Antônio Franco da Silva, Maria Ivete de Moura, Camille Bastos Persiano, Jalily Bady Helou, Caroline Rocha de Oliveira Lima, Sabrina Lucas Ribeiro de Freitas, Jordanna de Almeida e Silva, Daniel Silva Goulart, Luma Tatiana Silva Castro

373 - 378



PDF



HTML

ADEQUAÇÃO NAS MEDIDAS DO CASCO ASSOCIADO AO TRAMENTO CIRÚRGICO E APLICAÇÃO TÓPICA DO EXTRATO DA CASCA DO BARBATIMÃO (*Stryphnodendron barbatiman* Martius) NA RECUPERAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE COM DERMATITE DIGITAL

Luiz Antônio Franco da Silva, Maria Clorinda Soares Fioravanti, Maria Ivete de Moura, Marco Augusto Machado da Silva, Jalily Bady Helou, Sabrina Lucas Ribeiro Freitas, Caroline Rocha de Oliveira Lima

379 - 385



PDF



HTML

AVALIAÇÃO DE QUATRO PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS PARA A SINUSITE PÓS-DESCORNA PLÁSTICA EM BOVINOS (1998-2008)

Luiz Antônio Franco da Silva, Jalily Bady Helou, Jordanna de Almeida e Silva, Leandro Batista Caetano, Caroline Rocha de Oliveira Lima, Luiz Augusto de Souza, Benito Juarez Nunes Alves de Oliveira, Ângela Moni Fonseca

386 - 391



PDF



HTML

LEUCOGRAMA E TEORES DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM CAPRINOS SUBMETIDOS À ORQUIECTOMIA E DESCORNA

Ricardo Perecin Nociti, Thaís Gomes Rocha, Camila Franciosi, Iggor Kallyl Tavares e Azevedo, Paulo César da Silva, Kleber Tomas de Resende, José Jurandir Fagliari

392 - 397



PDF



HTML

BIOPSIA HEPÁTICA NO DIAGNÓSTICO DA ESTEATOSE EM OVINOS

Ernane de Paiva Ferreira Novais, Guilherme Carneiro Reckziegel, João Gabriel Cesar Palermo, Augusto Ricardo Coelho Moscardini, Vanessa da Silva Mustafa, Márcio Botelho Castro, José Renato Junqueira Borges, Roberta Ferro de Godoy
398 - 403



PDF



HTML

BIOPSIA PULMONAR TRANSTORÁCICA PERCUTÂNEA ÀS CEGAS EM OVINOS COM AGULHA SEMI-AUTOMÁTICA

Andreza Amaral da Silva, Danilo Otávio Laurenti Ferreira, Bianca Paola Santarosa, Camila Dias Porto, Júlio Lopes Sequeira, Roberto Calderon Gonçalves
404 - 409



PDF



HTML

COMPARAÇÃO ENTRE DOIS MÉTODOS ULTRASSONOGRÁFICOS PARA DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS

Rodrigo Maciel Cavalcanti, Graziela Barioni, Flávia Mara Machado, Giuliano Moraes Figueiró, André Silva Jorge
410 - 416



PDF



HTML

DISPLASIA FISEAL EM BOVINOS MANEJADOS EM SISTEMA INTENSIVO

Ingrid Rios Lima, Ângela Moni Fonseca, Luiz Henrique da Silva, Cássia Maria Molinaro Coelho, Júlio Carlos Canola, Naida Cristina Borges
417 - 422



PDF



HTML

ESTUDO RADIOGRÁFICO DAS EXTREMIDADES DISTAIS DOS MEMBROS LOCOMOTORES DE BOVINOS COM CLAUDICAÇÃO

Ingrid Rios Lima, Ângela Moni Fonseca, Luiz Henrique da Silva, Ana Paula Araújo Costa, Luiz Antônio Franco da Silva, Naida Cristina Borges
423 - 429



PDF



HTML

DOENÇAS INFECCIOSAS

AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS VIÁVEIS AO VENCIMENTO EM VACINAS B19 CONTRA BRUCELOSE COMERCIALIZADAS NO BRASIL

George Afonso Vitor Caldeira, Paulo Martins Soares Filho, Tomaz de Aquino Porfírio, Andrey Pereira Lage
430 - 435

**PDF****HTML**

PCR MULTIPLEX PARA DETERMINAÇÃO DE MARCADORES DE VIRULÊNCIA EM *Escherichia coli* ISOLADAS DE BOVINOS COM DIARRÉIA EM MINAS GERAIS

Giovanna Ivo Andrade, Ethiene Luiza de Souza Santos, Fernanda Morcatti Coura, Alice Alexandrina Souza Cunha, Abel Fidelis Barbosa, Mariana Moraes Falcão, Juliana Pinto da Silva Mol, Marina Guimarães Ferreira, Moises Dias Freitas, Elias Facury Filho, Antônio Último de Carvalho, Paulo Marcos Ferreira, Marcos Bryan Heinemann, Andrey Pereira Lage

436 - 441

**PDF****HTML**

BIOVARIEDADES DE *Brucella abortus* ISOLADAS DE BOVINOS NO BRASIL

Sílvia Minharro, Juliana Pinto da Silva Mol, Rebeca Barbosa Pauletti, Elaine Seles Dorneles, Fernando Padilla Poester, Maurício Gautério Dasso, Eliana Scarcelli, Paulo Martins Soares Filho, Marcos Bryan Heinemann, Renato de Lima Santos, Andrey Pereira Lage

442 - 446

**PDF****HTML**

SURTO DE FEBRE CATARRAL MALIGNA EM BOVINOS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE

Isadora Karolina Freitas de Sousa, Isabella de Oliveira Barros, Adaucides Câmara, Antonio Humberto Hamad Minervino, Jael Soares Batista, Raimundo Alves Barrêto Júnior, Enrico Lippi Ortolani

447 - 451

**PDF****HTML**

ESTUDO RETROSPECTIVO DA OCORRÊNCIA DOS CASOS DE TUBERCULOSE BOVINA DIAGNOSTICADOS NA CLÍNICA DE BOVINOS DE GARANHUNS - PE, DE 2000 A 2009

Marisa de Alencar Izael, Saulo de Tarso Gusmão da Silva, Nivaldo de Azevedo Costa, José Cláudio de Almeida Souza, Carla Lopes de Mendonça, José Augusto Bastos Afonso

452 - 457

**PDF****HTML**

OCORRÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI - *Brucella abortus* EM REBANHOS BOVINOS DA ILHA DE SÃO LUÍS - MA

Daniela Franco da Silva, Vivian Magalhães Brandão, Hamilton Pereira dos Santos, Isabel Cristina Lopes Dias, Maria Inez Santos Silva

458 - 463

**PDF****HTML**

ESTUDO COMPARATIVO DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE BEZERROS COM *SALMONELLA* DUBLIN E *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

Daniela Gomes da Silva, Larissa Gabriela Ávila, Péricles Ricardo Lacerda e Silva, Rafael Akira Sato, José Jurandir Fagliari

464 - 468



PDF



HTML

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO FLORFENICOL NO TRATAMENTO DE BEZERROS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM SALMONELLA TYPHIMURIUM

Larissa Gabriela Ávila, Daniela Gomes da Silva, Rafael Akira Sato, José Jurandir Fagliari

469 - 473



PDF



HTML

INFLUÊNCIA DO ESTRESSE OXIDATIVO NA APOPTOSE LEUCOCITÁRIA DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS PELO VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA

Glauco Dente Gurtler, Fernando Nogueira Souza, Maiara Garcia Blagitz, Camila Freitas Batista, Camila Silano, Kátia Antunes Caetano de Souza, Clara Satsuki Mori, Alice Maria Melville Paiva Della Libera

474 - 479



PDF



HTML

SINAIS CLÍNICOS DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE BEZERROS BUBALINOS POR *Salmonella enterica* SUBESPÉCIE ENTERICA SOROTIPO DUBLIN

André Marcos Santana, Daniela Gomes da Silva, Lucas José Luduverio Pizauro, Priscila Arrigucci Bernardes, José Jurandir Fagliari

480 - 485



PDF



HTML

PESQUISA DE *Campylobacter fetus* EM PREPÚCIO DE TOUROS, EM UMA PROPRIEDADE RURAL DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Leandro Babosa Bettero, Nielton César Ton, Graziela Barioni, Marcus Alexandre Vaillant Beltrame

486 - 490



PDF



HTML

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 (BHV-1) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NA BACIA LEITEIRA DA ILHA DE SÃO LUÍS-MA

Vanessa Evangelista de Sousa, Danilo Cutrim Bezerra, Nancyleni Pinto Chaves, Hamilton Pereira Santos, Hélder de Moraes Pereira

491 - 495



PDF



HTML

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NA BACIA LEITEIRA DA ILHA DE SÃO LUÍS-MA

Vanessa Evangelista de Sousa, Nancyleni Pinto Chaves, Danilo Cutrim Bezerra, Hamilton Pereira Santos, Hélder de Moraes Pereira
496 - 501

 **PDF**

 **HTML**

FREQUÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NAS REGIONAIS DE BACABAL E PEDREIRAS, ESTADO DO MARANHÃO

Nancyleni Pinto Chaves, Danilo Cutrim Bezerra, Francisco Borges Costa, Vanessa Evangelista de Sousa, Hamilton Pereira Santos, Hélder de Moraes Pereira
502 - 507

 **PDF**

 **HTML**

OCORRÊNCIA DA TUBERCULOSE EM REBANHO BOVINO DE UMA PROPRIEDADE DO MUNICÍPIO DE SANTA RITA, MARANHÃO, BRASIL

Helder de Moraes Pereira, Hamilton Pereira Santos, Danilo Cutrim Bezerra, Denise Porto Pereira
508 - 512

 **PDF**

 **HTML**

PREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA EM BOVINOS LEITEIROS CRIADOS NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA - PARANÁ

Ivan Roque de Barros Filho, Alessandra Klas Guimarães, Alexander Welker Biondo, Ernesto Renato Krüger, Evelyn Vieira Wammes, Rudiger Daniel Ollhoff, Christine Hauer Piekarz, Daniella Sponchiado
513 - 518

 **PDF**

 **HTML**

PREVALENCIA DA RAIVA EM BOVINOS, OVINOS E CAPRINOS NO ANO DE 2007 NO ESTADO DO PARANÁ

Maria Aparecida de Carvalho Patrício, Rosária Regina Tesoni de Barros Richartz, Filipe Hautsch Willig, Daniella Sponchiado, Rosangela Locatelli Dittrich, Ivan Roque de Barros Filho
519 - 523

 **PDF**

 **HTML**

PREVALÊNCIA DE EIMERIA, HELMINTOS, ESCHERICHIA COLI, SALMONELLA, ROTAVIRUS, CORONAVIRUS E CRYPTOSPORIDIUM PARVUM EM PROPRIEDADES LEITEIRAS DE MINAS GERAIS, BRASIL

Marina Guimarães Ferreira, Elias Jorge Facury Filho, Marcos Bryan Heinemann, Antônio Último de Carvalho, Andrey Pereira Lage, Paulo Marcos Ferreira, Moisés Dias Freitas
524 - 529

 **PDF**

 **HTML**

TRÊS PROTOCOLOS DISTINTOS DE VACINAÇÃO DE BEZERROS CONTRA O CARBÚNCULO SINTOMÁTICO

Rafael Ferreira de Araujo, Vera Cláudia Lorenzetti Magalhães Curci, Iveraldo dos Santos Dutra
530 - 534

 **PDF**

 **HTML**

ANTICORPOS DE ORIGEM COLOSTRAL EM BEZERROS CONTRA O CLOSTRIDIUM CHAUVOEI

Rafael Ferreira de Araujo, Vera Cláudia Lorenzetti Magalhães Curci, Iveraldo dos Santos Dutra
535 - 539

 **PDF**

 **HTML**

DISTRIBUIÇÃO DE ANTICORPOS PARA *Leptospira* sp EM BÚFALOS (*Bubalus bubalis*) DA REGIÃO NORDESTE DO ESTADO DO PARÁ, BRASIL

Geanne Rocha da Silva, Carla Cristina Guimarães de Moraes, Keyla Cristina do Nascimento de Melo, Amanda de Sousa Matos, Ivan Mattoso de Andrade, João Maria do Amaral Jr, Dinaiara de Souza Fragoso, Carolina Ferreira Freitas Pereira, Iara Costa Soares, Carmen Silvia Araujo Neves, Rosely Bianca dos Santos, André Marcelo Conceição Meneses, Ana Paula Vilhena Beckman Pinho, Zenaide Maria de Moraes, Gisele Oliveira de Souza, Silvio Arruda de Vasconcellos
540 - 545

 **PDF**

 **HTML**

OCORRÊNCIA DE TUBERCULOSE EM REBANHO BUBALINO (*Bubalus bubalis* VAR. *BUBALIS-LINNEUS*, 1758) EM UMA PROPRIEDADE DO MUNICÍPIO DE ARARI, MARANHÃO, BRASIL

Helder de Moraes Pereira, Hamilton Pereira Santos, Danilo Cutrim Bezerra, Ana Cristina Costa Aragão, Vanessa Evangelista de Sousa
546 - 550

 **PDF**

 **HTML**

PREVALÊNCIA SOROLÓGICA DA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA EM REBANHOS CAPRINOS DO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO – BAHIA, BRASIL

Carla Caroline Valença de Lima, Thiago Sampaio Souza, Priscila Martinez Martinez, Joselito Nunes Costa, Maria das Graças Ávila Ribeiro Almeida, Antônio Vicente Magnavita Anunciação, Raymundo Rizaldo Pinheiro
551 - 556

 **PDF**

 **HTML**

DETECÇÃO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAEV) PELA IMUNODIFUSÃO EM GEL DE AGAROSE (IDGA) E REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Lídia Maria Marques dos Santos, Elmiro Rosendo do Nascimento, Juliana Ferreira de Almeida, Karine de Castro Meirelles, Roberto Soares de Castro, Virginia Léo de Almeida Pereira
557 - 562

**PDF****HTML**

OCORRÊNCIA DO VÍRUS PARAINFLUENZA-3, VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL, VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA E HERPEVÍRUS TIPO 1 EM REBANHOS OVINOS DA REGIÃO DE BOTUCATU-SP

Roberto Calderon Gonçalves, Andreza Amaral da Silva, Danilo Otávio Laurenti Ferreira, Júlio Marcondes, Edwiges Maristela Pituco, Adriano Dias

563 - 568

**PDF****HTML**

MANHEIMIOSE EM OVELHA NO SEMIÁRIDO PARAIBANO: RELATO DE CASO

Tatiane Rodrigues da Silva, Diego Barreto de Melo, Felício Garino Junior, Roseane Portela, Amanda Carvalho, Antônio Flávio Medeiros Dantas, Fabíola Carla de Almeida, Franklin Riet-Correa

569 - 573

**PDF****HTML**

TÉTANO EM OVINOS APÓS CASTRAÇÃO COM LIGADURA DE BORRACHA

Diego Medeiros Oliveira, Tatiane Rodrigues Silva, Rafael Otaviano Rego, Luciano Anunciação Pimentel, Josemar Marinho Medeiros, Sara Vilar Dantas Simões, Franklin Riet-Correa

574 - 578

**PDF****HTML**

SOROPREVALÊNCIA DE MAEDI-VISNA EM OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS NOS MUNICÍPIOS DA GRANDE VITÓRIA - ES

Graziela Barioni, Livia Volpe Pereira, Marcus Alexandre Vaillant Beltrame, Pauliana Tesoline, Marcos Vinicius Gumieiro

579 - 584

**PDF****HTML**

PODODERMATITE INFECCIOSA EM OVINOS E CAPRINOS NO SERTÃO PARAIBANO

Gildeni Maria Nascimento de Aguiar, Adriana Cunha Oliveira Assis, Tatiane Rodrigues da Silva, João Ricardo B. Araújo, Felício Garino Junior, Sara Vilar Simões, Franklin Riet-Correa

585 - 590

**PDF****HTML**

INCIDÊNCIA DE BRUCELLA OVIS EM OVINOS COM HISTÓRICO DE DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL

Huber Rizzo, Lilian Gregory, Eliana Scarcelli Pinheiro, Aline Feola de Carvalho, Rosana Lisboa Santana, Lílian Márcia Paulin Silva

591 - 596

**PDF****HTML**

INFADENITE CASEOSA EM REBANHOS OVINOS NO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL: PREVALÊNCIA E INFORMAÇÕES DE MANEJO

Alessandro de Sá Guimarães, Núbia Seyffert, Aurora Maria Guimarães Gouveia, Andrey Pereira Lage, Ricardo Wagner Dias Portela, Roberto Meyer, Vasco Ariston de Carvalho Azevedo, Filipe Borges do Carmo, Juliano César Minardi Cruz, Marcos Bryan Heinemann

597 - 602

**PDF****HTML**

ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA MAEDI-VISNA EM REBANHOS OVINOS DA MICRORREGIÃO DE JUAZEIRO - BAHIA

Priscila Martinez Martinez, Joselito Nunes Costa, Thiago Sampaio de Souza, Antônio Vicente Magnavita Anunciação, Raymundo Rizaldo Pinheiro

603 - 608

**PDF****HTML**

RAIVA: RELATO DE CASOS CLÍNICOS EM OVINOS

Thiago Sampaio de Souza, Neydiane Silva Rocha, Joselito Nunes Costa, Byanca Ribeiro Araújo, Vitor Santiago de Carvalho, Juliana Matos Batista

609 - 614

**PDF****HTML**

PERFIL DE EXPRESSÃO DE IL-8 APÓS INFECÇÃO IN VITRO DE CÉLULAS EPITELIAIS POR *Tritrichomonas foetus*

Telma Maria Alves, Monalisa de Sousa Moura Souto, Thiago Magalhães Resende, Carlos M. Campero, Andrey Pereira Lage

615 - 618

**PDF****HTML**

DOENÇAS PARASITÁRIAS

SURTOS DE BABESIOSE CEREBRAL EM BOVINOS LEITEIROS NO NORDESTE BRASILEIRO

Antônio Carlos L. Câmara, Janaina Azevedo Guimarães, Alexandre Cruz Dantas, Carla Lopes de Mendonça, José Augusto Bastos Afonso

619 - 624

**PDF****HTML**

ISOLAMENTO DE TRYPANOSOMA EVANSI EM BOS TAURUS INDICUS NO PANTANAL NORTE, BRASIL

Carlos Eduardo Pereira dos Santos, Luiz Carlos Marques, Rosângela Zacarias Machado, Márcia Cristina Alves Teixeira

625 - 630



PDF



HTML

INFLUÊNCIA DA TRANSMISSÃO TRANSPLACENTÁRIA DO ANAPLASMA MARGINALE NO HEMOGRAMA E NO METABOLISMO OXIDATIVO DOS NEUTRÓFILOS (NBT) EM BOVINOS

Tamires Soares de Assis, Nívea Caroline M. Silva, Marcos Roberto A. Ferreira, Cecília Nunes Moreira

631 - 636



PDF



HTML

SOROPREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO DE BARRA DE SÃO FRANCISCO, ESPÍRITO SANTO, BRASIL

João Henrique Natalino Fanti, Graziela Barioni, Marcus Alexandre Vaillant Beltrame

637 - 641



PDF



HTML

PERFIL BIOQUÍMICO DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*

Dênia Monteiro de Moura, João Cláudio do Carmo Paneto, Eustáquio Resende Bittar, Joely Ferreira Figueiredo Bittar

642 - 647



PDF



HTML

PERFIL HEMATOLÓGICO DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*

Dênia Monteiro de Moura, João Cláudio do Carmo Paneto, Eustáquio Resende Bittar, Olindo Assis Martins Filho, Joely Ferreira Figueiredo Bittar

648 - 653



PDF



HTML

INFLUÊNCIA DE PARASITAS GASTROINTESTINAIS NO GANHO DE PESOS DE BEZERROS NELORE LEMGRUBER NA FASE DE RECRIA

Juliano Bergamo Ronda, Marcus Vinícius Caetano, João Cláudio do Carmo Panetto, Eustáquio Resende Bittar, Joely Ferreira Figueiredo Bittar, Gabriela de Godoy Cravo Arduino, Wanderson Adriano Biscola Pereira

654 - 659



PDF



HTML

COMPORTAMENTO DA EXCREÇÃO DE OOCISTOS DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. E DE CISTOS DE *GIARDIA* SPP. EM BEZERROS INFECTADOS NATURALMENTE

Laís Bitencourt Guimarães, Elias Jorge Facury Filho, Antonio Último de Carvalho, Paulo Marcos Ferreira, Múcio Flávio Barbosa Ribeiro, Marina Guimarães Ferreira, Moisés Dias Freitas

660 - 665



PDF



HTML

ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DA INFECÇÃO NATURAL EM BOVINOS LEITEIROS POR *Trypanosoma vivax* EM MINAS GERAIS, BRASIL

Diana Cuglovici Abrão, Antônio Último de Carvalho, Elias Jorge Facury Filho, Daniella Castanheira Bartholomeu, Múcio Flávio Barbosa Ribeiro

666 - 671



PDF



HTML

IMPACTO ECONÔMICO CAUSADO POR *Trypanosoma vivax* EM REBANHO BOVINO LEITEIRO NO ESTADO DE MINAS GERAIS

Diana Cuglovici Abrão, Antônio Último de Carvalho, Elias Jorge Facury Filho, Helton Mattana Saturnino, Múcio Flávio Barbosa Ribeiro

672 - 676



PDF



HTML

EVOLUÇÃO CLÍNICA, DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E ACHADOS DE NECROPSIA DA OTITE PARASITÁRIA POR *Rhabditis* sp. EM TOURO DA RAÇA GIR - RELATO DE CASO

Suyan Brethel dos Santos Campos, Juliana Job Serodio, Denize Silva Brazil, Thiago Vilar Silva, Tales Dias do Prado, Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura, Luiz Antônio Franco da Silva

677 - 683



PDF



HTML

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO EM CAPRINOS DA ILHA DE SÃO LUÍS-MA

Vívian Magalhães Brandão, Francisco Borges da Costa, Iran Alves da Silva, Daniela Franco da Silva, Isabel Cristina L. Dias, Júlia Gleicy Soares, Solange M. Gennari, Rudson Almeida Oliveira, Maria Inez Santos Silva

684 - 689



PDF



HTML

ESTUDO COMPARATIVO DO SISTEMA FAMACHA ENTRE CAPRINOS E OVINOS SOB O MESMO MANEJO PRODUTIVO NO SERTÃO BAIANO

Alfeu Cavele, Maria Angela Ornelas de Almeida, Mary de Araújo Barreto, Marilene Maria Lima, Elane de Alencar Arrais Machado, Marina Santana Rossi Peixoto, Margarete Neres Silva, Cláudio Roberto Madruga, Maria Consuelo Caribé Ayres

690 - 694



PDF



HTML

MÉTODO FAMACHA® NO CONTROLE DE PARASITOS EM CAPRINOS

Severino Pinto, Carina Simionato de Barros, Ariane Paula Rovani Scolari, Alda Lúcia Gomes Monteiro, Catarina Mealha Cabrita, Fabiana Marinelli Pontes da Rocha
695 - 700

 **PDF**

 **HTML**

LARVAS DE TRICOSTRONGILÍDEOS EM FEZES DE OVINOS

Severino Pinto, Carina Simionato de Barros, Ariane Paula Rovani Scolari, João Estevão Sebben
701 - 706

 **PDF**

 **HTML**

CRIPTOCOCOSE EM OVINO – RELATO DE CASO

Saulo de Tarso Gusmão da Silva, José Cláudio de Almeida Souza, Marisa de Alencar Izael, Franklin Riet-Correa Riet-Correa, Roseana Portela, Antônio Flávio Dantas, Carla Lopes de Mendonça, José Augusto Bastos Afonso
707 - 713

 **PDF**

 **HTML**

SOROPREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE EM OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS NOS MUNICÍPIOS DA GRANDE VITÓRIA – ES

Graziela Barioni, Pauliana Tesoline, Marcus Alexandre Vaillant Beltrame, Livia Volpe Pereira, Marcos Vinicius Gumieiro
714 - 719

 **PDF**

 **HTML**

LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA TOXOPLASMOSE EM OVINOS NA ILHA DE SÃO LUÍS-MA

Vívian Magalhães Brandão, Francisco Borges da Costa, Iran Alves da Silva, Daniela Franco da Silva, Isabel Cristina L. Dias, Solange M. Gennari, José Ricardo Soares Telles de Souza, Maria Inez Santos Silva
720 - 725

 **PDF**

 **HTML**

MASTITE E QUALIDADE DO LEITE

AVALIAÇÃO DE INDICADORES INFLAMATÓRIOS NO DIAGNÓSTICO DA MASTITE BOVINA

Alice Maria Melville Paiva Della Libera, Fernando Nogueira de Nogueira de Souza, Maiara Garcia Blagitz, Camila Freitas Batista, Maurício Garcia, Wanderley Pereira de Araújo
726 - 731

**PDF****HTML**

INFLUÊNCIA DA FASE DE LACTAÇÃO NAS PROTEÍNAS DO SORO LÁCTEO DE VACAS JERSEY

Raquel Fraga e Silva Raimondo, Samantha Ive Miyashiro, Eduardo Harry Birgel Junior

732 - 738

**PDF****HTML**

VALORES DE HAPTOGLOBINA PLASMÁTICA EM VACAS COM DIFERENTES CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM AMOSTRAS DE LEITE

Marcelo Fernando Colla, Stella Faria Valle, Priscila Secchi, Naila Duda, Miriam Scalón, João Walter Dürr, Félix González

739 - 743

**PDF****HTML**

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO IN VITRO DE SELÊNIO SOBRE A PRODUÇÃO INTRACELULAR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM CÉLULAS POLIMORFONUCLEARES DE BOVINOS: IMPLICAÇÕES NA RESISTÊNCIA À MASTITE

Fernando N. Souza, Maiara G. Blagitz, Andréia O. Latorre, Camila Silano, Kátia A. Souza, Glauco D. Glütler, Camila F. Batista, Clara S. Mori, Maria Claudia A. Sucupira, Alice M.M.P. Della Libera

744 - 748

**PDF****HTML**

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE DE CABRA IN NATURA EM ALGUNS REBANHOS DE MINAS GERAIS E RIO DE JANEIRO, BRASIL

Juliana Ferreira de Almeida, Carlos Henrique da Silva Leitão, Elmiro Rosendo do Nascimento, Karine de Castro Meireles Vieira, Eunice Maria Alberto, Virginia Léo de Almeida Pereira

749 - 753

**PDF****HTML**

INFLUÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE DE OVELHAS SANTA INÊS EM DIFERENTES FASES DA LACTAÇÃO: ESTUDO PRELIMINAR

Eduardo Levi de Sousa Guaraná, Rogério Adriano dos Santos, Natália da Silva e Silva, Anne Grace S. Siqueira Campos, José Augusto Bastos Afonso, Carla Lopes de Mendonça

754 - 759

**PDF****HTML**

INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO INTRAMAMÁRIA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE DE OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS

Mayra Zilta P. R. B. de Almeida, Luiz Gustavo Lopes de Oliveira, José Augusto Bastos Afonso, Norma dos Santos Lázaro, Carla Lopes de Mendonça

760 - 765



PDF



HTML

ESTUDO DO PROTEINOGRAMA E DOS MINERAIS COBRE, FERRO E ZINCO NO SORO EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS COM MASTITE EXPERIMENTAL POR *Staphylococcus aureus*

Nivaldo de Azevêdo Costa, Luis Carlos Valeriano Simão, Rogério Adriano dos Santos, José Augusto Bastos Afonso, José Jurandir Fagliari, Elizabeth da Cruz Cardoso, Pierre Castro Soares, Carla Lopes de Mendonça

766 - 771



PDF



HTML

REPRODUÇÃO E PRODUÇÃO

DETERMINAÇÃO DA PREVALÊNCIA DAS PRINCIPAIS DOENÇAS DA REPRODUÇÃO NO REBANHO BOVINO DA REGIÃO DE UBERABA-MG

Mauricio Batista Mendes, Joely Ferreira Figueiredo Bittar, Wanderson Adriano Biscola Pereira, Gabriela de Godoy Cravo Arduino, Eustáquio Resende Bittar, João Cláudio do Carmo Panetto, Jandra Pacheco dos Santos

772 - 777



PDF



HTML

COMPORTAMENTO SEXUAL DE BOVINOS MACHOS DA RAÇA NELORE COM DERMATITE DIGITAL

Luiz Antônio Franco da Silva, Maria Ivete de Moura, Carlos Vinícius de Miranda Faria, Jordanna de Almeida e Silva, Ângela Moni Fonseca, Sabrina Lucas Ribeiro de Freitas, Leandro Batista Caetano, Jalily Bady Helou, Tales Dias do Prado

778 - 784



PDF



HTML

NÍVEIS SÉRICOS DE TESTOSTERONA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE COM DERMATITE DIGITAL

Maria Ivete de Moura, Luiz Antônio Franco da Silva, Ângela Moni Fonseca, Jalily Bady Helou, Sabrina Lucas Ribeiro de Freitas, Leandro Batista Caetano, Tales Dias do Prado

785 - 789



PDF



HTML

CORTISOL E SUA RELAÇÃO COM A REGULAÇÃO ENDÓCRINA NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO EM VACAS LEITEIRAS SOB CONDIÇÕES DO TRÓPICO COLOMBIANO

Rómulo Campos, Erika Andrea Hernández, Leonidas Giraldo, Félix González

790 - 794



PDF



HTML

SUPLEMENTAÇÃO MINERAL DE NOVILHAS DA RAÇA NELORE NO PERÍODO PERIPARTO E O DESENVOLVIMENTO PONDERAL DE SUAS CRIAS

Rinaldo Batista Viana, Marcos Sampaio Baruselli, Bruno Moura Monteiro, Maurício Soares Pancieri, Paulo Fernando Pires Bastos Junior, Fernanda Altieri, Paulo Marcelo Albuquerque de Melo, Luciara Celi Chaves

795 - 801



PDF



HTML

AVALIAÇÃO DE MEDIDAS PÉLVICAS INTERNAS DE VACAS HOLANDEASAS DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL

Luciana Faria de Oliveira, Valentim Arabicano Gheller

802 - 807



PDF



HTML

AVALIAÇÃO DA NECESSIDADE DO TEMPO DE EQUILÍBRIO NO CONGELAMENTO DE SÊMEN CAPRINO

Paula Letícia Nemes Schawb Gomes, Leandro Cavalcante Lipinski, Raimundo Jorge Teles de Araújo Pereira

808 - 813



PDF



HTML

TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES COMO FERRAMENTA PARA FORMAÇÃO DE REBANHO EXPERIMENTAL OVINO

Huber Rizzo, Dominique François, Thierry Fassier, Edouard Guitton, Gérard Baril, Juliette Cognié, Alice Fatet, Florence Guignot, Pascal Mermillod, Jean Paul Petit, Jean François Beckers, Benoît Remy, Gilles Foucras Foucras, Gilles Meyer

814 - 820



PDF



HTML

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS SANTA INÊS APÓS SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E INDUÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTÁGENO E PROGESTERONA

Josemara Silva Santos, Jalily Bady Helou, Maria Vitória F. L. Cavalcanti, Jorge Luís Ferreira, Mabel Freitas Cordeiro, Tânia Vasconcelos Cavalcante

821 - 825



PDF



HTML

DESEMPENHO DE BEZERROS ALIMENTADOS COM CONCENTRADO EXTRUSADO OU FARELADO

Amália Saturnino Chaves, Rafael Caputo Oliveira, Gil Pessoa Junior, Antônio de Azevedo Carvalho Viana, Leandra Queiroz de Melo, Suely de Fátima Costa, Marcos Neves Pereira

826 - 829



PDF



HTML

DISTRIBUIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS LINEARES DE PERNAS E PÉS DOS TOUROS LEITEIROS TESTADOS DAS RAÇAS HOLANDÊS E JERSEY DISPONIBILIZADOS NO BRASIL

Gregori Alberto Rovadoscki, Marcio Pereira Soares, Leila de Genova Gaya, Leandro Homrich Lorentz, Fernanda Batistel, Simone Fernanda Nedel Pértile

830 - 835



PDF



HTML

DISTRIBUIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS LINEARES DE ÚBERE EM TOUROS LEITEIROS TESTADOS DAS RAÇAS HOLANDÊS E JERSEY DISPONIBILIZADOS NO BRASIL

Gregori Alberto Rovadoscki, Marcio Pereira Soares, Leila de Genova Gaya, Leandro Homrich Lorentz, Valdirene Zobot, Fernanda Batistel

836 - 841



PDF



HTML

EFEITOS DA DIETA DE TRANSIÇÃO COM DIFERENTES PADRÕES ENERGÉTICOS NA SUPERFÍCIE ABSORTIVA RUMINAL DE VACAS LEITEIRAS PERIPARTURIENTES

Tiago da Silva Teófilo, Matheus Balduino Moreira, João Chysostomo de Resende Júnior, Ronaldo Francisco de Lima, Gustavo Prado Lenzi, Pedro Paulo Bueno, Thiago Melo França, Tiago Antônio Del Valle, Danilo de Oliveira Rocha Bhering Santoro, João Luiz Pratti Daniel

842 - 846



PDF



HTML

POTENCIALIDADES NUTRICIONAIS DE RESÍDUOS DE COURO WET BLUE PARA A ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

Rodrigo Carvalho da Silva, Chrysostomo de Resende Júnior, Ronaldo Francisco de Lima, Luiz Carlos Alves de Oliveira, João Luiz Pratti Daniel, Mary Suzan Varaschin, Raimundo Vicente de Souza

847 - 852



PDF



HTML

DISTRIBUIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS DE TOUROS LEITEIROS TESTADOS DAS RAÇAS HOLANDÊS E JERSEY DISPONIBILIZADOS NO BRASIL

Valdirene Zobot, Marcio Pereira Soares, Leila de Genova Gaya, Leandro Homrich Lorentz, Quêti Di Domenico, Simone Fernanda Nedel Pértile

853 - 858



PDF



HTML

DISTRIBUIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS DE MANEJO DOS TOUROS LEITEIROS TESTADOS DAS RAÇAS HOLANDÊS E JERSEY DISPONIBILIZADOS NO BRASIL

Valdirene Zobot, Quêti Di Domenico, Marcio Pereira Soares, Leila de Genova Gaya, Leandro Homrich Lorentz, Gregori Alberto Rovadoscki

859 - 864

**PDF****HTML**

POTENCIAL ALCALINIZANTE DA SOLUÇÃO DE RINGER COM LACTATO EM OVELHAS SADIAS

Júlio Augusto Naylor Lisboa, Fernanda Tamara N. M. A. Romão, Ronaldo de Sousa e Silva, Renata Caminha Gomes, Karina Keller M. C. Flaiban, Décio Sabbatini Barbosa, Mara Regina Stipp Balarin
865-870

**PDF**

PALESTRAS

FISIOLOGIA DO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Euler Rabelo, Betânia G. Campos

**PDF**

ENFERMIDADES DO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Enrico Lippi Ortolani

**PDF**

CIRURGIAS FREQUENTES EM VACAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

José Augusto Bastos Afonso

**PDF**

FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DAS DOENÇAS METABÓLICAS

Félix H. D. González

**PDF**

DESAFIOS NA CRIAÇÃO E SAÚDE DE BEZERROS

Sandra Gesteira Coelho

**PDF**

O SISTEMA RESPIRATÓRIO NA SANIDADE DE BEZERROS

Roberto Calderon Gonçalves

**PDF**

DIFERENÇAS FISIOLÓGICAS ENTRE BUBALINOS E BOVINOS: INTERFERÊNCIA NA PRODUÇÃO

José Diomedes Barbosa Neto, Eduardo Bastianetto



DOENÇAS INFECCIOSAS EM BÚFALOS

Rômulo Cerqueira Leite, Eduardo Bastianetto



ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CONTROLE DAS DOENÇAS PARASITÁRIAS EM BUBALINOS

Eduardo Bastianetto Bastianetto, Romário Cerqueira Leite



NEUROPATIAS BOVINAS EMERGENTES

Claudio Severo Lombardo Barros



EPIDEMIOLOGIA DO Trypanosoma vivax NO BRASIL

Cláudio Roberto Madruga



SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA BRUCELOSE BOVINA NO BRASIL: BASES PARA AS INTERVENÇÕES

José Soares Ferreira Neto



BINÔMIO: SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA E PRODUÇÃO LEITEIRA

Elizabeth Oliveira da Costa



DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DA MASTITE BOVINA

Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito



MASTITE EM NOVILHAS: IMPORTÂNCIA E CONTROLE

Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira, Renison Teles Vargas, Adriano França da Cunha, Arianna Drumond Lage, Leorges Moraes da Fonseca, Ronon Rodrigues, Mônica de Oliveira Leite, Cláudia Freire de Andrade Moraes Penna, Marcelo Resende de Souza

**PDF**

SISTEMA DE PAGAMENTO COMO INCENTIVO À QUALIDADE DO LEITE

Fernando Ferreira Pinheiro

**PDF**

RESISTÊNCIA AOS ANTI-HELMÍNTICOS EM PEQUENOS RUMINANTES

Felipe Pohl de Souza

**PDF**

BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO APLICADAS A PEQUENOS RUMINANTES

Fabiana Cristina Varago, Valéria Spyridion Moustacas, Betina Carla Cruz, Monique de Albuquerque Lagares, Marc Roger Jean Marie Henry

**PDF**

DIAGNÓSTICO DAS ALTERAÇÕES HEPÁTICAS EM PEQUENOS RUMINANTES

Pedro Brandini Néspoli, Valentim Arabicano Gheller

**PDF**

DOENÇAS HEPÁTICAS EM OVINOS E CAPRINOS

José Renato Junqueira Borges, Roberta Ferro de Godoy, Fábio Bezerra Ximenes, Márcio Botelho de Castro, Vanessa Mustafa Mustafa, Guilherme Reckziegel, Ernane de Paiva Ferreira Novais

**PDF**

DESAFIOS SANITÁRIOS E DE MANEJO NA OVINOCULTURA

Fernando Henrique Melo Andrade Rodrigues, Eduardo Luiz de Oliveira, Francisco Selmo Fernandes Alves

**PDF**

BEM-ESTAR, AMBIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

Eliane Vianna da Costa-e-Silva, Paola Moretti Rueda, Josephina Montanari Rosa Rangel, Carmem Estefânia Serra Neto Zúccari

**PDF**

INSTALAÇÕES E SAÚDE EM REBANHOS LEITEIROS

Robson Vilela Sá Fortes



PDF

ASPECTOS LEGAIS E TÉCNICOS DOS EFLUENTES E RESÍDUOS EM SISTEMA INTENSIVO DE PRODUÇÃO DE LEITE

Israel José da Silva



PDF

Enviar Submissão

Idioma

English

Português (Brasil)



Open Journal Systems

Informações

[Para Leitores](#)

[Para Autores](#)

[Para Bibliotecários](#)

Palavras-chave





Platform &
workflow by
OJS / PKP

COMPACTAÇÃO DO CÓLON EM VACA. RELATO DE CASO.

José Augusto Bastos Afonso¹, José Cláudio de Almeida Souza², Eduardo Levi de Sousa Guaraná³,
Carla Lopes de Mendonça¹, Nivaldo de Azevedo Costa¹, Rafael Otaviano do Rego⁴.

1. Médico Veterinário, Doutor, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/UFRPE.

E-mail: cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

2. Médico Veterinário, Doutor, professor da Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE.

3. Médico Veterinário, Aluno de Mestrado do PPGCV/UFRPE.

4. Médico Veterinário Residente, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/UFRPE.

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, intestino grosso, sistema digestivo.

ABSTRACT

COLON IMPACTION IN A COW: CASE REPORT

This work reports the clinical, laboratorial and pathological findings of colon impaction in a 3½-year-old female crossbred cow (3/4 Holstein x ¼ Gir) weighing 400kg. Clinical examination revealed apathy, tachycardia and 10% of dehydration. There was a reduction on appetite as well as ruminal and intestinal motility. Simultaneous auscultation and percussion showed a well-defined metallic area, or ping, in the 11th intercostal space. Rectal examination detected scant, pasty, blackish and fetid feces, as well as a hard, spherical structure that had adhered to the upper right abdominal cavity of the large intestine, not allowing its total palpation. Hematology diagnosed leukocytosis with neutrophilia and hyperfibrinogenemia. Increased chloride ion concentration (42,42 mEq/L) was evidenced by rumen fluid analysis. Right flank celiotomy followed by exploratory laparotomy was performed revealing colon impaction and diffuse peritonitis. Necropsy findings indicated an ovoid solid mass in the spiral valve of the ascendant colon. It was adhered to the peritoneal wall, partially covered by fibrin, and displayed focal hemorrhage areas that extended into the greater omentum. During the opening of the colonic region, mild stenosis and fecaloma obstruction were observed due to mucosal necrosis and ulceration.

KEY WORDS: Bovine, digestive system, large intestine.

INTRODUÇÃO

As enfermidades relacionadas ao intestino delgado e grosso são pouco frequentes quando comparada as que acometem os pré-estômagos e abomaso. Entre as mais citadas

podem-se relatar as intussuscepções, torção e obstrução por fitobezoários dos diferentes segmentos do intestino delgado e grosso, e a dilatação do ceco (AFONSO et al., 2002; TSCHUOR et al., 2007; AFONSO et al., 2008).

As afecções de origem obstrutiva que comprometem o cólon de bovinos são esporádicas, e a região mais acometida é o segmento espiral. A intussuscepção é rara, mas tem sido comumente relatada em bezerros do que em animais adultos. A obstrução do cólon espiral pode ser uma seqüela da dilatação do ceco que acarreta uma hipomotilidade. Fatores extraluminais como linfossarcoma, aderências provocadas por peritonites, úlcera de abomaso perfurada, aplicação de injeção intraperitoneal, perimetrites e cirurgias intra-abdominais são causa predisponentes da obstrução (SMITH & DONAWICK 1979, HAMILTON & TULLENERS 1980, FUBINNI 1990, OKAMOTO et al. 2007).

Em virtude da relativa falta de informação a respeito deste tipo de distúrbio digestivo em bovinos na região, este artigo teve como objetivo relatar os achados clínicos, laboratoriais e anatomopatológico de um caso de compactação do cólon em bovino.

MATERIAL E MÉTODOS

As descrições dos achados foram obtidas a partir de um bovino, fêmea mestiça (3/4 Holandês x 1/4 Gir), com 3 ½ anos de idade, pesando 400 Kg, oriundo de uma fazenda do município de São Bento do Una, Estado de Pernambuco. A alimentação diária era composta de resíduo de cevada, capim elefante (*Penisetum purpurium*) e sal mineral *ad libitum*. Não estava em lactação. Na anamnese, o proprietário relatou que há cinco dias o animal ficou apático, sem querer comer, não ruminava. Sendo medicada na propriedade sem sucesso. O animal foi encaminhado à Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns – UFRPE. O exame clínico e do fluido ruminal foi realizado seguindo as normas preconizadas por DIRKSEN et al. (1993).

RESULTADOS

Ao exame clínico evidenciou-se apatia, temperatura de 38,5⁰C, pulso de 100 batimentos por minuto, frequência respiratória de 16 movimentos respiratórios por minuto, membranas mucosas de coloração normal e desidratação (10%). O apetite, a motilidade ruminal e intestinal estavam diminuídas. A observação do contorno abdominal constatou-o com aspecto de pêra. A percussão simultânea a auscultação revelaram uma área definida de

ressonância timpânica (“tilintar”) no 11^o espaço intercostal. O paralelo balotamento e auscultação desta região elucidaram som de líquido nos intestinos. No exame retal constatou-se que as fezes eram escassas, pastosas, escuras, bem digeridas e fétidas; havia na região superior do antímero direito da cavidade, na altura do intestino grosso, a presença de uma estrutura de forma esférica endurecida, com áreas de aderência, não contornável a palpação. O animal estava com prenhes de quatro meses.

Na avaliação hematológica os valores da série vermelha estavam dentro da normalidade para a espécie, o leucograma revelou uma leucocitose por neutrofilia com desvio para a esquerda regenerativo, além de hiperfibrinogemia. No exame do fluido ruminal observou-se um comprometimento da microbiota ruminal e uma elevação do teor de cloreto.

Diante dos achados clínicos e laboratoriais estabeleceu-se um diagnóstico presuntivo de um transtorno obstrutivo envolvendo o intestino grosso, sendo indicado uma laparotomia exploratória na fossa paralombar direita mantendo o animal em estação (STEINER, 2004).

Após a completa exploração manual da cavidade abdominal, constatou-se na região espiral do cólon ascendente, que havia uma estrutura de consistência firme e com alguns pontos friáveis na sua serosa e áreas contendo fibrina, com ± 30 cm de comprimento, apresentando aderências ao ceco. Pelo tamanho e comprometimento da estrutura, que não tinha mobilidade, dificultava a sua exposição e impedindo definir a natureza da lesão que comprometia o órgão. Diante da gravidade da lesão intestinal e quadro clínico, que inviabilizava o seu tratamento, a cirurgia foi finalizada com fechamento da cavidade, de acordo com os padrões de rotina. Foi indicado o seu sacrifício, seguindo as recomendações de LUNA & TEIXEIRA (2007).

Nos achados de necropsia foi observado no intestino grosso, ao nível do segmento espiral do cólon ascendente, uma massa de forma ovóide medindo aproximadamente 30 cm x 20 cm x 20 cm, de consistência firme e aderida a parede peritoneal, recoberta parcialmente por fibrina e com áreas focais de hemorragia que se estendiam ao mesentério. Esta estrutura era constituída pelos segmentos centrípetos e centrífugos dos giros do cólon, que se apresentavam envolvidos por fibrina e edema dificultando a dissecação. Na abertura da região colônica notou-se discreta estenose com a presença de uma massa alimentar compactada (bolo fecal), formando um halo na mucosa com área de necrose e ulceração, sugestivo de obstrução. Na porção anterior ao halo observou-se distensão dos segmentos do cólon de aproximadamente 1,5m. Ao corte, foi observado conteúdo mal digerido, de coloração escura e

odor fétido, e a mucosa apresentando áreas ulceradas de tamanhos variados contendo material fibrino necrótico.

DISCUSSÃO

Os achados obtidos no exame clínico sugeriram uma condição em que a obstrução intestinal posterior completa, envolvendo o cólon e/ou ceco, não poderia ser descartada. Entretanto, obstruções nestes segmentos não são freqüentes em animais adultos. O diagnóstico diferencial inclui as intussuscepções e torção do cólon, na região ascendente (giros sigmóide) e descendente respectivamente. (HITCHCOCK, 1970; HAMILTON & TULLENERS, 1980; ROSS et al., 1983; STRAND et al., 1993). A obstrução intraluminal do cólon nas regiões ascendente e descendente geralmente é provocada por fitobezoários, enterólitos, neoplasia, aderências e pela compactação das fezes (FUBINI, 1993). A ocorrência da compactação do conteúdo intestinal no cólon ascendente (espiral) no animal deste relato, provavelmente esteja relacionada à ingestão de fibra alimentar de pouca digestibilidade, cuja oferta de alimento para a mesma era só forragem e apenas dois kg de resíduo de cervejaria (bagaço de cevada) ao dia, e em virtude da época do ano na região ser mais seca a oferta de água ficava comprometida (NUSS et al. 2006).

Segundo PEARSON & PINSENTE (1977), FUBINI (1993) E DIRKSEN & DOLL (2005) os sinais clínicos observados no caso de obstrução no cólon espiral, não diferem muito dos outros tipos de obstruções, são progressivos podendo ocorrer em poucos dias, como foi relatado, ou semanas. Os mais evidentes inicialmente são cólicas agudas, diminuição do apetite a anorexia, redução das contrações ruminiais. A freqüência cardíaca pode está elevada e há desidratação. O abdômen fica distendido na região da fossa paralombar direita, e com a percussão resulta ressonância com som metálico devido às alças dilatadas, além da presença de líquidos que podem ser escutados. No início da doença as fezes são escassas, escuras e fétidas e com a evolução só é possível encontrar a presença de muco. Na palpação retal uma estrutura firme e aderências usualmente podem ser sentidas, como verificada no caso em estudo. No presente relato observou-se que os sinais clínicos eram semelhantes aos citados pela literatura (PAPADOPOULOS et al., 1985a; REBHUN, 1995; RADOSTITS et al., 2007).

As alterações laboratoriais encontradas como uma leucocitose por neutrofilia, e uma elevação nos valores do fibrinogênio plasmático, podem ser interpretadas como consequência de um processo inflamatório do órgão acometido (JAIN, 1993; RADOSTITS et al., 2007). O

comprometimento das características da microbiota ruminal está relacionada à anorexia e ao quadro de pouca dinâmica digestiva provocada pela enfermidade, como relatado por PAPADOPOULOS et al. (1985b), cujo o refluxo do conteúdo gastrointestinal resulta na passagem de íons cloretos e hidrogênio para os pré-estômagos, o que pode explicar a elevação do primeiro íon no conteúdo do rúmen no caso em estudo.

Segundo BARKER et al. (1993), nos casos de obstrução intestinal, ocorre necrose na parede em função da compressão provocada pela massa alimentar compactada, com consequente comprometimento das camadas levando a perfuração da víscera e peritonite, como também verificada neste caso e caracterizada pela presença de bandas de fibrina entre a superfície serosa lesada e alças intestinais adjacentes.

Os achados obtidos reiteram a inclusão deste tipo de afecção no diagnóstico diferencial dos diferentes tipos de transtornos digestivos que acometem bovinos adultos, principalmente àqueles relacionados com a natureza obstrutiva dos segmentos intestinais.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, J. A. B.; COSTA, N. A.; MENDONÇA, C. L.; SOUSA, M. I. ; SIMÃO, L. C. V.; DANTAS, F. R. Alterações clínicas e laboratoriais na dilatação do ceco em bovinos. Análise de 10 casos. **Revista de Educação Continuada**, CRMV-SP, São Paulo, v. 5, n. 3, p. 313-320, 2002.
- AFONSO, J. A. B.; PEREIRA, A. L. L.; VIEIRA, A. C.; MENDONÇA, C. L.; COSTA, N. A.; SOUSA, M. I. Alterações clínicas e laboratoriais na obstrução gastrintestinal por fitobezoários em bovinos. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, Salvador, v. 9, n. 1, p. 91-102, 2008.
- BARKER, I. K.; DREUMEL, A. A. V.; PALMER, N. C. The alimentary system. In: **Pathology of domestic animals**. 4.ed. JUBB K. V. F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. San Diego: Academic Press. 1993. 3v. p. 74-140.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.
- DIRKSEN, G.; DOLL, K. Obstrucción interna del intestino, íleo por obturación. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4.ed. Buenos Aires: Inter.-Médica, 2005. v.1, p.484-485.

FUBINI, S. L. Surgery of the bovine large intestine. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 6, n. 2, p. 461-471, 1990.

FUBINI, S.L. Surgery of the bovine large intestine. **Agri-Practice**, Santa Barbara, v. 14, n. 7, p. 40-42, 1993.

HAMILTON, G. F.; TULLENERS, E. P. Intussusception involving the spiral colon in a calf. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 21, p. 32, 1980.

HITCHCOCK, P. L. Torsion of the large intestine in a young bull. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 46, p. 542-543, 1970.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

LUNA, S. P. L.; TEIXEIRA, M. W. Eutanásia: considerações éticas e indicações técnicas. **Revista do CFMV**, Brasília, v. 13, n. 41, p. 60-69, 2007.

OKAMOTO, M.; ITOH, H.; KOIWA, M.; INAGAKI, M.; NADAO, T.; KUROSAWA, T.; KAWASAKO, K.; KOMINE, M.; AKIHARA, Y.; SHIMOYAMA, Y.; MIYASHO, T.; HIRAYAMA, K.; TANIYAMA, H. Intussusception of the spiral colon associated with fibroserous granulation in a heifer. **Veterinary Record**, London, v. 17, p. 376-378, 2007.

PAPADOPOULOS, P. H.; RAPTOPOULU, S. D.; DESSIRIS, A.; TSIMOPOULOS, G. Experimental intestinal obstruction in cattle. Part I: Changes in the clinical picture. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin . Reihe A.**, Berlin, v. 32, p. 264-275, 1985a.

PAPADOPOULOS, P.H.; RAPTOPOULUS, D.; DESSIRIS, A.; TSIMOPOULOS, G.; ROUMPLES, N. Experimental intestinal obstruction in cattle. Part II: Changes in blood, urine and rumen content chemistry. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin . Reihe A.**, Berlin, v. 32, p. 276-288, 1985b.

PEARSON, H.; PINSENT, P. J. N. Intestinal obstruction in cattle. **Veterinary Record**, London, v. 101, n. 9, p. 162-166, 1977.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Edinburg: Saunders, 2007. 2156p.

REBHUN, W. C. **Diseases of dairy cattle**. Baltimore: Lea & Febiger, 1995. 530p.

ROSS, M. W.; DUCHARME, N. G., POWER, H. T. Torsion of the descending colon in a cow. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 24, p. 150-151, 1983.

STEINER, A. Surgery of the colon. In: FUBINI, S. L.; DUCHARME, N. G. **Farm animal surgery**. St Louis: Saunders. 2004. p. 257-262.

SMITH, D. F.; DONAWICK, W. J. Obstruction of the ascending colon in cattle. I Clinical presentation and surgical management. **Veterinary Surgery**, Philadelphia, v. 8, p. 93-97, 1979.

STRAND, E.; WELKER, B.; MODRANSKY, P. Spiral colon intussusception in a three-year-old bull. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 202, n. 6, p. 971-972, 1993.

TSCHUOR, A. C.; SACHER, K.; KEMPF, E.; NUSS, K. Torsion of the sigmoid colon in a cow. **Veterinary Record**, London, v. 20, p. 567-568, 2007.

USO INTRAPALPEBRAL DE FLORFENICOL NO TRATAMENTO DA CERATOCONJUNTIVITE INFECCIOSA BOVINA

Marcus Luciano Guimarães Rezende¹, Maria Clorinda Soares Fioravanti², Flávia Gontijo de Lima¹, Gustavo Lage Costa¹, Hilary Wanderley Hidas¹, Rinaldo Batista Viana³

¹ Pós-Graduandos em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

² Professora Doutora da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás Caixa Postal 131, CEP 74001-97, Goiânia-GO, Brasil. E-mail: clorinda@vet.ufg.br (autor correspondente).

³ Professor Doutor do Instituto da Saúde e Produção Animal/Universidade Federal Rural da Amazônia

PALAVRAS-CHAVE: Antibioticoterapia, bacteriostático, doença ocular.

ABSTRACT

EFFICACY OF INTRAPALPEBRAL APPLICATION OF FLORFENICOL IN THE TREATMENT OF INFECTIOUS BOVINE KERATOCONJUNCTIVITIS

The primary etiologic agent of infectious keratoconjunctivitis (IBK) is *Moraxella bovis*, which causes the majority of ocular inflammations in cattle from central Brazil. It may lead to significant production losses and laborious treatment protocols. Therefore, this study assesses an alternative procedure for treating infectious keratoconjunctivitis that consists of a single intrapalpebral application of florfenicol (600 mg in each affected eye). Our results show both clinical and economic advantages of this technique as well as its prospects for wide use.

KEYWORDS: Antibacterial, bacteriostatic, ocular disease.

INTRODUÇÃO

A bovinocultura de corte e leite é uma das mais importantes atividades pecuárias da região Centro Oeste brasileiro. O rebanho bovino do estado de Goiás supera as 20 milhões de cabeças (IBGE, 2009), e graças à tecnologias de criação, o estado tem batido recordes anuais de produção de carne e leite. Os sistemas intensivos de criação tem permitido uma participação crescente e a cada dia mais importante na balança comercial do estado, que possui atualmente o maior número de confinamentos do Brasil.

Em paralelo ao aumento da produção por área, aumenta-se também os desafios sanitários aos animais e dentre destes: as doenças oculares. Comumente, ocorrendo em surtos, a ceratoconjuntivite infecciosa bovina (CIB) pode apresentar curso agudo, subagudo e crônico, podendo ser uni ou bilateral (PUNCH et al., 1985). O lacrimejamento excessivo, a

hiperemia, o edema de conjuntivas e a opacidade de córnea são os sinais clínicos mais freqüentemente observados dentro dos confinamentos; já ao exame clínico observam-se também blefaroespasmos, fotofobia e lesões de córnea. (RADOSTITS, 2002; CONCEIÇÃO, 2003) Na evolução do quadro clínico pode-se diagnosticar cegueira temporária, ruptura de córnea e decemetocelose, podendo culminar com a cegueira permanente do indivíduo (TURNES, 1998).

A CIB é transmitida por meio de contato direto entre os animais ou por vetores mecânicos em contato com secreções nasais ou oculares contaminadas, é descrita como mais comum nos meses mais quentes do ano, quando a população de vetores e o foto-período aumentam. (PUNCH et al, 1982; CHAVES, 2004) Todavia, deve-se notar que as características climáticas, precipitação de poeira, alimentação particulada e pulverulenta, bem como o adensamento populacional característicos das criações intensivas, tendem a favorecer de sobremaneira a proliferação da doença. (CHAVES et al., 2008) Segundo RADOSTITS (1989) a taxa de morbidade da CIB pode atingir 80%, com o maior número de casos entre a terceira e quarta semanas do surto.

O uso de vacinas contendo antígenos de fimbrias são alternativas eficazes para o controle da CIB, com índices próximos a 83% de proteção. (TURNES, 1998) No tratamento, animais com quadros agudos respondem bem à terapia com pomadas e soluções oftálmicas de gentamicina, cloranfenicol, oxatetraciclina, penicilinas e estreptomicinas em repetidas instilações diárias. (RADOSTITS, 2002) No que tange ao uso de fármacos injetáveis, pode-se obter bons resultados com oxitetraciclinas de longa ação (20 mg/kg) intramuscular, em três doses intervaladas de 48 horas, ou com o uso de florfenicol (20 mg/kg) intramuscular, em duas doses com intervalo de 48 horas entre as aplicações (DUEGER, 1999; COSTA, 2008)

O presente trabalho visa oferecer um protocolo de tratamento eficaz, de custo acessível e que permita o uso de uma droga em dose única, dispensando a necessidade de repetidos manejos dos animais, imprimindo menor estresse, menor mão de obra e permitindo o rápido retorno do animal ao cocho.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 77 bovinos da raça nelore, machos inteiros, com idade média de 18 meses e 330 Kg de peso médio. Os animais eram criados em duas propriedades nos municípios de Morrinhos e Jataí-GO; engordados há mais de 30 dias no sistema de semi-confinamento dentro das referidas propriedades.

Aplicou-se 2 mL (600 mg) de florfenicol (Nuflor[®], Intervet Schering–Plough) em cada olho afetado, em dose única, via intrapalpebral, com seringas hipodérmicas de 3 mL, acopladas a agulhas 25 x 10 mm. Para a aplicação, os animais foram adequadamente contidos em troncos tipo brete. Os animais tratados foram identificados pela numeração dos brincos e corte da vassoura da causa e reintroduzidos aos seus lotes contemporâneos. Foram realizadas avaliações visuais a cada 12 horas e um novo exame clínico 96 horas após a administração da droga.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escolha da via intrapalpebral para a administração do florfenicol mostrou-se eficiente, já que houve a rápida recuperação da totalidade dos animais tratados e não houve dano algum às estruturas dos olhos dos bovinos medicados. A dose utilizada, onze vezes menor que a recomendada para injeções intramusculares, mostrou-se economicamente vantajosa e de grande praticidade; uma vez que obteve-se a cura clínica com uma única aplicação intrapalpebral do fármaco.

Segundo MOORE (1996), o tratamento sistêmico confere maior facilidade de administração dos fármacos que quando em aplicações tópicas com pomadas e sprays; o seu melhor efeito é dado à melhor difusão do fármaco por todos os tecidos do animal, permitindo metabolitos ativos por maior tempo. MENDES (2002) experimentou taxas de 100% de cura em ovinos tratados com florfenicol (20 mg/kg) em duas doses intramusculares com intervalo de 48 horas entre as aplicações.

Comparando-se o tratamento proposto aos protocolos convencionais, com pomadas ou sprays oftálmicos, há vantagens práticas e na velocidade de cura. Quando comparado ao uso de fármacos via sistêmica, a aplicação intrapalpebral de florfenicol apresenta-se economicamente bastante atrativa.

Foram tratados 77 bovinos com florfenicol via intrapalpebral em dose única, e 100% dos animais apresentaram cura clínica 96 horas após o tratamento, tendo os mesmos apresentado a seguinte evolução clínica:

- À zero hora: início do tratamento
- Às 12 horas: lacrimejamento abundante, edema pronunciado e discreta hemorragia;
- Às 24 horas: lacrimejamento discreto, edema pronunciado e ausência de hemorragia;
- Às 36 horas: sem lacrimejamento observável e edema pronunciado;
- Às 48 horas: diminuição do edema;
- Às 60 horas: discreto edema e mucosa ocular normocrômica;

- Às 72 horas: sem edema na maioria dos animais;
- Às 84 horas: sem edema na grande totalidade dos animais;
- Às 96 horas: animais sadios ao exame clínico.

CONCLUSÃO

Analisando-se os resultados obtidos nos tratamentos, conclui-se que o uso do florfenicol via intrapalpebral é altamente eficaz no tratamento de CIB; permitindo a recuperação clínica do animal com uma única aplicação.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à Intervet Schering–Plough pelo auxílio financeiro e disponibilização do produto.

REFERÊNCIAS

- BLOOD, D. C. ; RADOSTIS, O. M. **Clínica Veterinária**. 9.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.
- CHAVES, N. S. T.; ACIPRESTE, C. S. Peste do olho. **Cultivar Bovinos**, Londrina, p. 30-31, 2004. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com.br/artigos/artigo.asp?id=316>>
Acessado em 28 de julho de 2009.
- CHAVES, N. S. T.; LIMA, A. M. V.; AMARAL, A. V. C. Surto de ceratoconjuntivite infecciosa em ovinos causada por *Moraxella spp* no estado de Goiás, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 1, p. 256-261, 2008
- CONCEIÇÃO, F. R.; TURNES, C. G. *Moraxella bovis*: influência das características genotípicas e fenotípicas no controle da ceratoconjuntivite infecciosa bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 4, p. 778-787, 2003.
- COSTA, G. M.; MARTINS, N. E.; FERNANDES, A. A.; SILVA, N.; SALVARANI, F. M.; ASSIS, R. A.; LOBATO, F. C. F. Descrição de um surto de ceratoconjuntivite infecciosa bovina em uma propriedade no sul de Minas Gerais, Brasil. **Clínica Veterinária Tropical**. Recife, v. 11, n. 1, p. 25-29, 2008.

DUEGER, E. L., ANGELOS, J. A., COSGROVE, S., JOHNSON, J., GEORGE, L.W. Efficacy of florfenicol in the treatment of experimentally induced infectious bovine keratoconjunctivitis. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 60, n. 8, p. 960-64, 1999.

GEORGE, L.W. Antibiotic treatment of infectious bovine keratoconjunctivitis. **The Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 80, p. 229-235, 1990.

IBGE. 2009. **Estados**. Goiás: Pecuária 2007. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acessado em 28 de julho de 2009.

MENDES, L. C. N., PEIRÓ, J. R., FEITOSA, F. L. F. Eficácia do florfenicol no tratamento da ceratoconjuntivite infecciosa ovina naturalmente adquirida. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 238-242, 2002

MOORE, C. P. Chlamydial keratoconjunctivitis in sheep. In: SMITH B.P. **Large animal internal medicine**, 2ed., Saint Louis, Mosby, 1996, p. 1362.

PUNCH, P.; GERHARDT, R.; ALLEN, J. The role of face flies in a episode of infectious bovine keratoconjunctivitis. **Journal American Veterinary Medical Association**, Washington, v. 180, p. 156-159, 1982.

PUNCH, P.I.; COSTA, N. D.; CHAMBERS, E. D.; SLATTER, D. H.; WILCOX, G. E. Plasma and tear concentrations of antibiotics administered parenterally to cattle. **Research in Veterinary Science**, London, v. 39, p. 179-187, 1985.

TURNES, C. G. Ceratoconjuntivite infecciosa bovina. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. Pelotas: Universitária/UFPel, p.180-191, 1998.

DOENÇAS CONGÊNTAS EM BOVINOS DIAGNOSTICADAS PELA CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO (CEDIVET) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, NO PERÍODO DE 1999 a 2009

Karinny Ferreira Campos¹, Melina Garcia Saraiva de Sousa¹, Natália da Silva e Silva², Cairo Henrique Sousa de Oliveira¹, Marcos Dutra Duarte³, José Diomedes Barbosa⁴ e Carlos Magno Chaves Oliveira⁵

1. Acadêmico (a) da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará (UFPA)
2. Aluna do Programa de Pós-graduação Saúde Animal na Amazônia, Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)
3. Médico Veterinário, MSc, Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)
4. Médico Veterinário, doutor, professor da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)
5. Médico Veterinário, MSc, professor da Faculdade de Medicina Veterinária, Central de Diagnóstico Veterinário, Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva 1000, Castanhal, PA, 68740-080, Brasil. E-mail: cmagno@ufpa.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Aberrações, alterações congêntas, bezerros.

ABSTRACT

INHERITED DISEASES IN CATTLE DETECTED AT THE VETERINARY DIAGNOSTICS CENTRE (CEDIVET) OF FEDERAL UNIVERSITY OF PARÁ FROM 1999 TO 2009

Congenital anomalies are distributed worldwide and result in reproductive losses due to abortion or neonatal death. The causes may be genetic, environmental or related to multifactorial inheritance. A total of 39 calves were evaluated at CEDIVET, Pará, from 1999 to 2009, of which 27 showed congenital malformations. These included: cerebellar hypoplasia, hydrocephalus, diprosopus, cleft palate, polydactyly, polymelia, syndactyly, cutaneous papilloma, arachnomelia, arthrogryposis, ectopia cordis, inguinal hernia, anal atresia, recto-vaginal fistula, sacro-coccygeal agenesis, tail anomalies, spina bifida, congenital arching, flexor tendon contracture, medial deviation of the carpus, dermoid tumor of the eye socket, and bladder agenesis. Combinations of congenital disorders were observed in eight animals: arachnomelia and cleft palate; cleft palate, arthrogryposis, diprosopus and spina bifida; polymelia, cutaneous papilloma and syndactyly; polymelia and polydactyly; hydrocephalus and bladder agenesis; arthrogryposis and sacro-coccygeal agenesis; tendon contracture and medial deviation of the carpus; anal atresia and recto-vaginal fistula.

KEYWORDS: Aberrations, calves, congenital malformations.

INTRODUÇÃO

Defeitos congênitos são anormalidades estruturais ou funcionais presentes ao nascimento, que acometem os sistemas parcial ou totalmente (ROTTA et al., 2008). Apresentam distribuição mundial e podem causar danos reprodutivos, como aborto, malformações, retardo de crescimento intra-uterino e deficiências funcionais (PIMENTEL et al., 2007).

A grande maioria desses defeitos ocorre esporadicamente, embora possam ocorrer sob forma de surto, associados a agentes infecciosos ou não e podendo apresentar etiologia múltipla (KIRKBRIDE, 1992; BARR & ANDERSON, 1993). As causas podem ser genéticas, ambientais ou multifatoriais. Entre os principais fatores ambientais ou fatores de risco envolvidos, incluem-se os nutricionais, a presença de teratógenos como a radiação, o uso da cortisona, a ocorrência de doenças maternas, traumatismos, a utilização de drogas como os benzimidazóis e a ingestão de plantas tóxicas; os fatores físicos do útero, relacionados às quantidades anormais de líquido amniótico (GERALDO NETO et al., 2001; PUGH, 2004; FELIPE, 2003). Alguns destes fatores estão intimamente relacionados às práticas rudimentares de manejo nutricional, sanitário e reprodutivo adotadas pelos criadores (PINHEIRO et al., 2000). Dos agentes virais, o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é importante causa de hipoplasia cerebelar, braquignatismo, hidrocefalia, porencefalia, artrogripose e desmielinização da medula espinhal em bovinos (ROEDER et al., 1986; ROSS et al., 1986).

Segundo FELIPE (2003), os defeitos congênitos seriam a causa de até 15% de óbitos nas primeiras 48 horas de vida. No Brasil, já foram mencionados em búfalos (SCHILD et al., 2003), caprinos (SCHMIDT & OLIVEIRA, 2004; PIMENTEL et al., 2007), ovinos (NÓBREGA et al., 2005) e bovinos (SANTOS et al., 2005).

O objetivo do presente trabalho é relatar a ocorrência de alterações congênitas em bovinos, diagnosticadas pela Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará, no período de 1999 a 2009.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo das enfermidades congênitas em bezerros, diagnosticadas pela CEDIVET no período de 1999 a 2009, provenientes de diferentes propriedades localizadas no estado do Pará.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram diagnosticadas 27 alterações congênitas, isoladas ou em associação, em 39 bezerros de ambos os sexos. De acordo com os dados obtidos as alterações congênitas encontradas foram: hipoplasia cerebelar, presente em um animal dos 39 examinados (1/39), hidrocefalia (1/39), diprosopia (1/39), rinognatosquise (3/39), fenda palatina (2/39), polidactilia (1/39), polimelia (2/39), sindactilia (1/39), pedúnculo cutâneo (4/39), aracnomelia (1/39), artrogripose (2/39), ectopia cordis (1/39), hérnia inguinal (1/39), atresia anal (1/39), fistula reto-vaginal (1/39), agenesia coccígea (2/39), agenesia sacro-coccígea (1/39), cauda curta (2/39), cauda dupla (1/39), desvio de cauda (1/39), desvio de chanfro (1/39), espinha bífida (1/39), arqueamento congênito (2/39), contratura dos tendões flexores (11/39), desvio medial dos carpos (1/39), ilha dermóide no globo ocular (2/39) e agenesia de bexiga (1/39).

Em oito animais foram encontradas, em associação, as seguintes alterações congênitas: aracnomelia e fenda palatina; rinognatosquise, fenda palatina, artrogripose, diprosopia e espinha bífida; polimelia, sindactilia e pedúnculo cutâneo; polimelia e polidactilia; agenesia de bexiga e hidrocefalia; artrogripose e agenesia sacro-coccígea, caracterizando a síndrome do “bezerro alce” (DIRKSEN et al., 2005a); contratura dos tendões flexores e desvio medial dos carpos; atresia anal e fistula reto-vaginal. Segundo DIRKSEN et al. (2005a), é comum o aparecimento simultâneo de várias alterações congênitas em um mesmo animal.

As alterações mais frequentes foram contratura dos tendões flexores, pedúnculo cutâneo e rinognatosquise. Resultados estes diferentes dos encontrados por PAVARINI et al. (2008) que ao analisarem 307 casos de abortos observaram que 3,5%, apresentavam anomalias congênitas, das quais a artrogripose e a fenda palatina (palatosquise) foram as mais frequentes.

A contratura dos tendões flexores foi observada em onze animais, sempre de forma simétrica, sendo que cinco, apresentaram a alteração apenas nos membros anteriores, quatro nos posteriores e dois, em todos os membros. Dez animais apresentavam alterações graves (grau 3) e foram submetidos à tenotomia, enquanto que um animal com alteração leve (grau 1) recuperou-se sem cirurgia. Segundo DIRKSEN et al. (2005a apud VAN HUFFEL, 1991),

essa alteração pode ser causada por uma limitação dos movimentos fetais intra-uterinos a partir da segunda metade da gestação.

Dos quatro casos de pedúnculos cutâneos relatados, um localizava-se na região torácica dorsal, um na região da cernelha, um na região cervical dorsal caudal e o outro na região atlanto-occipital.

A rinognatosquise foi diagnosticada em três animais, sendo que em um, a alteração foi bilateral e nos demais, unilateral. Essa alteração pode ser de origem hereditária ou causada por efeitos teratogênicos (DIRKSEN et al., 2005b).

Dos casos de polimelia, um animal possuía apenas um membro acessório, localizado na região cervical, o qual apresentava sindactilia. O outro animal apresentava quatro membros na região torácica (toracomelia), sendo que os dois membros anteriores eram rudimentares, os dois posteriores eram completos e o posterior direito apresentava polidactilia. Vale ressaltar que essa anomalia não comprometeu o desenvolvimento dos animais. Não se conhece exatamente as causas desta malformação, mas provavelmente são multifatoriais. Segundo CEBRIÁN (2006), o aparecimento de extremidades suplementares pode ser devido à propagação errática das células germinativas no embrião.

CONCLUSÃO

Com o presente estudo pôde-se constatar que diversas alterações congênitas, já descritas na espécie bovina, em outras partes do Brasil e em outros países, ocorrem também no estado do Pará. Maiores estudos são necessários para determinar a etiologia das alterações descritas neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARR, B. C.; ANDERSON, M. L. Infectious disease causing bovine abortion and fetal loss. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 9, p. 343-368, 1993.

CEBRIÁN, L. M.; VARELA, E.; CIUDAD, M. J.; RAMOS, J. J. Polimelia en una ternera frisona de ocho días de edad: Tratamiento quirúrgico. **Comunicaciones Libres**, Asociación Nacional de Especialistas em Medicina Bovina de España, n. 5, 2006. Disponível em: <http://www.anembe.com/congresos/indice.cgi?folder=2006> Acesso em 20 jul. 2009.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H-D.; STÖBER, M. **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4.ed. Buenos Aires: Inter-Médica, v. 2, p. 790-796, 2005a.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H-D.; STÖBER, M. **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4.ed. Buenos Aires: Inter-Médica, v. 1, p. 343-344, 2005b.

FELIPE, A. E. Introdução a la teratología: el estudio de las malformaciones congénitas en medicina veterinaria. **Revista Electrónica de Veterinaria**, España, v. 4, n. 4, 2003. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040403.html> Acesso em 20 jul. 2009.

GERALDO NETO, S. A. et al. Abortos e malformações em caprinos associados à ingestão de *Aspidosperma pyricollum* (Aponaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 4, 2001, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Editora Oeste, p. 184, 2001.

KIRKBRIDE, C. A. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 4, n. 2, p. 175-180, 1992.

NÓBREGA JR, J. E. et al. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 171-178, 2005.

PAVARINI, S. P. et al. Anomalias congênitas em fetos bovinos abortados no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p. 149-154, 2008.

PIMENTEL, L. A. et al. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the Northeastern Brazilian semiarid rangelands. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 44, n. 6, p. 928-931, 2007.

PINHEIRO, R. R. et al. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, p. 534-43, 2000.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Ed. Roca, 513p., 2004.

ROTTA, I.T.; TORRES, M. B. A. M.; MOTTA, R. G. Diprosopia em bovino [*Bovine diprosopus*]. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 489-491, 2008.

ROEDER, R. L.; JEFFREY, M.; CRANWELL, M. P. Pestivirus fetopathogenicity in cattle: Changing sequelae with fetal maturation. **The Veterinary Record**, London, v. 118, n. 2, p. 44-48, 1986.

ROSS, C. E.; DUBOVI, E. J.; DONIS, R. O. Herd problem of abortions and malformed calves attributed to bovine viral diarrhea. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 188, n. 6, p. 618-619, 1986.

SANTOS, M. S. et al. Diprosopo em bezerro (relato de caso). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 6, n. 1, p. 24-30, 2005.

SCHILD, A. L. et al. Arthrogriposis in Murrah buffaloes in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 13-16, 2003.

SCHMIDT, V.; OLIVEIRA, R. T. Artrogripose em caprino: Relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 4, p. 38-440, 2004.

DOENÇAS CONGÊNTAS EM BOVINOS DIAGNOSTICADAS PELA CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO (CEDIVET) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, NO PERÍODO DE 1999 a 2009

Karinny Ferreira Campos¹, Melina Garcia Saraiva de Sousa¹, Natália da Silva e Silva², Cairo Henrique Sousa de Oliveira¹, Marcos Dutra Duarte³, José Diomedes Barbosa⁴ e Carlos Magno Chaves Oliveira⁵

1. Acadêmico (a) da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará (UFPA)
2. Aluna do Programa de Pós-graduação Saúde Animal na Amazônia, Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)
3. Médico Veterinário, MSc, Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)
4. Médico Veterinário, doutor, professor da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)
5. Médico Veterinário, MSc, professor da Faculdade de Medicina Veterinária, Central de Diagnóstico Veterinário, Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva 1000, Castanhal, PA, 68740-080, Brasil. E-mail: cmagno@ufpa.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Aberrações, alterações congêntas, bezerros.

ABSTRACT

INHERITED DISEASES IN CATTLE DETECTED AT THE VETERINARY DIAGNOSTICS CENTRE (CEDIVET) OF FEDERAL UNIVERSITY OF PARÁ FROM 1999 TO 2009

Congenital anomalies are distributed worldwide and result in reproductive losses due to abortion or neonatal death. The causes may be genetic, environmental or related to multifactorial inheritance. A total of 39 calves were evaluated at CEDIVET, Pará, from 1999 to 2009, of which 27 showed congenital malformations. These included: cerebellar hypoplasia, hydrocephalus, diprosopus, cleft palate, polydactyly, polymelia, syndactyly, cutaneous papilloma, arachnomelia, arthrogryposis, ectopia cordis, inguinal hernia, anal atresia, recto-vaginal fistula, sacro-coccygeal agenesis, tail anomalies, spina bifida, congenital arching, flexor tendon contracture, medial deviation of the carpus, dermoid tumor of the eye socket, and bladder agenesis. Combinations of congenital disorders were observed in eight animals: arachnomelia and cleft palate; cleft palate, arthrogryposis, diprosopus and spina bifida; polymelia, cutaneous papilloma and syndactyly; polymelia and polydactyly; hydrocephalus and bladder agenesis; arthrogryposis and sacro-coccygeal agenesis; tendon contracture and medial deviation of the carpus; anal atresia and recto-vaginal fistula.

KEYWORDS: Aberrations, calves, congenital malformations.

INTRODUÇÃO

Defeitos congênitos são anormalidades estruturais ou funcionais presentes ao nascimento, que acometem os sistemas parcial ou totalmente (ROTTA et al., 2008). Apresentam distribuição mundial e podem causar danos reprodutivos, como aborto, malformações, retardo de crescimento intra-uterino e deficiências funcionais (PIMENTEL et al., 2007).

A grande maioria desses defeitos ocorre esporadicamente, embora possam ocorrer sob forma de surto, associados a agentes infecciosos ou não e podendo apresentar etiologia múltipla (KIRKBRIDE, 1992; BARR & ANDERSON, 1993). As causas podem ser genéticas, ambientais ou multifatoriais. Entre os principais fatores ambientais ou fatores de risco envolvidos, incluem-se os nutricionais, a presença de teratógenos como a radiação, o uso da cortisona, a ocorrência de doenças maternas, traumatismos, a utilização de drogas como os benzimidazóis e a ingestão de plantas tóxicas; os fatores físicos do útero, relacionados às quantidades anormais de líquido amniótico (GERALDO NETO et al., 2001; PUGH, 2004; FELIPE, 2003). Alguns destes fatores estão intimamente relacionados às práticas rudimentares de manejo nutricional, sanitário e reprodutivo adotadas pelos criadores (PINHEIRO et al., 2000). Dos agentes virais, o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é importante causa de hipoplasia cerebelar, braquignatismo, hidrocefalia, porencefalia, artrogripose e desmielinização da medula espinhal em bovinos (ROEDER et al., 1986; ROSS et al., 1986).

Segundo FELIPE (2003), os defeitos congênitos seriam a causa de até 15% de óbitos nas primeiras 48 horas de vida. No Brasil, já foram mencionados em búfalos (SCHILD et al., 2003), caprinos (SCHMIDT & OLIVEIRA, 2004; PIMENTEL et al., 2007), ovinos (NÓBREGA et al., 2005) e bovinos (SANTOS et al., 2005).

O objetivo do presente trabalho é relatar a ocorrência de alterações congênitas em bovinos, diagnosticadas pela Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará, no período de 1999 a 2009.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo das enfermidades congênitas em bezerros, diagnosticadas pela CEDIVET no período de 1999 a 2009, provenientes de diferentes propriedades localizadas no estado do Pará.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram diagnosticadas 27 alterações congênitas, isoladas ou em associação, em 39 bezerros de ambos os sexos. De acordo com os dados obtidos as alterações congênitas encontradas foram: hipoplasia cerebelar, presente em um animal dos 39 examinados (1/39), hidrocefalia (1/39), diprosopia (1/39), rinognatosquise (3/39), fenda palatina (2/39), polidactilia (1/39), polimelia (2/39), sindactilia (1/39), pedúnculo cutâneo (4/39), aracnomelia (1/39), artrogripose (2/39), ectopia cordis (1/39), hérnia inguinal (1/39), atresia anal (1/39), fistula reto-vaginal (1/39), agenesia coccígea (2/39), agenesia sacro-coccígea (1/39), cauda curta (2/39), cauda dupla (1/39), desvio de cauda (1/39), desvio de chanfro (1/39), espinha bífida (1/39), arqueamento congênito (2/39), contratura dos tendões flexores (11/39), desvio medial dos carpos (1/39), ilha dermóide no globo ocular (2/39) e agenesia de bexiga (1/39).

Em oito animais foram encontradas, em associação, as seguintes alterações congênitas: aracnomelia e fenda palatina; rinognatosquise, fenda palatina, artrogripose, diprosopia e espinha bífida; polimelia, sindactilia e pedúnculo cutâneo; polimelia e polidactilia; agenesia de bexiga e hidrocefalia; artrogripose e agenesia sacro-coccígea, caracterizando a síndrome do “bezerro alce” (DIRKSEN et al., 2005a); contratura dos tendões flexores e desvio medial dos carpos; atresia anal e fistula reto-vaginal. Segundo DIRKSEN et al. (2005a), é comum o aparecimento simultâneo de várias alterações congênitas em um mesmo animal.

As alterações mais frequentes foram contratura dos tendões flexores, pedúnculo cutâneo e rinognatosquise. Resultados estes diferentes dos encontrados por PAVARINI et al. (2008) que ao analisarem 307 casos de abortos observaram que 3,5%, apresentavam anomalias congênitas, das quais a artrogripose e a fenda palatina (palatosquise) foram as mais frequentes.

A contratura dos tendões flexores foi observada em onze animais, sempre de forma simétrica, sendo que cinco, apresentaram a alteração apenas nos membros anteriores, quatro nos posteriores e dois, em todos os membros. Dez animais apresentavam alterações graves (grau 3) e foram submetidos à tenotomia, enquanto que um animal com alteração leve (grau 1) recuperou-se sem cirurgia. Segundo DIRKSEN et al. (2005a apud VAN HUFFEL, 1991),

essa alteração pode ser causada por uma limitação dos movimentos fetais intra-uterinos a partir da segunda metade da gestação.

Dos quatro casos de pedúnculos cutâneos relatados, um localizava-se na região torácica dorsal, um na região da cernelha, um na região cervical dorsal caudal e o outro na região atlanto-occipital.

A rinognatosquise foi diagnosticada em três animais, sendo que em um, a alteração foi bilateral e nos demais, unilateral. Essa alteração pode ser de origem hereditária ou causada por efeitos teratogênicos (DIRKSEN et al., 2005b).

Dos casos de polimelia, um animal possuía apenas um membro acessório, localizado na região cervical, o qual apresentava sindactilia. O outro animal apresentava quatro membros na região torácica (toracomelia), sendo que os dois membros anteriores eram rudimentares, os dois posteriores eram completos e o posterior direito apresentava polidactilia. Vale ressaltar que essa anomalia não comprometeu o desenvolvimento dos animais. Não se conhece exatamente as causas desta malformação, mas provavelmente são multifatoriais. Segundo CEBRIÁN (2006), o aparecimento de extremidades suplementares pode ser devido à propagação errática das células germinativas no embrião.

CONCLUSÃO

Com o presente estudo pôde-se constatar que diversas alterações congênitas, já descritas na espécie bovina, em outras partes do Brasil e em outros países, ocorrem também no estado do Pará. Maiores estudos são necessários para determinar a etiologia das alterações descritas neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARR, B. C.; ANDERSON, M. L. Infectious disease causing bovine abortion and fetal loss. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 9, p. 343-368, 1993.

CEBRIÁN, L. M.; VARELA, E.; CIUDAD, M. J.; RAMOS, J. J. Polimelia en una ternera frisona de ocho días de edad: Tratamiento quirúrgico. **Comunicaciones Libres**, Asociación Nacional de Especialistas em Medicina Bovina de España, n. 5, 2006. Disponível em: <http://www.anembe.com/congresos/indice.cgi?folder=2006> Acesso em 20 jul. 2009.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H-D.; STÖBER, M. **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4.ed. Buenos Aires: Inter-Médica, v. 2, p. 790-796, 2005a.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H-D.; STÖBER, M. **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4.ed. Buenos Aires: Inter-Médica, v. 1, p. 343-344, 2005b.

FELIPE, A. E. Introdução a la teratología: el estudio de las malformaciones congénitas en medicina veterinaria. **Revista Electrónica de Veterinaria**, España, v. 4, n. 4, 2003. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040403.html> Acesso em 20 jul. 2009.

GERALDO NETO, S. A. et al. Abortos e malformações em caprinos associados à ingestão de *Aspidosperma pyricollum* (Aponaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 4, 2001, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Editora Oeste, p. 184, 2001.

KIRKBRIDE, C. A. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 4, n. 2, p. 175-180, 1992.

NÓBREGA JR, J. E. et al. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 171-178, 2005.

PAVARINI, S. P. et al. Anomalias congênitas em fetos bovinos abortados no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p. 149-154, 2008.

PIMENTEL, L. A. et al. *Mimosa tenuiflora* as a cause of malformations in ruminants in the Northeastern Brazilian semiarid rangelands. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 44, n. 6, p. 928-931, 2007.

PINHEIRO, R. R. et al. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, p. 534-43, 2000.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Ed. Roca, 513p., 2004.

ROTTA, I.T.; TORRES, M. B. A. M.; MOTTA, R. G. Diprosopia em bovino [*Bovine diprosopus*]. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 489-491, 2008.

ROEDER, R. L.; JEFFREY, M.; CRANWELL, M. P. Pestivirus fetopathogenicity in cattle: Changing sequelae with fetal maturation. **The Veterinary Record**, London, v. 118, n. 2, p. 44-48, 1986.

ROSS, C. E.; DUBOVI, E. J.; DONIS, R. O. Herd problem of abortions and malformed calves attributed to bovine viral diarrhea. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 188, n. 6, p. 618-619, 1986.

SANTOS, M. S. et al. Diprosopo em bezerro (relato de caso). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 6, n. 1, p. 24-30, 2005.

SCHILD, A. L. et al. Arthrogriposis in Murrah buffaloes in southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 13-16, 2003.

SCHMIDT, V.; OLIVEIRA, R. T. Artrogripose em caprino: Relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 4, p. 38-440, 2004.

HIDRATAÇÃO ENTERAL EM BOVINOS VIA SONDA NASOGÁSTRICA POR FLUXO CONTÍNUO

José Dantas Ribeiro Filho¹, Luiz Carlos Fontes Baptista Filho², Camila Oliveira Silveira²,
Rodrigo Melo Meneses³

1. Médico Veterinário, Professor Adjunto do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa – CEP 36570-000, Viçosa-MG, Brasil - E-mail: dantas@ufv.br (autor correspondente)
2. Médicos Veterinários – Residentes Clínica e Cirurgia de Ruminantes e Equinos – DVT-UFV
3. Acadêmico de Graduação – DVT-UFV

PALAVRAS-CHAVE: Desidratação, reidratação, ruminantes, soluções eletrolíticas.

ABSTRACT

ENTERAL FLUID THERAPY IN CATTLE BY CONTINUOUS NASOGASTRIC INFUSION

Nasogastric infusion via small-bore tubes is an alternative form of fluid administration in cattle. It allows the animals to be kept in free stall barns and does not affect food ingestion. This study evaluates 72 cows between 2 days and 12 years of age attended to at the Veterinary Hospital of Universidade Federal de Viçosa. The nasogastric small-bore tube was 4mm in diameter and 1,5 to 2 m in length. Two types of electrolytic solutions were used: Solution 1 (8g of NaCl, 0,5g of KCl, 0,5g of CaCl₂ and 15mL of propylenoglycol diluted in 1L of water); Solution 2 (5g of NaCl, 1g of KCl, 4g of NaHCO₃ and 5g of dextrose diluted in 1L of water). Continuous infusions of 10-20mL/kg per hour for 12 hours/day were performed. During this process, there was a gradual reduction of hematocrit, total plasma proteins, dehydration level, and urinary density. We conclude that this method causes minimum stress on the animal due to the fact that the same tube is used during fluid therapy. Furthermore, it is practical and economic.

KEYWORDS: Dehydration, electrolyte solutions, rehydration, ruminants.

INTRODUÇÃO

O aparecimento de desequilíbrios hidroeletrólíticos e ácido-base está associado a importantes enfermidades que acometem os bovinos. A correção desses desequilíbrios é feita por meio da hidratação que tem por objetivo a recomposição da volemia e da homeostase.

As vias de administração de fluidos comumente utilizadas em ruminantes são a intravenosa e a oral. A hidratação enteral (HET) consiste na administração de soluções eletrólíticas através de sonda orogástrica ou nasogástrica. As vantagens da HET são incontestáveis, entretanto o método tradicional usado em bovinos, que é através de uma sonda orogástrica, tem algumas limitações: a passagem da sonda é trabalhosa, podendo causar traumas à faringe e ao esôfago; como o animal não pode ser deixado com a sonda, é preciso passar a sonda várias vezes ao dia para que grandes volumes de fluidos possam ser administrados num dia, expondo-o várias vezes ao estresse da contenção. (RIBEIRO FILHO et al., 2004).

Uma alternativa para administração de fluidos é a via nasogástrica, com o emprego de sonda de pequeno calibre (AVANZA et al. 2004; RIBEIRO FILHO et al., 2004). O uso desta técnica, empregada com sucesso em equinos, permite que os animais sejam mantidos em baias sem contenção enquanto a hidratação é administrada continuamente sendo seguro permitir o acesso a alimentos (AVANZA et al., 2009).

A hidratação enteral apresenta baixo custo, um litro de solução (que pode ser produzida com água de torneira, sal de cozinha, cloreto de potássio, propilenoglicol e gluconato de cálcio), fazendo também com que o custo da solução enteral seja em algumas ocasiões até 100 vezes menor que a solução utilizada por via intravenosa.

A formulação ideal para ruminantes adultos ainda permanece desconhecida, mas sabe-se que deve conter sódio, potássio, cálcio, fosfato, magnésio e propionato para facilitar a absorção ruminal de sódio e prover uma fonte energética adicional (CONSTABLE, 2003). O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia e os efeitos da hidratação enteral com soluções eletrólíticas isotônicas administradas por sonda nasogástrica de pequeno calibre por fluxo contínuo, no volume de 15mL kg/12h em bovinos desidratados com diferentes tipos de enfermidades atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa (HOV-DVT-UFV) na correção ou na prevenção dos desequilíbrios hidroeletrólíticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram atendidos no HOV-DVT-UFV 72 bovinos (61 fêmeas e 11 machos), com idade entre 2 dias e 12 anos. Esses animais apresentavam diferentes graus de desidratação decorrentes de vários tipos de enfermidades. Em nenhum desses pacientes foi constatado sinal clínico ou laboratorial que contra-indicasse o uso da hidratação enteral. Utilizou-se sonda nasogástrica de pequeno calibre (4mm de diâmetro) e 1,5 a 2 metros de comprimento. Dois tipos de soluções eletrolíticas isotônicas foram utilizados: **solução 1** (8g de NaCl, 0,5g de KCl, 0,5g de CaCl₂ e 15mL de propilenoglicol em 1 litro de água); **solução 2** (5g de NaCl, 1g de KCl, 4g de NaHCO₃ e 5g de dextrose em 1 litro de água). A solução 1 foi utilizada em animais jovens e adultos, enquanto a 2 foi administrada em neonatos. A velocidade de infusão foi de 10 a 20mL/Kg/h, em períodos de 12h/dia por fluxo contínuo até o restabelecimento da hidratação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais atendidos na rotina do HOV – DVT – UFV apresentavam diferentes graus de desidratação decorrentes de enfermidades presentes nos sistemas digestório, reprodutivo, respiratório, locomotor, além de afecções metabólicas e da glândula mamária.

A colocação da sonda nasogástrica foi fácil, nenhum animal apresentou intolerância à sonda. Todos os pacientes que apresentavam apetite alimentaram-se, deitaram-se e ruminaram durante a HET, sinalizando que o estresse causado pela sonda foi mínimo ou desprezível em concordância com os resultados de RIBEIRO FILHO et al. (2004), ATOJI & RIBEIRO FILHO (2007) e RIBEIRO FILHO et al. (2007).

A utilização de sonda nasogástrica de pequeno calibre em bovinos é pouco descrita na literatura. Um efeito indesejável nos animais com este tipo de sonda é a possibilidade do seu retorno oral, fato este observado em dois animais do presente estudo. Outro efeito é a diminuição do fluxo da solução nos animais em decúbito esternal, esse achado é decorrente do posicionamento do rúmen e/ou aumento da pressão intrarruminal. A hidratação por via enteral (HET) foi bem aceita pelos animais, exceto um, que, por apresentar distensão abdominal excessiva, houve a necessidade de substituí-la pela hidratação intravenosa. Foi constatada redução gradual do grau de desidratação, dos valores do hematócrito e das proteínas plasmáticas totais e da densidade urinária durante a administração da HET como foi

citado por RIBEIRO FILHO et al. (2004), ATOJI & RIBEIRO FILHO (2007) e RIBEIRO FILHO et al. (2007). O volume total de soro administrado aos animais variou de 14,4 a 220 litros e o tempo médio de hidratação foi de dois dias.

CONCLUSÃO

A HET com os dois tipos de soluções foi eficaz na prevenção e correção dos desequilíbrios hidroeletrólíticos como complemento do tratamento da enfermidade principal ou como terapia primária. O uso da sonda é uma excelente alternativa para administração de soluções por tempo prolongado, pois permite que a sonda permaneça no animal causando o mínimo de estresse e sem alterar a ingestão de alimento. Além disso, mostrou-se ser prática, eficaz e econômica.

REFERÊNCIAS

ATOJI, K.; RIBEIRO FILHO, J. D. Fluidoterapia por via nasogástrica em caprinos. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 12, supl., p. 49, 2007.

AVANZA, M. F. B.; LOPES, M. A. F.; SOUZA, M. V.; SILVA, A. G. A.; FERREIRA, J. C.; ARISTIZABAL MENA F. A.; AYUPE, T. H.; CARVALHO, T. A.; RIBEIRO FILHO, J. D. Fluidoterapia enteral em vacas normais e experimentalmente desidratadas. In: XXXI CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 31, 2004, São Luís. **Anais...** São Luís – MA, 2004.

AVANZA, M. F. B.; RIBEIRO FILHO, J. D.; LOPES, M. A. F.; IGNÁCIO, F. S.; CARVALHO, T. A. GUIMARÃES, J. D. Hidratação enteral em equinos - solução eletrolítica associada ou não à glicose, à maltodextrina e ao sulfato de magnésio: resultados de laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, p. 1126-1133, 2009.

CONSTABLE, P. D. Fluid and electrolyte therapy in ruminants. **Veterinary Clinical North American: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 19, p. 557-597, 2003.

RIBEIRO FILHO, J. D. et al. Tratamento de bovinos desidratados com fluidoterapia via sonda nasogástrica de pequeno calibre. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA

VETERINÁRIA - CONBRAVET, 2004, São Luís. **Anais...** São Luís: Universitária, 2004. p.33.

RIBEIRO FILHO, J. D.; FONSECA, E. F.; MARTINS, T. M.; MENESES, R. M. Tratamento de bovinos desidratados experimentalmente com soluções eletrolíticas por via enteral administradas por sonda nasogástrica. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.12, supl., p. 49, 2007.

ONFALOPATIAS EM BEZERROS DE REBANHOS LEITEIROS NO NORDESTE DO ESTADO DO PARÁ

Alessandra dos Santos Belo Reis¹, Cleyton Prado Pinheiro², Cinthia Távora de Albuquerque Lopes¹, Valéria Duarte Cerqueira³, Carlos Magno Chaves Oliveira³, Marcos Dutra Duarte⁴, José Diomedes Barbosa⁵

1. Acadêmico da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará

2. Aluno de mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará

3. Médico(a) Veterinário(a), MSc, professor(a) da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará

4. Médico Veterinário, MSc, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará

5. Médico Veterinário, doutor, professor da Faculdade de Medicina Veterinária, Central de Diagnóstico Veterinário, Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva 1000, Castanhal, PA, 68740-080, Brasil. E-mail: diomedes@ufpa.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, doenças do umbigo, doenças neonatais

ABSTRACT

NAVEL ILL OF DAIRY CALVES FROM NORTHEASTERN PARÁ

This study investigates the occurrence of navel ill in six dairy farms located in the municipalities of Castanhal and Aurora do Pará, Pará. Navel structures were examined by inspection and palpation of 225 calves aged from one day to three months. Those presenting changes in the navel were submitted to clinical analysis, which included observation of behaviour, body temperature, as well as cardiac and respiratory frequencies. Results revealed that 42,22% of animals had umbilical abnormalities, such as omphalitis (41,05%), omphalophlebitis (23,16%), umbilical hernia (14,74%), navel myiasis (10,53%), arterial and urachal inflammation (7,36%), and panvasculitis (3,16%). Epidemiological data indicated poor preventive measures that only consisted of cutting the navel, disinfecting the umbilical stump, and adequate intake of colostrum. Furthermore, reports showed that calves were kept in crowded and dirty enclosures most of the time. A diagnosis of neutrophilic leukocytosis was evidenced by hemograms performed in 72 animals with navel ill. Therefore, findings from our study proved navel infections to be of wide occurrence in the region investigated.

KEYWORDS: Bovine, navel ill, neonatal diseases

INTRODUÇÃO

Atualmente no Brasil, dos 184 milhões de bovinos, 44 milhões são bezerros, sendo que 9.432.951 de cabeças estão no Estado do Pará (ANUALPEC, 2005). Os bezerros ocupam posição especial na cadeia de produção, devendo-se ressaltar que o manejo neonatal a que forem submetidos terá reflexos sobre sua vida produtiva, influenciando significativamente no seu futuro desempenho como produtores de carne ou leite.

As onfalopatias representam um dos principais problemas de bezerros nos rebanhos brasileiros, tendo como causas principais, fatores ambientais, higiênicos, traumáticos, bacterianos e congênitos, que isolados ou em associação provocam processos inflamatórios e/ou infecciosos nas estruturas do umbigo (LEANDER et al., 1984; DONOVAN et al., 1998; RADOSTITS et al., 2002). Essas infecções podem resultar em septicemia, que ocorre devido bactérias que ascendem a partir dos vasos umbilicais ou do útero causando septicemia aguda ou crônica com patologia articular, meningites, uveítes, abscessos hepáticos e endocardites (REBHUN, 2000; RIET-CORREA, 2007).

A infecção do umbigo e das estruturas associadas ocorre comumente em animais pecuários recém-nascidos e parece ser particularmente comum em bezerros, estando diretamente associada com o nível de contaminação do ambiente em que o bezerro nasce e vive durante os primeiros dias, a falha na transferência de imunidade passiva (SMITH, 1993; DONOVAN et al., 1998; DIAS, 2002) e o tratamento tardio do umbigo (MIESSA et al., 2002).

Segundo REBHUN (2000) as hérnias também constituem um dos problemas umbilicais, sendo comuns em animais pecuários. Hérnias pequenas tendem a fechar espontaneamente, porém as maiores requerem intervenção cirúrgica.

RADOSTITS et al. (2002) afirmam que a inflamação do umbigo é uma das mais importantes doenças dos bezerros, dentro das causas de mortalidade dos animais jovens, que chegam a 10% em animais de até oito meses.

Os problemas umbilicais causam grandes perdas econômicas, visto que diminuem o ganho de peso, geram custos com medicamentos e assistência veterinária, retardam o crescimento e promovem depreciação da carcaça dos bezerros, podendo levá-los à morte. No estado do Pará são escassas as informações sobre os fatores epidemiológicos, manifestações clínicas, alterações hematológicas e os prejuízos causados por essa enfermidade.

O objetivo deste trabalho é determinar a ocorrência, as alterações clínicas e hematológicas e os fatores predisponentes das onfalopatias, em bezerros criados em fazendas leiteiras nos municípios de Castanhal e Aurora do Pará, no Nordeste do estado do Pará.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado o exame das estruturas do umbigo através da inspeção e da palpação de acordo com DIRKSEN et al. (2005), em 225 bezerros com idade variando de um dia a três meses, pertencentes a seis propriedades de exploração leiteira, nos municípios de Castanhal e Aurora do Pará, no Nordeste do estado do Pará. Nos animais que apresentaram alteração, realizou-se o exame clínico geral avaliando-se o comportamento, a temperatura, as frequências cardíaca e respiratória. Coletou-se sangue de 72 animais, por punção da veia jugular, em tubos de vacutainer de 5 ml com 100 µl de anticoagulante EDTA. Os resultados hematológicos foram obtidos no laboratório de patologia clínica da Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará, através do contador automático de células (CELL-CC-550). A contagem diferencial de células do leucograma foi obtida através de esfregaços sanguíneos, corados com panóptico® e visualizados em microscópio óptico. Adicionalmente foi realizado um levantamento epidemiológico de acordo com um questionário. Nos animais que morreram foi realizada a necropsia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No exame clínico geral, foi verificado apatia, anorexia, estado nutricional ruim, pêlos longos, sem brilho, aumento de volume nas articulações com sensibilidade aumentada a palpação, dificuldade de locomoção e diarreia. A maioria apresentou aumento da temperatura e das frequências cardíaca e respiratória. Na palpação do umbigo evidenciaram-se alterações nas estruturas externas e internas caracterizadas por aumento de volume de suas espessuras com sensibilidade aumentada. Em alguns animais havia a presença de miíase, e em outros, secreção purulenta. Achados estes, que de acordo com SMITH (1993), REBHUN (2000), DIRKSEN et al. (2005) e RIET-CORREA et al. (2007), são comuns nas infecções umbilicais.

A ocorrência de onfalopatias nas seis diferentes propriedades foi de 42,22% (95/225). Dos 95 animais com problemas umbilicais, 41,05% (39/95) apresentavam onfalite, 23,16% (22/95) onfaloflebite, 10,53% (10/95) miíase umbilical, 7,36% (7/95) inflamação das artérias e/ou úraco,

14,74% (14/95) hérnia umbilical e 3,16% (3/95) apresentavam pan-vasculite. Semelhantes taxas de ocorrência foram verificadas em estudos realizados por MIESSA et al. (2002), que observaram 36,4% de onfalites em rebanho mestiço no estado do Rio de Janeiro e por PAULA et al. (2008) que verificaram a ocorrência de 28% de onfalopatias em uma bacia leiteira na região de Lavras em Minas Gerais.

Na maioria das propriedades estudadas, era escassa a realização de medidas preventivas como corte do umbigo, uso de soluções desinfetantes no coto umbilical e ingestão adequada de colostro. Foi observado também que os bezerros permaneciam aglomerados em currais muito sujos durante a maior parte do dia. Fatores estes que segundo DONOVAN et al. (1998), MIESSA et al. (2002), RADOSTITS et al. (2002) e DIAS (2002) são determinantes para o estabelecimento das infecções umbilicais.

DIRKSEN et al. (2005) citam que a maioria dos animais que têm onfalopatias, apresentam uma leucocitose por neutrofilia. Neste estudo, dos 72 animais com onfalopatias que foram realizados hemograma, 42 apresentavam este aumento.

Em todas as propriedades era adotado o uso de antiparasitário injetável (a base de ivermectina a 1%), na dose de 10 mg por animal, subcutâneo, para a prevenção das miíases. Em estudos realizados no Mato Grosso do Sul por BIACHIN et al. (1991), revelaram que a administração de 10 mg de ivermectina a 1% no animal recém-nascido, reduziu em 61% a frequência das miíases.

CONCLUSÃO

O exame específico das estruturas do umbigo através da inspeção e da palpação mostrou-se eficaz para a realização dos diagnósticos.

As condições de ambiente associada à escassez de medidas profiláticas foram determinantes para o alto índice de onfalopatias nestes rebanhos.

REFERÊNCIAS

ANUALPEC. **Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: Angra FNP Pesquisas, 2005, p. 53-78.

BIANCHIN, I.; CORRÊA, E. S.; GOMES, A.; HONER, M. R.; CURVO, J. B. E. Uso de ivermectina na prevenção das miíases umbilicais em bezerros de corte criados extensivamente. **Comunicado técnico**. Campo Grande: Centro Nacional de Pesquisas em Gado de Corte - EMBRAPA, 1991, p. 1-6.

DIAS, R. O. S. **A saúde do rebanho começa com o controle das onfalopatias**. Disponível em: [http:// www.milkpoint.com.br](http://www.milkpoint.com.br), Acesso em: 12 jul. 2002.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D. ;STÖBER, M. **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4.ed., Buenos Aires: Editora Inter-médica, 2005, p. 618-629.

DONOVAN, G. A.; DOHOO, R. I.; MONTGOMERY, D. M.; BENNETT, F. L. Cattle morbidity and mortality: passive immunity. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 34, n. 1, p. 31-46, 1998.

GARCIA, M. **Manual de semiologia e clínica dos ruminantes**. São Paulo: Varela, 1996, p. 113-202.

LEANDER, L. C.; VIANA, F. C.; PASSOS, L. M. I.; GALVÃO, C. L. Alguns aspectos do manejo sanitário e principais doenças em bovinos. **Tecnologia Agropecuária**, Belo Horizonte, v. 6, n. 4, p. 1-51, 1984.

MESSA, L. C.; AMARAL, A.; BOTTEON, R. C. C. M.; BOTTEON, P. T. L. Morbidade e mortalidade de bezerros leiteiros devido a processos inflamatórios do cordão umbilical. **Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 23, n. 134, p. 16-18, 2002.

PAULA, L. N. B. et al. Diagnóstico e controle das doenças de bezerros em sistemas de produção de bovinos de leite da região de Lavras/MG. In: CONGRESSO DE EXTENSÃO DA UFLA (CONEX), 3. 2008. **Anais....**Lavras: UFLA, 2008.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica veterinária**, 9.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 56-59.

REBHUN, W. C. **Doenças do gado leiteiro**. São Paulo: Editora Roca, 2000, p. 450 a 452.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3.ed., Santa Maria: Pallotti, 2007, p. 405-406.

SMITH, D. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1993, p. 377-378.

CETOSE NERVOSA EM BOVINOS, DIAGNOSTICADA PELA CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO (CEDIVET) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, NO PERÍODO DE 2000 A 2009

José Diomedes Barbosa¹, Natália da Silva e Silva², Cleyton Prado Pinheiro³, José Alcides Sarmento da Silveira⁴, Cairo Henrique Sousa Oliveira⁵, Carlos Magno Chaves Oliveira⁶,
Marcos Dutra Duarte⁴

1. Médico Veterinário, doutor, professor, Faculdade de Medicina Veterinária Universidade Federal do Pará
2. Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação Saúde Animal na Amazônia, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Pará (UFPA)
3. Aluno de mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará
4. Médico Veterinário, MSc, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará.
5. Acadêmico da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará
6. Médico Veterinário, MSc, professor da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Central de Diagnóstico Veterinário, Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva 1000, Castanhal, PA, 68740-080, Brasil. E-mail: diomedes@ufpa.br (autor correspondente)

PALAVRAS - CHAVE: Doenças metabólicas, doenças da produção, gestação.

ABSTRACT

NERVOUS FORM OF BOVINE KETOSIS DETECTED AT THE VETERINARY DIAGNOSTICS CENTRE (CEDIVET) OF THE FEDERAL UNIVERSITY OF PARÁ FROM 2000 TO 2009

From 2000 to 2009, eight cases of the nervous type of ketosis were diagnosed at CEDIVET. The animals (6 crossbreed and 2 zebu) were raised in farms located in the municipalities of Castanhal and San Francisco do Pará, Pará, and were extensively reared on *Brachiaria brizantha* pasture. Out of eight, 6 cows ranged from their first and third lactation, and 2 had already had more than five. A total of 7 were two or four weeks postpartum whilst one had calved four months earlier. Milk production ranged from 4 to 15 liters per day. A total of 2 cases of the disease occurred at the beginning of the rainy season and 6 at the end. The main clinical signs were hyperexcitability, ears in alert position, muscle tremors, and hindquarter paresis. One cow extended its head upwards while moving and frequently urinated. Another had a tendency to walk in circles, presenting muscle tremors and compulsive licking on one side of the body. Both zebu cows rotated the head and pressed it against obstacles. Ketonic bodies were detected in the urine by the Rothera test. All animals recovered after treatment with intraperitoneal and intravenous injections of 20% glucose.

KEYWORDS: Metabolic diseases, pregnancy, production diseases.

INTRODUÇÃO

O estado do Pará possui hoje o quinto maior rebanho bovino do Brasil, composto em sua grande maioria por raças produtoras de carne, principalmente a Nelore. Porém, nos últimos anos vem se estabelecendo em diferentes regiões do estado, bacias leiteiras onde predominam animais mestiços, Girolando e alguns animais de raça pura, como a Pardo-Suíça.

A bovinocultura leiteira no estado do Pará caracteriza-se pela produção de leite a pasto. Porém, algumas enfermidades que geralmente estão associadas à criação intensiva, como tuberculose, mastite, acidose ruminal e cetose, estão sendo diagnosticadas.

A cetose é um transtorno comum nos rebanhos leiteiros, definida como uma desordem do metabolismo de carboidratos e gorduras, caracterizada pelo incremento de corpos cetônicos (acetona, acetoacetato, beta-hidroxibutirato) no sangue (GEISHAUSER et al., 1998). Sua principal causa é um balanço energético negativo (ENJALBERT et al., 2001). Este se observa a partir de uma diminuição dos níveis de glicose, causando um aumento anormal dos corpos cetônicos na corrente sanguínea devido à mobilização de gordura como fonte de energia, acompanhado de uma depleção no ciclo de Krebs, onde se acumulam o ácido acetoacético, acetona e ácido beta-hidroxibutírico nos tecidos e líquidos do corpo (GONZÁLEZ & CAMPOS, 2003).

Esta enfermidade acomete principalmente vacas em lactação e de alta produção (NANTES & SANTOS, 2008). O período de maior risco de ocorrência dessa enfermidade pode variar das duas primeiras até a nona semanas pós-parto, dependendo de fatores individuais (genética, adaptação metabólica), produção durante a primeira fase da lactação, manejo alimentar, consumo de matéria seca, condição corporal ao parto e momento do pico de lactação (DUFFIELD, 2000).

Pode ser classificada como clínica ou subclínica e como primária ou secundária, segundo a origem, sinais clínicos, prevalência e curso da doença (GEISHAUSER et al., 1998). Na maioria dos casos é uma doença do tipo subclínica, podendo chegar até 34% dos casos, enquanto que os casos clínicos chegam apenas a 7% (GONZÁLEZ & SILVA, 2003). Acredita-se que as perdas econômicas ocasionadas pela cetose subclínica excedam às perdas ocasionadas pela cetose clínica (DUFFIELD, 2000).

Segundo DIRKSEN et al. (2005), de acordo com os sintomas predominantes da cetose, pode-se distingui-la em digestiva e nervosa. Em bovinos, a forma nervosa, ocorre em

casos isolados e deve-se provavelmente a uma concentração especialmente alta de acetoacetato e acetona no sangue.

O objetivo deste trabalho é relatar a ocorrência de oito casos de cetose nervosa em bovinos, diagnosticados pela CEDIVET da Universidade Federal do Pará (UFPA), no período de 2000 a 2009.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados epidemiológicos e sinais clínicos da enfermidade foram obtidos em visitas a oito propriedades localizadas nos municípios de Castanhal e São Francisco do Pará, estado do Pará. Foram realizados exame clínico geral e específico do sistema nervoso e pesquisa de corpos cetônicos na urina utilizando o Teste de Rothera segundo DIRKSEN et al. (1993).

RESULTADOS

Epidemiologia

Das oito vacas examinadas, seis eram mestiças, pertencentes à fazendas de exploração leiteira e duas da raça nelore. Duas vacas tinham idade acima de sete anos com mais de cinco lactações e seis tinham idade variando de três a cinco anos, encontrando-se entre a primeira e a terceira lactação. Sete animais estavam entre a segunda e a quarta semanas pós-parto e um havia parido há quatro meses. Nas vacas mestiças, a produção de leite variava de 4 a 15 litros por dia. Todas eram mantidas em sistema de criação extensivo em pastagem de *Brachiaria brizantha*. Dois casos ocorreram no início do período chuvoso (janeiro/fevereiro) e seis no final deste período (junho/julho).

Sinais clínicos

A maioria das vacas apresentava queda na produção de leite, rúmen moderadamente vazio e com movimentos incompletos, hiperexcitabilidade, orelhas em posição de alerta, tremores musculares e paresia dos membros posteriores. Uma vaca apresentava marcha com a cabeça voltada para cima, micção freqüente, tenesmo e tônus da cauda diminuído; este animal apresentou recidiva no ano seguinte, entre a terceira e quarta semanas pós-parto. As duas vacas nelores apresentavam rotação da cabeça e pressão da cabeça contra obstáculos. Um animal apresentava andar em círculo, tremores musculares e lambedura vigorosa da pele na região do costado.

Foi observado, em sete animais, presença de corpos cetônicos na urina por meio do teste de Rothera, com reação fortemente positiva (coloração violácea). Em um animal esse teste não foi realizado, pois não se conseguiu coletar urina. Associando-se os dados epidemiológicos, sinais clínicos e reação positiva ao teste de Rothera, diagnosticou-se cetose nervosa.

Todos os animais se recuperaram após o tratamento com glicose em solução a 20%, na dose de 1g/kg de peso corporal, sendo que cinco animais receberam por via intra-peritoneal e três por via endovenosa.

DISCUSSÃO

Segundo CONTI et al. (2002), o período entre o final da gestação e o início da lactação em vacas leiteiras de maior produção, representa maior risco de doenças metabólicas, quando comparadas com outras fases do ciclo de lactação, justificando o maior aparecimento de cetose 8 a 60 dias pós-parto, período no qual o animal exibe balanço energético negativo. Isto foi observado neste trabalho, visto que a maioria das vacas acometidas era mestiça, ou seja, de maior produção quando comparadas às vacas da raça Nelore e encontravam-se no início da lactação.

Segundo RADOSTITS et al. (2002), a doença é mais frequente em animais estabulados e rara em animais mantidos a pasto, observações estas diferentes dos resultados obtidos, onde todas as vacas eram mantidas em sistema de criação extensiva. SCHILD (2007), também relata a ocorrência de cetose em vacas e novilhas de corte, apesar desta alteração ter ocorrido no terço final da gestação, o que difere do período de ocorrência descrito no presente trabalho. Este autor relata que isto ocorre devido à súbita restrição alimentar a que são submetidos os animais, pela escassez de forragem que, normalmente, ocorre na região durante o inverno e/ou pelo manejo inadequado quando são colocados em áreas com baixa disponibilidade de forragem. No presente estudo, a maioria dos casos ocorreu no final do período chuvoso, provavelmente devido a um manejo inadequado dos animais, uma vez que nesse período há uma boa disponibilidade de forragem na região.

Os sinais clínicos apresentados pelos animais no presente estudo foram predominantemente da forma nervosa, caracterizados principalmente por hiperexcitabilidade, orelhas em posição de alerta, tremores musculares, paresia dos membros posteriores e pressão da cabeça contra obstáculos. Esses resultados estão de acordo com os descritos por GARCIA et al. (1999), DIRKSEN et al. (2005) e SCHILD (2007).

Um animal apresentava andar em círculo e lambedura vigorosa da pele na região do costado, o que segundo DIRKSEN et al. (2005), isso pode ocorrer em casos avançados da enfermidade, em que o animal apresenta períodos de excitação recidivante, caracterizados principalmente por movimentos anormais da língua, marcha incoordenada, andar em círculos e roedura ou lambedura da própria pele ou objetos.

BARBOSA & PFEIFER BARBOSA (1999) indicam a administração intraperitoneal ou endovenosa de soluções de glicose, 1 g/Kg PV a 20%, para o tratamento dos animais com cetose. Neste estudo, com a realização deste mesmo tratamento, houve a recuperação dos animais.

CONCLUSÃO

O aparecimento da cetose nervosa, deveu-se provavelmente à demora na solicitação de atendimento veterinário aos animais enfermos, uma vez que quanto mais tardio for o diagnóstico, maiores serão as concentrações de corpos cetônicos na corrente sanguínea e mais exacerbados serão os sinais clínicos, caso não seja realizado o tratamento adequado.

O tratamento realizado com glicose a 20% tanto por via intra-peritoneal como por via endovenosa foi suficiente para a recuperação dos animais.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, J. D.; PFEIFER BARBOSA, I. B. Cetose bovina. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 2, n. 1, p. 55-64, 1999.
- CONTI, R. M. C.; SCHALCH, E.; SALLES, M. S. V. Efeito da monensina na produção e composição do leite e parâmetros reprodutivos em vacas holandesas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais...**, CD-ROM Nutrição de Ruminantes, Recife, 2002.
- DIRKSEN, G. GRÜNDER, H. D. ; STÖBER, M. **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4.ed., Buenos Aires: Editora Inter-médica, p. 590-603, 2005.
- DIRKSEN, G. GRÜNDER, H. D. & STÖBER, M. **Rosenberger: Exame clínico dos Bovinos**. 3.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419 p.

DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, n. 16, p. 231-254, 2000.

ENJALBERT, F.; NICOT, M. C.; BAYOURTHE, C.; MONCOULON R. Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. **J.Dairy Sci.** v. 84, p.583-589, 2001.

GARCIA, M.; LIBERA, A. M. M. P. D.; BARROS, I. R. F. **Acetonemia. Manual de semiologia e clínica dos ruminantes**, São Paulo: Varela, p. 153-154, 1996.

GEISHAUSER, T.; LESLIE, K. E.; KELTON, D. F.; DUFFIELD, T. Evaluation of eighth cowside test for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, n. 81, p. 438-443, 1998.

GONZÁLEZ, F. H. D. & CAMPOS, R. Indicadores metabólico-nutricionais do leite. In: GONZÁLEZ, F. H. D. & CAMPOS, R. (eds.): In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL. 1. 2003. Porto Alegre: **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.31-47, 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução a bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, p. 200, 2003.

NANTES, J. H.; SANTOS, T. A. B. Cetose - Revisão de literatura. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, Garça, n. 10, 2008.

RADOSTITS, O. M. CLIVE, C. G. BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9.ed., Rio de Janeiro Guanabara: Koogan, p. 1307-1309, 2002.

SCHILD, A. L. Cetose. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A. & BORGES, J. R. J. (ed.), **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007, cap. 4, v. 2, p. 281-286.

UROLITÍASE OBSTRUTIVA EM BOVINOS NO SEMI-ÁRIDO PARAIBANO

Adriana Cunha de Oliveira Assis¹, Tatiane Rodrigues da Silva¹, Gildeni Maria Nascimento de Aguiar¹, Diego Barreto de Melo², Fabíola Carla de Almeida², Josemar Marinho Medeiros³, Pedro Izidro da Nóbrega Neto⁴

1. Alunas do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB 58700-000, Brasil.
E-mail:drica.cvet@yahoo.com.br (autor correspondente).
2. Aluno do Programa de Aperfeiçoamento em Medicina Veterinária do Hospital Veterinário, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).
3. Médico Veterinário, MSc, Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande ,
4. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000 Patos, PB.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças, ruminantes, sistema urinário.

ABSTRACT

OBSTRUCTIVE UROLITHIASIS IN CATTLE IN PARAÍBA'S SEMIARID REGION

This study reports three cases of bovine obstructive urolithiasis in Paraíba's semiarid region. The animals showed depression, dehydration, strangury, abdominal discomfort, and bruxism. One of them had severe ascites and eventually died; the others were able to recover after urethrostomy. Urolithiasis frequently occurs in cattle that are not castrated and eat a high-roughage diet. There is a need to carry out more studies that investigate the composition of urinary calculi and its probable causes in order to develop prophylactic measures to control urolithogenic processes.

KEYWORDS: Diseases, ruminants, urinary system.

INTRODUÇÃO

Define-se urolitíase como a formação de cálculos em consequência da precipitação de minerais ou substâncias orgânicas no trato urinário. Quando há obstrução da passagem de urina a alteração denomina-se urolitíase obstrutiva, ocorrendo acúmulo de urina na bexiga e

acarretando processo inflamatório, hidronefrose e uremia pós-renal. A nutrição e o manejo são os principais fatores predisponentes para o aparecimento da urolitíase (RIET-CORREA, 2001).

A doença é comum entre os ruminantes criados em sistema de manejo em que a ração é composta principalmente de grãos, ou quando os animais consomem pastos que contêm grande quantidade de sílica ou oxalatos. Um fator também importante na formação de cálculos em ruminantes é a diminuição do consumo de água (REBHUN, 1995; RADOSTITS, 2002; TIRUNEH, 2004).

Esta doença possui grande importância em ruminantes machos castrados ainda jovens e que são mantidos em confinamento com pouca oferta de água, associada a dietas ricas em concentrados que levam a um aporte excessivo de fósforo com desequilíbrio na relação Ca e P da dieta. Dietas com uma relação Ca:P menor que 1,5: 1 a 2:1 facilmente causam urolitíase (RIET-CORREA, 2007).

Nas fêmeas não ocorre urolitíase obstrutiva por que a uretra é curta e calibrosa, e o rápido fluxo de urina por ocasião da micção garante a eliminação da maioria dos cálculos (SMITH, 2006). Os animais mais jovens são mais acometidos, devido ao menor diâmetro da uretra e a maior utilização de alimentos concentrados na fase de crescimento (CORBERA et al., 2003).

Este trabalho tem como objetivo descrever a ocorrência de urolitíase obstrutiva em bovinos atendidos no Hospital Veterinário da UFCG (HV)

MATERIAL E MÉTODOS

No período de Janeiro de 2008 a Julho de 2009 foram atendidos no HV três bovinos machos, não castrados com a queixa de dificuldades na eliminação de urina. Os animais foram identificados e encaminhados ao Ambulatório de Grandes Animais do HV, sendo um animal da raça Nelore com três anos de idade e dois sem raça definida com idade entre 1 e 2 anos, todos não castrados. Após a identificação dos animais realizou-se a anamnese, o exame físico geral e o exame específico do sistema geniturinário, por suspeitar-se de alterações neste sistema. O diagnóstico presuntivo foi de urolitíase. A seguir foram feitas as indicações terapêuticas. Um dos animais veio a óbito e durante realização da necropsia foram coletados fragmentos de todos os órgãos que foram fixados e processados por métodos convencionais para exames histológicos e corados pela hematoxilina-eosina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na anamnese foi obtida a informação que a alimentação dos animais era composta basicamente de capim nativo e apenas um deles recebia pequena quantidade de grãos. Após avaliação dos animais acometidos observou-se que todos apresentavam alguns sinais clínicos semelhantes, dentre eles, anorexia, depressão, desidratação, estrangúria, desconforto abdominal e bruxismo. As frequências cardíaca e respiratória encontravam-se elevadas.

O bovino Nelore era criado em regime intensivo e era utilizado como animal de tração. O proprietário já havia realizado diversos tratamentos no animal pois estava doente há aproximadamente 15 dias. No exame físico foi observado que o mesmo conseguia urinar, porém a eliminação era feita de forma lenta e prolongada e o episódio de micção demorava em torno de 10 minutos. Foi observado aumento de volume na região do pênis, prepúcio e testículos que se apresentavam firmes a palpação. Estabeleceu-se um protocolo terapêutico com antibiótico (enrofloxacina, 5mg/kg a cada 24 h), antiinflamatório (dexametasona, 0,1 mg/kg a cada 24 h) e acepromazina (0,05 mg/kg a cada 8 horas) suspeitando-se de obstrução parcial de uretra. Houve redução do aumento de volume da região do pênis, prepúcio e testículos. Sete dias após o início do tratamento o animal estava apático, com anorexia, severa desidratação e marcada distensão abdominal, sendo encaminhado ao setor de cirurgia para realização de laparotomia exploratória. Durante este procedimento observou-se a cavidade abdominal com aproximadamente 50 litros de líquido translúcido e inodor, caracterizando ascite. Na exploração da cavidade pélvica a bexiga foi palpada e encontrava-se repleta de urina. O animal veio a óbito por choque hipovolêmico no meio do procedimento cirúrgico. Os achados de necropsia foram bexiga com urina turva, com desprendimento da serosa, espessamento da parede e mucosa hemorrágica. Cálculos foram visualizados no rim direito, S peniano e na saída da bexiga para a uretra. O fígado estava aumentado de tamanho, com acentuação do padrão celular e vesicular biliar distendida com mucosa avermelhada. A mucosa do abomaso e intestino também se encontrava congesta e os pulmões estavam congestos e edematosos. Os achados histológicos revelaram tumefação das células epiteliais dos túbulos renais.

A causa da instalação rápida desse grave quadro de ascite não foi elucidada. Porém suspeita-se que o animal devido à dificuldade de eliminação da urina, extravasamento desta para o tecido subcutâneo e provavelmente através da parede da bexiga que estava cronicamente distendida possa ter levado o animal a um quadro de uremia que culminou com

astenia miocárdica e estabelecimento de insuficiência cardíaca congestiva. A hepatomegalia e o edema pulmonar visualizados na necropsia respaldam a suspeita clínica.

Os outros dois animais além dos sinais de estrangúria apresentavam testículos edemaciados e/ou frios, sendo evidente em um dos animais presença de áreas de necrose no escroto. Os dois animais foram encaminhados ao centro cirúrgico para realização de uretrostomia perineal, pois os sinais eram indicativos de ruptura uretral. O animal que apresentava necrose testicular foi também submetido à orquiectomia bilateral. Ambos se recuperaram após a realização da uretrostomia não sendo possível a visualização de cálculos, porém considerando que a ruptura de uretra na maioria dos casos são decorrentes de urólitos e dependendo da localização deste não é possível sua visualização o diagnóstico foi também de urolitíase obstrutiva.

Embora a uretrostomia perineal seja uma técnica que acarreta perda da função reprodutora do macho é o principal tratamento indicado para bovinos. Como geralmente trata-se de novilhos (garrotes) em engorda é recomendado o abate, imediatamente após os primeiros sinais ou após a uretrostomia e recuperação do animal (RIET-CORREA et al., 2007).

As obstruções uretrais por urólitos são freqüentemente diagnosticadas em pequenos ruminantes no Hospital Veterinário da UFCG, todos os casos estiveram associados à excessiva ingestão de grãos e mineralização incorreta com sal contendo fósforo e outros minerais como o magnésio. Nos casos dos bovinos não era fornecida alimentação com quantidades excessiva de grãos ou seus subprodutos, inclusive um dos animais era criado apenas a pasto, e o outro recebia pequena suplementação com torta de algodão e farelo de milho. O animal mais velho era alimentado com capim e palha de milho.

CONCLUSÃO

A ocorrência de urolitíase em bovinos não castrados vem ocorrendo com relativa freqüência no semiárido e são necessários estudos para identificar a constituição dos urólitos e elucidação das prováveis causas da enfermidade para que possam ser tomadas medidas de controle e profilaxia.

REFERÊNCIAS

CORDEBA, J. A.; DORESTE, F.; MORALES, M.; GUTIÉRREZ, C. La urolithiasis por fosfato em el ganado caprino. In: CONGRESSO DE LA SEMIV, 2003, Zaragoza. **Anais**

eletrônicos... Zaragoza Disponível em:

<<http://www.semiv.ulpgc.es/ficheros/ponenciaszaragoza2003.pdf>> Acessado em: 29 de outubro de 2006.

RADOSTITS, O. T.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HICHCLIFF, K. W. C Doenças do sistema urinário. In: _____. **Clinica veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 441-445.

REBHUN, W. C.; GUARD, C.; RICHARDS, C. M. **Diseases of dairy cattle**. Baltimore: Lea & Febiger, 1995. 530 p.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; M.C.; LEMOS, A., BORGES, J. R.J . **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. São Paulo: Varela, 2007, p. 677 - 683.

RIET-CORREA, F; SCHILD, A.L; MNDEZ, M.D.C; LEMOS, R.A.A. [et al]. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. v. 2, São Paulo: Varela, 2001, p 561-565.

SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728 p.

TIRUNEH, R. Minerals and oxalate contend of feed and water in relation with ruminant urolithiasis in Adea district, central Ethiopia. **Revue de Medecine Veterinaire**, Toulouse, v. 156, n. 5, p. 272-277, 2004.

CARACTERIZAÇÃO DAS AFECÇÕES PODAIS EM REBANHO DE GADO HOLANDÊS CONFINADO

Pedro Ivo de Albuquerque¹, Fábio Henrique Bezerra Ximenes², Augusto Coelho Ricardo Moscardini³, Liana Villela de Gouvêa³, Ana Lourdes Arrais de Alencar Mota⁴, Roberta Ferro de Godoy⁵, José Renato Junqueira Borges⁵

1. Médico Veterinário autônomo
2. Mestrando em Saúde Animal, FAV-UnB. Hospital Veterinário de Grandes Animais da Granja do Torto, Brasília – DF, Brasil. CEP: 70636-200.
E-mail: fabioximenes@unb.br (autor correspondente)
3. Médico Veterinário, Msc
4. Médica Veterinária. FAV-UnB
5. Professor, FAV-UnB

PALAVRAS-CHAVE: Casqueamento, confinamento, doenças digitais.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF PODAL AFFECTION IN CONFINED HOLSTEIN COWS

Due to high prevalence and incidence of lameness disorders in dairy cattle, many research studies have been carried out in this area, and some authors concluded that they constitute the third most important cause of discard in herds. Bovine hoof affections lead to a 5-20% decrease in milk production and losses caused by secondary diseases may also occur. This study characterizes podal diseases in cattle with locomotor disorders that were reared under a freestall barn breeding system in a milk farm. A total of 66 Holstein cows of different age groups and lactation periods were evaluated. They all showed some kind of lameness. Assessment of locomotor problems aimed to identify incidence of lesions and areas affected, such as fore and hind limbs and lateral and medial claws. White line disease was the most common problem (26,3%). Other disorders included heel ulcer (20,7%), sole erosion (14,6%), interdigital dermatitis (13,6%), sole hemorrhage (8,1%), septic pododermatitis (8,1%), double sole (6,1%), interdigital hyperplasia (2,0%), and toe ulcer (0,5%). The foot conditions were found to affect hind limbs in 69,3% of the cases, and fore limbs in 30,7%. A total of 58,1% of claw problems occurred in the lateral claw and 41,9% in the medial claw.

KEYWORDS: Confinement, digital diseases, trimming.

INTRODUÇÃO

A saúde dos membros locomotores dos bovinos é pré-requisito para que o animal tenha uma vida saudável e possa expressar sua produção. A dor faz com que o animal reduza a locomoção interferindo no seu comportamento e na ingestão de água e alimentos, fato inaceitável em relação ao bem-estar animal.

Nas últimas duas décadas a produção brasileira de leite vem crescendo a taxas superiores às do crescimento da população. Dados do CNPGL (2007) mostram que o Plano Real permitiu um aumento do consumo e uma postura liberal da política macroeconômica, que alteraram o patamar das importações de produtos lácteos no país.

As altas taxas de prevalência e incidência das afecções digitais em bovinos leiteiros, principalmente em sistemas de confinamento, incentivaram pesquisas nas quais diversos autores constataram que esta é a terceira maior causa de descarte nos rebanhos, ficando atrás apenas da mastite e problemas reprodutivos. Nos últimos anos houve um aumento significativo de pesquisas sobre melhoramento genético de bovinos leiteiros, com extraordinários avanços na produção de leite, sem que houvesse preocupação no melhoramento de membros e dígitos, cuja herdabilidade é muito baixa (SILVA et al., 2004a; FERREIRA et al., 2005).

As afecções do casco em bovinos levam a diminuição entre 5% e 20% na produção de leite por lactação, além de dificultar a observação e reduzir a ocorrência do cio e a taxa de concepção (GREEN et al., 2002; MARTINS et al., 2002; FERREIRA et al., 2005; SOUZA et al., 2006). Também desencadeiam custos com tratamento de animais doentes, maior incidência de mastite, perda de valor genético por acometer frequentemente animais de grande valor, e em alguns casos pode até levar o animal a óbito (MARTINS et al., 2002; SILVA et al., 2006b; FERREIRA et al., 2005).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar as afecções podais encontradas nos animais com problemas locomotores, em propriedade leiteira que utiliza o sistema de estabulação livre de criação, na região do entorno de Brasília.

MATERIAL E MÉTODOS

Os galpões tinham piso de concreto, eram limpos quando os animais se encontravam na ordenha e possuíam sistema de ventilação artificial. A cama dos animais era produzida com borracha picada e alimentação a base de silagem de milho, feno de tifton-85 (*Cynodon*

dactylon) moído, polpa cítrica, fubá de milho, caroço de algodão e cevada. Além disso, é feita uma suplementação mineral comercial de acordo com o período de lactação.

Foram avaliados 66 animais, representando aproximadamente 10% do rebanho em lactação, todos da raça Holandesa, em diferentes períodos de lactação e com idades diversas. As vacas eram ordenhadas três vezes ao dia e são pré-lavadas por aspersão antes da ordenha.

Para caracterizar as doenças podais encontradas no rebanho, só foram utilizadas as vacas que apresentavam algum tipo de enfermidade digital. Cada animal teve seus dados anotados numa ficha individual, própria para doenças digitais, com a identificação do local e caracterização das lesões. Em seguida as unhas eram aparadas com a rineta, torquês e/ou esmerilhadeira elétrica, para que novas lesões fossem identificadas. Os animais foram tratados de acordo com a necessidade.

Além da caracterização das afecções no rebanho, foi estudada a ocorrência nos membros anteriores e posteriores, e nas unhas laterais e mediais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A doença da linha branca foi a enfermidade de maior ocorrência encontrada no estudo (26/3%). A erosão de talão foi a segunda doença em número de casos, representando 20,7% das lesões, seguindo de úlcera de sola com 14,6% e dermatite interdigital, com 13,6% de incidência. Também foram encontradas hemorragia de sola e pododermatite séptica, ambas presentes em 8, 1% dos casos, sola dupla em 6,1%, hiperplasia interdigital em 2,0% e apenas uma lesão (0,5%) diagnosticada como úlcera de pinça.

Estes resultados provavelmente ocorreram devido ao confinamento dos animais, criados sobre piso de concreto e submetidos a caminhadas diárias nesta superfície até a sala de ordenha, fatos que contribuem para desgaste dos cascos, como sugerem SHEARER & AMSTEL (2000), que citam que este tipo de ambiente propicia mais casos de úlceras de sola e doença da linha branca.

Os dados apresentados são semelhantes aos de outros autores. GREEN et al. (2002) relataram que as quatro enfermidades de maior incidência foram a úlcera de sola, a doença da linha branca, a dermatite interdigital e a dermatite digital. BENEDETTI & DESTRO (2005) encontraram a dermatite interdigital e a erosão de talão em 50% dos casos, resultado parecido com o proposto por COOK & NORDLUND (2003). Resultados semelhantes também foram descritos por AMORY et al. (2004) e GRAÇA et al. (2006).

Das afecções digitais, 69,3% ocorreram nos membros posteriores e 30,7% nos membros anteriores, resultados muito próximos aos de MOLINA et al. (1999), que encontraram 66,7% das afecções nos membros pélvicos e 33,3% nos torácicos. PITOMBO (1995), DIAS (2007), MARTINS et al. (2002) e GRAÇA et al. (2006), também chegaram a resultados que comprovam a hipótese da afecção maior dos membros pélvicos.

Para MARTINS et al. (2002) o contato maior com fezes e urina e o excesso de umidade contribuem para o fato das doenças podais acometerem com mais frequência os membros pélvicos.

Foi notado que no sistema de estabulação livre os animais descansam com os membros torácicos sobre as camas e os membros pélvicos no corredor de serviço, comportamento esse que faz que os membros posteriores recebam uma sobrecarga, que também pode interferir na saúde do casco.

Observou-se maior frequência de lesões nos membros posteriores esquerdos (39,42%), como também foi verificada em trabalhos desenvolvidos por PITOMBO (1995).

Quanto à localização das lesões ungulares, 58,1% ocorreram nas unhas laterais e 41,9% nas mediais. Foi notado que nos membros anteriores não houve diferença significativa no número de lesões encontradas nas unhas laterais (49%) e mediais (51%); já nos posteriores, 67% das doenças ocorreram na unha externa.

Dos animais que apresentaram a doença da linha branca, 14 (26,9%) tinham apenas uma unha acometida, enquanto 20 (38,5%) apresentaram duas unhas, oito (15,4%), três; cinco animais (9,6%), quatro e outros cinco (9,6%), cinco unhas com lesões. Estas lesões ocorreram nas unhas laterais em 63,4% dos casos de doença da linha branca, das quais 76,2% nos membros posteriores.

A erosão de talões ocorreu em apenas uma unha em 17 animais (41,5%); em duas unhas em 14 (34,1%); em três, em seis animais (14,6%); em quatro, em duas vacas (4,9%); em seis, em um (2,4%) e em sete unhas em um animal (2,4%). A maioria dos casos de erosão de talões (56%) ocorreram nas unhas laterais, principalmente nos membros posteriores (78%).

Não houve casos de úlcera de sola na unha lateral dos membros anteriores, e nos posteriores somente um caso ocorreu na unha medial. A quantidade de animais com uma, duas ou três unhas afetadas foi respectivamente 69%, 24,1% e 6,9%.

No estudo só ocorreu um caso de úlcera de pinça, na unha lateral do membro anterior esquerdo. Dos casos de hemorragia de sola, 93,8% ocorreram em apenas uma unha e 6,2%

ocorreram em quatro unhas do mesmo animal; 63,15% nos dígitos laterais, sendo que 68,4% ocorreram nos membros pélvicos.

A pododermatite séptica axial foi diagnosticada em apenas uma unha em 87% dos casos e em duas unhas em 12,5% dos animais examinados. Nos membros anteriores ocorreu 50% das vezes na unha interna, enquanto nos posteriores 62,5% ocorreu na unha externa.

Não houve caso de sola dupla nas unhas laterais dos membros anteriores, e nos posteriores apenas dois casos ocorreram na unha medial. Somente um caso (8,3%) ocorreu em duas unhas, mas em lados opostos e unhas opostas. As demais lesões (91,7%) ocorreram em apenas uma unha do animal.

Dos casos de dermatite interdigital, 83,3% ocorreram nos membros posteriores, sendo 55,6% em apenas um membro, 37% em dois membros, 3,7% em três membros e outros 3,7% nos quatro membros. A hiperplasia interdigital esteve em quatro animais; três (75%) em apenas um membro e um (25%) nos dois membros posteriores.

A caracterização de afecções podais quanto aos dígitos acometidos individualmente para cada doença não foi encontrada na literatura.

CONCLUSÕES

As doenças de maior ocorrência entre os animais estudados foram a doença da linha branca, a erosão de talão, a úlcera de sola e a dermatite interdigital. Também foram encontradas hemorragia de sola, pododermatite séptica, sola dupla e hiperplasia interdigital. A úlcera de pinça não teve importância clínica no rebanho.

A maioria das lesões podais ocorreu nos membros pélvicos. A incidência de doenças nos membros anteriores não diferiu quanto às unhas lateral e medial, enquanto nos posteriores ocorreu principalmente nas unhas laterais.

O confinamento em superfície de concreto, somado à umidade e às caminhadas forçadas até à sala de ordenha são indicadores determinantes para o desenvolvimento de problemas digitais. No entanto, mais estudos para localização exata das afecções digitais em rebanhos leiteiros nas condições estudadas são importantes.

REFERÊNCIAS

AMORY, J.R.; BARKER, Z.E.; BRASSEY, N. R.; BLOWEY, R.W.; GREEN, L. E. A postal survey of incidences of lameness and claw lesions in dairy cattle in the UK: a preliminary

report. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON LAMENESS IN RUMINANTS, 13, 2004, Slovenija, **Proceedings...**Maribor: Convention Organizing Committee,2004.

BENEDETTI, E.;DESTRO, G. R. Minerais injetáveis no tratamento de doenças de cascos em bovinos. **Fazu em Revista**, Uberaba, n. 2, p. 208-212, 2005.

COOK, N. B.; NORDLUND, K. V. Interrelationships between housing and herd health. **Advances in Dairy Technology**, v. 15, p. 85-95, 2003.

DIAS, R. S. **Conceitos e aplicações práticas para a saúde do casco**. 2003. Disponível em:<www.nucleovet.com.br/materiais_arquivos/01.doc> Acesso em: 20 maio 2007.

FERREIRA, P. M.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, M. G.; FERREIRA, R. G. **Sistema locomotor dos ruminantes**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 39p, 2005.

GRAÇA, F. A. S.; ALVES, P. A.; MOURA Jr, C.C.S.; SANTOS Jr, J. B. Evaluation os 49 animals with a history of lameness, treated on a dairy farm in the municipality os Rio das Flores-Rio de Janeiro-Brasil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON LAMENESS IN RUMINANTS, 14, 2006, Uruguay, **Proceedings...**Uruguay: Convention Organizing Committee, 2006, p.80-81.

GREEN, L. E.; HEDGES, V. J.; SCHUKKEN,Y. H.; BLOWEY, R. W.; PACKINGTON, A. J. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, n. 85, p. 2250-2256, 2002.

MARTINS, C. F.; SARTI, E.; BUSATO, I.; PIRES, P. P.; FIORI, C. H.; MOREIRA,C.; SOARES, K.; BETINI, B.; VELASQUEZ, M. Prevalência e classificação das afecções podais em vacas lactantes na bacia leiteira de Campo Grande (capital) e municípios arredores-MS. **Ensaios e Ciência**, Campo Grande, v. 6, n .2, p .113-137, 2002.

MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. U., FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M.; FERREIRA,V. C. P. Prevalência e classificação das afecções podais em vacas lactantes na bacia leiteira de Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 51, n. 2, p. 149-152, 1999.

PITOMBO, C. A. **Doença digital no bovino: descrição de 109 casos cirúrgicos**. 1995. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói.

SHEARER, J. K; AMSTEL, S. R. Van. Managing lameness for improved cow confort and performance. In: WESTERN MANAGEMENT CONFERENCE, 6, 2003, Florida. **Proceedings...**Florida: Reno, 2003, p.167-177.

SILVA, L. A. F.; SILVA, E. B.; SILVA, L. M.; TRINDADE, B. R.; SILVA, O. C.; ROMANI, A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; SOUSA, J. N.; FRANCO, L. G.; GARCIA, A. M. Causas de descarte de fêmeas bovinas leiteiras adultas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 5, n. 1, p 9-17, 2004a.

SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; TRINDADE, B. R.; SILVA, O. C.; EURIDES, D.; CUNHA, P. H. J.; SILVA, L. M.; MOURA, M. I. Enfermidades digitais em vacas de aptidão leiteira: associação com mastite clínica, metrites e aspectos epidemiológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 217-222, 2004b.

TEOR DE FERRO E DE OUTROS COMPONENTES DO SORO SANGUÍNEO DE BEZERROS DA RAÇA HOLANDESA SUBMETIDOS À SUPLEMENTAÇÃO INJETÁVEL DE FERRO DEXTRANO

Camila Franciosi¹, Thaís Gomes Rocha¹, Marcos Vinicius Vilela², Renata Lemos Nagib Jorge³, José Carlos Barbosa⁴, José Jurandir Fagliari⁵

1. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal – SP

4. Docente do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP

5. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil

E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Anemia ferropriva, neonatos bovinos.

ABSTRACT

CONCENTRATION OF IRON AND OTHER BLOOD SERUM COMPONENTS OF HOLSTEIN CALVES SUPPLEMENTED BY IRON DEXTRAN INJECTIONS

This study assesses serum levels of iron, creatinine, urea, bilirubin, gamma-glutamyltransferase, aspartate aminotransferase, and alkaline phosphatase in Holstein calves before colostrum intake. Data was collected when calves were 5, 10, 20, 30, and 60 days of age in order to observe the effect of parenteral iron supply. The results showed that two or three injections of iron-dextran were more effective in the control of iron deficiency anemia.

KEYWORDS: bovine neonates, iron deficiency anemia

INTRODUÇÃO

O ferro é considerado elemento fundamental para várias funções orgânicas dos mamíferos (ATYABI et al. 2006) e sua deficiência causa debilidade ao organismo (HENTZE et al., 2004). A anemia ferropriva é mais frequente em animais recém-nascidos devido ao rápido crescimento dos animais nos primeiros dias de vida, ao baixo conteúdo de ferro no leite e no colostro e à baixa reserva orgânica do mineral (SMITH, 2009). Em bezerros, a anemia ferropriva cursa sem que se percebam sintomas, sendo diagnosticada apenas com auxílio de exames laboratoriais (RIZZOLI et al., 2006). ATYABI et al. (2006) relataram que

bezerros lactentes necessitam teor de ferro muito maior do que aquele disponível no leite, sendo essencial sua suplementação para o desenvolvimento adequado do neonato.

A importância biológica do ferro é amplamente atribuída a sua propriedade química como um metal de transição. Esta mesma propriedade explica porque o excesso de ferro é tóxico: a sobrecarga de ferro ocasiona saturação excessiva nos sítios de ligação com a transferrina; assim, o ferro passa a circular na forma livre. No citoplasma, uma considerável fração de ferro é reduzida e pode reagir com peróxido de hidrogênio, gerando radicais livres, que lesionam as membranas lipoprotéicas e os ácidos nucleicos; portanto, as consequências patológicas do excesso de ferro sistêmico estão relacionadas com o acúmulo crônico do mineral nos tecidos (HENTZE et al. 2004). Segundo MILLER et al. (1991), menor consumo de alimento, diminuição da taxa de crescimento e da eficiência da conversão alimentar são sinais característicos de intoxicação crônica por ferro; o grau de toxicidade está diretamente relacionado com a biodisponibilidade do composto utilizado na suplementação.

O objetivo do presente estudo foi avaliar as concentrações séricas de ferro, creatinina, uréia e bilirrubinas, bem como as atividades das enzimas gama glutamiltransferase, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina de bezerros neonatos da raça Holandesa, submetidos a quatro protocolos de aplicação injetável de ferro dextrano, com o objetivo de avaliar os efeitos destes procedimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sangue de 40 bezerros recém-nascidos da raça Holandesa, distribuídos em cinco grupos, de acordo com o tipo de suplementação de ferro dextrano injetável administrada: *Grupo 1* - controle; *Grupo 2* – administração intramuscular (IM) de 5mL de ferro dextrano aos 5 dias de idade; *Grupo 3* - administração IM de 5mL de ferro dextrano aos 5 e 20 dias de idade; *Grupo 4* - administração IM de 5mL de ferro dextrano aos 5 e 30 dias de idade; e *Grupo 5* - administração IM de 5mL de ferro dextrano aos 5, 20 e 45 dias de idade. Os animais foram mantidos com as mães até completarem três dias de idade e, após a colostragem, foram transferidos para baias individuais, onde recebiam apenas leite de vaca integral até completarem 60 dias de idade.

Para realização dos exames bioquímicos séricos, amostras de sangue foram obtidas por venopunção jugular em seis momentos: por ocasião do nascimento (M1) e aos 5 (M2), 10 (M3), 20 (M4), 30 (M5) e 60 (M6) dias de idade. Foram determinadas as concentrações séricas de ferro (método de Goodwin modificado), creatinina (método de Basques-Lustosa),

uréia (método da urease) e de bilirrubinas total e direta (método Sims-Horn), bem como as atividades das enzimas gama glutamiltransferase (método de Szasz modificado), aspartato aminotransferase (método de Reitman-Frankel) e fosfatase alcalina (método de Bowers e McComb modificado), utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (Labquest, Labtest, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste.

Para a análise estatística utilizou-se um delineamento com parcelas subdivididas (*split-plot*) com medidas repetidas no tempo. As estatísticas F calculadas foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os contrastes entre pares de médias foram determinados pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores séricos de ferro, creatinina, uréia, bilirrubinas total e direta e as atividades das enzimas gama glutamiltransferase, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina dos bezerros da raça Holandesa submetidos a quatro protocolos de ferro dextrano suplementar estão apresentados a seguir, na forma de média e desvio-padrão.

Nos bezerros dos Grupos 1 e 2, o teor sérico de ferro não apresentou variação significativa ($P < 0,05$) entre os momentos, com valores que oscilaram entre $96,4 \pm 57,8$ $\mu\text{g/dL}$ a $167 \pm 52,6$ $\mu\text{g/dL}$. No grupo 3 ocorreu aumento significativo nos momentos 3 e 5, o que pode ser justificado pela aplicação intramuscular de ferro dextrano aos 5 (M2) e aos 10 (M3) dias de idade. No grupo 4, apesar da aplicação de ferro aos 20 dias (M4), o teor sérico diminuiu no momento 5. No grupo 5, a maior concentração de ferro foi verificada aos 60 dias de idade (M6), fato que pode ser explicado pela aplicação intramuscular do mineral aos 45 dias após o nascimento. Apenas em M6 (60 dias de idade) notou-se diferença significativa entre os grupo 5 e os demais grupos. Segundo KNOWLES et al. (2000), a concentração sérica de ferro em bezerros recém-nascidos diminui com a idade e só aumentam após 83 dias de vida.

A concentração sérica de creatinina variou de $0,74 \pm 0,34$ mg/dL a $1,90 \pm 0,49$ mg/dL , sem diferença significativa entre os grupos. Em todos os grupos, os teores séricos de creatinina foram maiores logo após o nascimento (M1), diminuindo e mantendo-se estáveis nos demais momentos, concordando com os achados de KNOWLES et al. (2000). Os valores encontraram-se dentro da faixa de normalidade para espécie (FAGLIARI et al., 1998, KNOWLES et al., 2000).

Os teores séricos de uréia não apresentaram diferença significativa entre os grupos, tampouco entre momentos, variando de $16,4 \pm 3,10$ mg/dL a $31,2 \pm 16,6$ mg/dL. Tais achados diferem do relato de KNOWLES et al. (2000), que constataram valores superiores logo após o nascimento, diminuindo após 6 dias de idade.

Em todos os grupos atividade sérica da enzima gama glutamiltransferase foi maior em M1, variando de 375 ± 316 U/L a 1.399 ± 686 U/L, em razão da ingestão de colostro, com diminuição a partir de M2, até M6, quando se notou valor de $22,0 \pm 4,90$ U/L. Também, notou-se diferença significativa entre os grupos no momento 1, fato que se deve às diferentes quantidades e qualidades de colostro ingerido pelo animal. Segundo ZANKER et al. (2001), a alta atividade sérica de gama glutamiltransferase em ruminantes neonatos é indicativa de ingestão adequada de colostro. Segundo KNOWLES et al. (2000), a atividade sérica desta enzima só atinge os valores de referência de adultos, aproximadamente, aos 40 dias de idade. Em relação à atividade sérica de aspartato aminotransferase, o maior valor foi constatado em M1 (logo após o nascimento), em bezerros do Grupo 2, ou seja 240 ± 487 U/L. Não houve variação significativa nos demais grupos e momentos, com valores oscilando entre $30,1 \pm 6,72$ a $77,7 \pm 58,0$ U/L. A atividade sérica da enzima fosfatase alcalina variou entre os grupos e os momentos, com valores de 121 ± 59 U/L a 530 ± 226 U/L, com valor máximo logo após o nascimento, achado também relatado por FAGLIARI et al. (1998).

As concentrações séricas de bilirrubina total e direta variaram de $0,28 \pm 0,10$ a $0,80 \pm 0,42$ mg/dL e de $0,07 \pm 0,04$ a $0,28 \pm 0,13$ mg/dL, respectivamente, sem diferença significativa entre os grupos e discreta variação entre os momentos, com valor máximo ao nascimento e decréscimo gradativo em função da idade, à semelhança do relatado por FAGLIARI et al. 1998.

CONCLUSÃO

As concentrações séricas de ferro dos bezerros aumentaram logo após a administração de ferro injetável, nos grupos que receberam mais de uma aplicação, sugerindo que todos os protocolos que implicaram na administração injetável de ferro dextrano foram efetivos no controle de anemia ferropriva. As concentrações séricas de creatinina, uréia e bilirrubinas total e direta e as atividades das enzimas gama glutamiltransferase, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina foram compatíveis para a espécie bovina nesta faixa etária, sugerindo que nenhum dos protocolos de suplementação de ferro ocasionou hepatotoxicidade ou nefrotoxicidade aos animais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de auxílio financeiro para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

- ATYABI, N.; GHARAGOZLOO, F.; NASSIRI, S. M. The necessity of iron supplementation for normal development of commercially reared suckling calves. **Comparative Clinical Pathology**, London, v.15, n.3, p.165–168, 2006.
- FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 253-262, 1998.
- HENTZE, M. W.; MUCKENTHALER, M. U.; ANDREWS, N. C. Balancing acts molecular control of mammalian iron metabolism. **Cell**, Cambridge, v. 17, n. 3, p. 285-297, 2004.
- KNOWLES, T. G.; EDWARDS, J. E.; BAZELEY, K. J., BROWN, S. N., BUTTERWORTH, A.; WARRISS, P. D. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. **Veterinary Record**, London, v. 147, p. 593-598, 2000.
- MILLER, W. J.; GENTRY, R. P.; BLACKMON, D. M. et al. Effects of high dietary iron as ferrous carbonate on performance of young dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 6, p. 1963-1967, 1991.
- RIZZOLI, F. W., FAGLIARI, J. J., SILVA, D. G. Teores séricos de cálcio, fósforo, magnésio e ferro de bezerros recém-nascidos que mamaram colostro diretamente na vaca ou em mamadeira. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 4-8, 2006.
- SMITH, P. S. **Large animal internal medicine**. 4.ed, Saint Louis: Mosby/Elsevier. 2009. 1821p.
- ZANKER, I. A.; HAMMON, H. M.; BLUM, J. W. Activities of γ -glutamyltransferase, alkaline phosphatase and aspartate-aminotransferase in colostrum, milk and blood plasma of calves fed first colostrum at 0-2, 6-7, 12-13 and 24-25 h after birth. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 48, p. 179-185, 2001.

TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA EM BEZERROS MISTIÇOS CANCHIM-NELORE

Thaís Gomes Rocha¹, Camila Franciosi¹, Ricardo Perecin Nociti², Cláudia Aparecida da Silva Nogueira³, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio⁴, José Jurandir Fagliari⁵

1. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal – SP

4. Docente do Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

5. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil
E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos neonatos, gama glutamiltransferase, imunoglobulina G, proteínas séricas.

ABSTRACT

PASSIVE IMMUNE TRANSFER IN CROSSBRED CANCHIM-NELORE CALVES

This study assessed serum samples from 10 crossbred Canchim-Nelore calves, which were born from 5 primiparous and 5 pluriparous cows. The aim was to determine serum activities of gama-glutamyltransferase and alkaline phosphatase as well as serum concentrations of total protein, albumin, globulins, including immunoglobulin. These samples were collected just after birth and when calves were 1, 2, 7, 15 and 30 days old. Research findings revealed adequate transfer of colostrum immunoglobulins in both groups. There was a reduction of albumin concentrations, whereas serum activities of both enzymes and serum concentrations of total proteins, globulins and immunoglobulins increased after colostrum intake.

KEYWORDS: Gama-glutamyltransferase, immunoglobulin G, newborn calf, serum proteins.

INTRODUÇÃO

A falha na transferência das imunoglobulinas colostrais é uma das principais causas de doença septicêmica em bezerros, modulando a ocorrência de mortes e a gravidade de doença entérica e respiratória no neonato (BARRINGTON et al., 2002).

Vacas leiteiras primíparas produzem colostro com menor concentração de imunoglobulinas, em comparação às vacas pluríparas; embora a influência do número de

partos em vacas de corte aparentemente não influencie a transferência de imunidade passiva aos bezerros, as crias de novilhas são mais sujeitas a fatores de risco que predisõem a menor absorção de anticorpos (COSTA et al., 2008).

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar comparativamente a transferência de imunidade passiva em bezerros mestiços Canchim-Nelore, filhos de vacas primíparas ou pluríparas, e verificar a influência do número de partições na eficiência da transferência de imunoglobulinas da mãe para o neonato, através do colostro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sangue de 10 bezerros Canchim-Nelore recém-nascidos sadios (cinco filhos de vacas primíparas - Grupo 1; cinco crias de vacas pluríparas - Grupo 2). Durante a fase experimental os bezerros eram mantidos junto às mães, em pastagens de *Brachiaria brizantha* CV Marandu, mamando à vontade.

Amostras de 10mL de sangue foram obtidas por venopunção jugular em tubos a vácuo, sem anticoagulante, em seis momentos: antes da ingestão do colostro (M0) e 1 (M1), 2 (M2), 7 (M3), 15 (M4) e 30 (M5) dias após o nascimento.

Foram determinadas as atividades séricas das enzimas gama glutamiltransferase (método de Szasz modificado) e fosfatase alcalina (método de Bowers e McComb modificado), bem como as concentrações de proteína total (método do biureto) e albumina (método do verde de bromocresol), utilizando-se conjuntos de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (Labquest, Labtest, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) em comprimento de luz apropriado para cada teste. O teor de globulinas foi determinado aritmeticamente pela diferença entre os teores séricos de proteína total e de albumina.

Para o fracionamento protéico em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) foi utilizada a técnica proposta por LAEMMLI (1970). As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão); como referência foi utilizada uma solução marcadora (Sigma, St Louis, MO, USA) com diferentes pesos moleculares, além da proteína purificada IgG bovina (Sigma, St. Louis, MO, USA).

Para análise estatística utilizou-se um delineamento com parcelas subdivididas (*split-plot*) com medidas repetidas no tempo. As estatísticas F calculadas foram consideradas

significativas quando $P < 0,05$. Os contrastes entre pares de médias foram determinados pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises encontram-se na forma de médias e desvios-padrão.

As atividades séricas de gama glutamiltransferase (GGT) não variaram significativamente entre os grupos, constatando-se valores mínimos antes da ingestão de colostro ($19,9 \pm 6,84$ U/L e $32,1 \pm 12,6$ U/L em bezerros dos grupos 1 e 2, respectivamente). No M1 (dia seguinte ao nascimento) constatou-se aumento significativo da atividade de GGT, com valores de 3.833 ± 1.674 U/L, no Grupo 1, e 2.921 ± 1.656 U/L no Grupo 2. Posteriormente, notou-se redução gradativa da atividade enzimática até os 30 dias de idade, observando-se valores de 1.997 ± 1.156 U/L, em M2, e $55,1 \pm 14,7$ U/L, em M5, no Grupo 1. Nos bezerros do Grupo 2 estes valores foram 1.189 ± 696 U/L (M2) e $52,0 \pm 12,6$ U/L (M5). A GGT tem alta atividade no colostro bovino, sendo absorvida em grande quantidade pelos enterócitos de bezerros neonatos (FAGLIARI et al., 1996). Em bezerros pode-se, então, considerar a atividade desta enzima como um indicador indireto de transferência de imunoglobulinas colostrais (FEITOSA et al., 2001). Em estudo sobre a transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin, COSTA et al. (2008) verificaram valor máximo da atividade de GGT após a ingestão de colostro, decrescendo abruptamente até atingir valores fisiológicos aos 60 dias de idade.

A atividade sérica de fosfatase alcalina (ALP) não diferiu entre os grupos; notou-se aumento significativo após a ingestão de colostro (de $270 \pm 54,3$ U/L para 773 ± 307 U/L, no Grupo 1, e de $297 \pm 87,2$ U/L para 779 ± 429 U/L no Grupos 2). Nos momentos subsequentes, a atividade de ALP apresentou variações em ambos os grupos. Provavelmente isto se deva a sua ampla distribuição em diversos órgãos e tecidos, sendo característico o aumento de sua atividade em animais em crescimento (KANEKO et al., 2008). FAGLIARI et al. (1996) observaram menor variação na atividade de ALP em bezerros da raça Holandesa do nascimento aos sexto dia de vida, com valor mínimo de 309 U/L e máximo de 388 U/L. KNOWLES et al. (2000) afirmaram que a atividade de ALP em bezerros recém-nascidos alcança valor até quatro vezes maior do que o limite superior do intervalo de referência, nos primeiros dias de vida.

Verificou-se menor concentração de proteína total antes da ingestão do colostro ($3,98 \pm 0,37$ g/dL, no Grupo 1, e $4,34 \pm 0,11$ g/dL no Grupo 2). Notou-se diferença significativa entre os grupos somente após a ingestão do colostro, quando foram verificados valores

máximos em ambos os grupos, ou seja, $7,08 \pm 0,31$ g/dL (Grupo 1) e $7,92 \pm 1,03$ g/dL (Grupo 2). Nos momentos subseqüentes constatou-se redução gradativa na concentração de proteínas totais nos dois grupos, com menores teores aos 30 dias de vida ($6,08 \pm 0,29$ g/dL, no Grupo 1, e $6,29 \pm 0,32$ g/dL, no Grupo 2).

FAGLIARI et al. (1998), avaliando os constituintes sanguíneos de bezerros das raças Nelore e Holandesa verificaram, diferentemente do observado no presente estudo, aumento nos teores séricos de proteína total do nascimento aos 45 dias de idade. Notou-se redução dos teores de proteína total abaixo dos limites de referência para a espécie, relatada por KNOWLES et al., (2000), em bezerros do Grupo 1 aos 15 dias ($6,46 \pm 0,42$ g/dL) e aos 30 dias de vida ($6,08 \pm 0,29$ g/dL) e no Grupo 2 aos 30 dias de idade ($6,29 \pm 0,32$ g/dL).

O teor sérico de albumina verificado em M0 ($2,11 \pm 0,24$ g/dL e $2,17 \pm 0,16$ g/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente) diminuiu após a ingestão de colostro (M1) em ambos os grupos ($1,75 \pm 0,28$ g/dL, no Grupo 1, e $1,76 \pm 0,14$ g/dL, no Grupo 2). Nos momentos subseqüentes ocorreu aumento gradativo, com valores máximos aos 30 dias de idade ($2,66 \pm 0,17$ g/dL, no Grupo 1, e $2,78 \pm 0,11$ g/dL, no Grupo 2). O teor sérico de albumina dos bezerros do presente estudo permaneceu abaixo dos limites de referência para bovinos (KANEKO et al., 2008) até os 30 dias de vida, corroborando com os achados de KNOWLES et al., (2000).

A concentração de globulinas nos animais dos Grupos 1 e 2 foi menor ao nascimento ($1,87 \pm 0,37$ g/dL, no Grupo 1, e $2,17 \pm 0,17$ g/dL, no Grupo 2), aumentando consideravelmente após a ingestão do colostro, quando diferiu significativamente entre os Grupos 1 e 2, ou seja, $5,33 \pm 0,45$ g/dL e $6,16 \pm 1,15$ g/dL, respectivamente. Notou-se, então, redução gradual dos teores de globulinas até os 30 dias de idade, quando os valores verificados nos Grupos 1 e 2 foram $3,42 \pm 0,14$ g/dL e $3,51 \pm 0,28$ g/dL, respectivamente. FAGLIARI et al. (1998) verificaram elevação no teor de globulinas em bezerros da raça Nelore em função da ingestão de imunoglobulinas colostrais.

Os teores séricos de imunoglobulina G (IgG) de cadeia pesada não diferiram significativamente entre os grupos. As menores concentrações foram verificadas ao nascimento (570 ± 142 mg/dL e 495 ± 284 mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente). No M1, o teor foi ligeiramente superior em bezerros do Grupo 2 (2.269 ± 336 mg/dL), em comparação com os animais do Grupo 1 (1.981 ± 144 mg/dL), no entanto, sem diferença significativa. Posteriormente, o teor de IgG de cadeia pesada diminuiu gradativamente e no M5 foram verificadas concentrações de 623 ± 29 mg/dL e 784 ± 81 mg/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente. As concentrações de IgG de cadeia leve apresentaram comportamento

semelhante, com menores valores ao nascimento ($3,37 \pm 3,85$ mg/dL, no Grupo 1, e $15,8 \pm 13,0$ mg/dL, no Grupo 2) e valores máximos um dia após o nascimento (M1), após a ingestão do colostro (969 ± 167 mg/dL e 939 ± 817 mg/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente). Aos 30 dias de idade os teores séricos desta proteína foram de 303 ± 44 mg/dL, no Grupo 1, e 404 ± 143 mg/dL, no Grupo 2.

Os teores de imunoglobulinas dos bezerros de vacas primíparas e pluríparas do presente estudo foram superiores a 1.600 mg/dL, caracterizando uma apropriada transferência de imunidade passiva (PERINO et al., 1993).

CONCLUSÕES

Constatou-se adequada transferência de imunidade passiva, tanto em bezerros de vacas primíparas quanto naqueles filhos de vacas pluríparas. As atividades séricas das enzimas GGT e ALP e os teores de proteína total, globulinas e IgG de cadeias pesada e leve aumentaram significativamente após a ingestão de colostro; o teor de albumina diminuiu. Em especial, a mensuração da atividade sérica de gama glutamiltransferase mostrou-se indicador indireto confiável da transferência de imunoglobulinas colostrais aos bezerros.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP, pela concessão de auxílio para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

- BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F.; Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.
- COSTA, M. C.; FLAIBAN, K. K. M. C.; CONEGLIAN, M. M.; FEITOSA, F.L. F.; BALARIN, M. R. S.; LISBÔA, J. A. N. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 9, p. 410-416, 2008.
- FAGLIARI, J. J.; OLIVEIRA, E. C.; PEGORER, M. F.; FERRANTE JÚNIOR, L.C.; CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gama glutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-

nascidos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, n. 2, p. 105-112, 1996.

FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*), Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 253-262, 1998.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; PERRI, S. H. V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gama-glutamyltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 251-255, 2001.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 6.ed, San Diego: Academic Press, 2008, 916p.

KNOWLES, T. G.; EDWARDS, J. E.; BAZELEY, S. N.; BROWN, S. N.; BUTTERWORTH, A.; WARRIS, P. D. Changes in the blood biochemical and haemathological profile of neonatal calves with age. **Veterinary Record**, London, v. 147, p. 593-598, 2000.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

PERINO, L. J.; SUTHERLAND, R. L.; WOOLLEN, N. E. Serum gama-glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin G. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 54, n. 1, p. 56-59, 1993.

INDICADORES SANGÜÍNEOS DE LIPOMOBILIZAÇÃO E FUNÇÃO HEPÁTICA NO INÍCIO DA LACTAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS DE ALTA PRODUÇÃO

Félix González¹, Rodrigo Muíño², Víctor Pereira³, Rómulo Campos⁴, José Luis
Benedito Castellote³

¹ Médico veterinário, professor Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. CEP: 91540-000.

E-mail: felix.gonzalez@ufrgs.br (autor correspondente)

² Médico veterinário, Centro Veterinário de Meira, Galícia, Espanha

³ Médico veterinário, professor Faculdade de Veterinária, Universidade de Santiago de Compostela, Lugo, Espanha

⁴ Médico veterinário, professor Faculdade de Ciências Agropecuárias, Universidade Nacional da Colômbia, Palmira, Colômbia

PALAVRAS-CHAVES: Bioquímica sanguínea, cetose, lipidose hepática

ABSTRACT

BLOOD INDICATORS OF LIPOMOBILIZATION AND HEPATIC FUNCTION IN HIGH YIELDING DAIRY COWS DURING EARLY LACTATION

Blood indicators are used as a tool for diagnosing and estimating the severity of metabolic disorders. This work investigates the relationship between blood indicators of lipomobilization and hepatic function in high yielding dairy cows. Two groups of Holstein cows were studied: 27 early-lactating cows (Group 1) and 14 mid-lactating cows (Group 2). The animals originated from four different herds with similar husbandry characteristics. Blood samples were used to determine concentrations of beta-hydroxybutyrate (BHB), non-esterified fatty acids (NEFA), triglycerides (TG), and other serum components as well as the activity of AST and GGT enzymes. The first group had significantly higher BHB and NEFA levels. High lipomobilization and subclinical ketosis were detected in 67% and 41% of early-lactating cows and 14% and 36% of mid-lactating cows, respectively. NEFA tests were not as sensitive as BHB to diagnose subclinical ketosis. Low TG concentrations were observed in all cows suffering from subclinical ketosis and in 61% of those with high lipomobilization. AST values revealed that 30% had hepatic lipidosis in early lactation. Furthermore, lower concentrations of glucose, total protein, and urea suggested that hepatic function was compromised.

KEYWORDS: Blood biochemistry, hepatic lipidosis, ketosis.

INTRODUÇÃO

A maioria (97%) do gado leiteiro na Galícia está formada por vacas da raça Holandesa de alta produção com média de 7.426 L/lactação (XUNTA DE GALICIA, 2003). Cerca de 2% das vacas de alta produção sofrem cetose e cerca de 1% sofrem desordens hepáticas (BENEDITO, 1998).

A cetose e o fígado gorduroso estão intimamente relacionados e são responsáveis por severas perdas econômicas. Geralmente a cetose clínica em vacas leiteiras ocorre entre a 2ª e a 7ª semanas de lactação (DUFFIELD et al., 1997). A prevalência de cetose subclínica em vacas de alta produção está estimada entre 7% a 32% do rebanho (NIELEN et al., 1994). Esta prevalência é considerada maior no primeiro mês de lactação (BAIRD, 1982).

As vacas leiteiras de alta produção sofrem um balanço energético negativo na 1ª semana de lactação por conta do desequilíbrio entre o gasto de energia envolvendo a produção de leite e a limitada ingestão de alimento (NIELEN et al., 1994), levando a lipomobilização com possibilidade de infiltração de gordura no fígado (AMETAJ et al., 2002). As lesões hepáticas devidas à infiltração de gordura derivada da lipomobilização aumentam a possibilidade de sofrer outros transtornos como cetose, hipocalcemia, deslocamento de abomaso e retenção de placenta (AMETAJ, 2005). A abordagem diagnóstica da lipidose hepática e a suscetibilidade a cetose em vacas de alta produção incluem biopsia ou ecografia de fígado, mas uma análise menos invasiva e mais econômica pode ser o estudo dos indicadores bioquímicos sanguíneos de lipomobilização e de lesão e função hepática (BAIRD, 1982).

O presente trabalho visa estudar as relações entre os indicadores sanguíneos de lipomobilização e de função hepática em vacas leiteiras de alta produção a fim de obter parâmetros que ajudem no diagnóstico da severidade de transtornos metabólicos relacionados com balanço energético negativo no início da lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Região de Galícia (Espanha) em quatro propriedades leiteiras de similares condições de manejo e alimentação. As vacas, todas da raça Holandesa, eram de produção maior de 40 L/dia. Os animais estavam acomodados em *free-stalls* com camas de areia, alimentados com ração totalmente misturada. As vacas eram ordenhadas duas vezes por dia e o número de vacas em ordenha variou de 92 a 163. Dois grupos de vacas foram selecionados considerando os

dias em lactação: um grupo de primeiro mês de lactação (N= 27), considerado como animais de alta lipomobilização e um grupo de 3 a 5 meses de lactação (N= 14), considerado como animais de baixa lipomobilização.

Amostras de sangue foram coletadas da veia coccígea em tubos vacutainer sem anticoagulante após a primeira ordenha da manhã. As amostras foram centrifugadas para obtenção de soro, o qual foi imediatamente congelado em tubos plásticos tipo *ependorf* a -20°C até a determinação bioquímica. Os seguintes metabolitos foram determinados mediante técnicas de espectrofotometria: beta-hidroxibutirato e ácidos graxos não esterificados (Randox, Irlanda), AST, GGT e triglicerídeos (Spinreact, Espanha), glicose, proteína total e albumina (Human, Alemanha), uréia, creatinina, bilirrubina, cálcio e fósforo (RAL, Espanha). A análise estatística incluiu ANOVA multivariada dos principais componentes e teste de Pearson para correlação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os indicadores de lipomobilização, ácidos graxos não esterificados (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) foram mais elevados nas vacas em início da lactação comparados aos valores das vacas no terceiro mês de lactação. Em média, o valor de NEFA das vacas no primeiro mês de lactação foi duas vezes o valor das vacas no terceiro mês de lactação (536,6 vs. 237,2 $\mu\text{mol/L}$), enquanto que os valores de BHB no primeiro grupo ultrapassaram o limiar de 1,0 mmol/L considerado como normal (DUFFIELD, 2000). Poucos trabalhos indicam qual seria o limiar de concentração sérica de NEFA em que se possa considerar que existe alta lipomobilização, mas valores >400 $\mu\text{mol/L}$ já indicam problemas de balanço energético (OETZEL, 2004). No presente trabalho, 67% das vacas em início de lactação e 14% das vacas em lactação intermédia apresentaram evidência de alta lipomobilização. Concentrações de NEFA >700 $\mu\text{mol/L}$ são compatíveis com cetose (OETZEL, 2004). Cinco vacas de lactação inicial (18,5%) e uma de lactação intermédia (7%) apresentaram valores de NEFA acima desse valor. A cetose subclínica também pode ser diagnosticada com concentrações séricas de BHB acima de 1,2 mmol/L, enquanto que a cetose clínica é diagnosticada com valores de BHB acima de 2,6 mmol/L (OETZEL, 2004). No presente trabalho, 41% das vacas do grupo inicial de lactação e 36% do grupo de lactação mais avançada tiveram BHB acima de 1,2 mmol/L. Os dados sugerem que os valores de NEFA são menos sensíveis para detectar cetose subclínica que os valores de BHB em vacas leiteiras de alta produção.

Uma condição de cetose clínica pode ser diagnosticada quando coincidem sinais clínicos com os seguintes valores de indicadores bioquímicos: BHB $>1,2$ mmol/L, glicose $<2,5$ mmol/L, e triglicerídeos $<0,12$ mmol/L (MUTLU & ABDULLAH, 1998). Sob este critério, 22% das vacas em início de lactação e nenhuma das vacas em lactação avançada tiveram coincidência desses valores. DOKOVIC et al. (2005) mostraram que em vacas cetósicas a concentração sérica de triglicerídeos (TG) é menor que em vacas sadias porque os TG podem estar se acumulando no tecido hepático e não saem para circulação. O presente trabalho mostra que 52% das vacas de alta lipomobilização e 43% das vacas de baixa lipomobilização tiveram valores de TG $<0,12$ mmol/L. Não houve correlação significativa entre TG e NEFA nem entre TG e BHB, sugerindo que valores isolados de TG não podem ser considerados como indicadores de lipomobilização. Entretanto, todas as vacas que sofreram cetose subclínica pelos critérios citados acima e 61% das vacas com alta lipomobilização (NEFA > 400 μ mol/L) tiveram valores de TG menores de 0,1 mmol/L.

Quando o fígado sofre infiltração de gordura é produzida uma lesão das células hepáticas e as enzimas indicadoras de injúria (aspartato aminotransferase - AST e gama glutamiltransferase - GGT) têm atividade aumentada no soro (BOBE et al., 2004). Apesar de o valor médio de AST ser maior nas vacas de lactação inicial não houve diferença significativa entre os dois grupos de vacas (93,1 vs. 84 U/L). STOJEVIĆ et al. (2005) relatam em vacas de raça Holandesa valor máximo de AST de 85 U/L, aquém do valor máximo encontrado neste trabalho (184,5 U/L). Considerando um valor de AST acima de 100 U/L como sugestivo de lesão hepática, este trabalho mostra 30% dos animais de lactação inicial com possível lesão hepática devida provavelmente à infiltração de gordura. Esses animais incluem as vacas cetósicas, as quais tiveram um valor médio de AST de 137,4 U/L. A atividade de GGT foi similar nos dois grupos de vacas (28,9 e 30,6 U/L) e maior que o valor de 17,1 U/L relatado por STOJEVIĆ et al. (2005). Os dados apresentados sugerem que nessas vacas o processo de lipomobilização foi capaz de produzir lesões relevantes no fígado em 1/3 das vacas em lactação inicial e que AST é indicador mais sensível que GGT para detectar lesões hepáticas. A infiltração gordurosa no fígado também pode afetar a concentração de outros componentes do sangue. Glicose, proteína total, albumina e uréia podem estar diminuídas (WEST, 1990). No presente trabalho, a glicemia e as concentrações séricas de proteína total, albumina e uréia das vacas em início de lactação foram menores ($P < 0,01$) que nas vacas no meio da lactação. Estes metabolitos são indicadores de

funcionalidade hepática (BOBE et al., 2004) e sua diminuição pode estar refletindo uma infiltração gordurosa em animais com alta lipomobilização. Possíveis alterações na função hepática podem ter efeito deletério no metabolismo dos animais, com impacto no desempenho na produção e na reprodução.

CONCLUSÃO

Os dados de bioquímica sanguínea mostram que vacas leiteiras de alta produção têm alto grau de lipomobilização e risco de cetose no primeiro mês de lactação comparado com vacas no terceiro mês de lactação. Os melhores indicadores para a detecção de cetose e de risco de complicações derivadas são o beta-hidroxibutirato, a enzima AST e os metabolitos glicose, proteína total e uréia. NEFA é útil para detectar lipomobilização mas não tem sensibilidade para detectar cetose.

REFERÊNCIAS

- AMETAJ, B. N.; BRADFORD, B. J., BOBE, G.; BEITZ, D. C. Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, suppl. 1, p. 189, 2002.
- AMETAJ, B. N. A new understanding of the causes of fatty liver in dairy cows. **Advances in Dairy Technology**, v. 17, p. 97-112, 2005.
- BAIRD, D. G. Primary ketosis in the high producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, p. 1-10, 1982.
- BENEDITO, J. L. **Patología de la producción láctea en Galicia**. Conferencia pronunciada en la Real Academia de Ciencias Veterinarias. Disponível em: <<http://www.racve.es/actividades/ciencias-basicas/1998-05-27JoseLuisBeneditoCastellote.htm>>. Acesso em fevereiro de 2009.
- BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D. C. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 3105-3124, 2004.

DOKOVIĆ, R.; ŠAMANC, H.; BOŠKOVIĆ-BOGOSAVLJEVIĆ, S.; RADOVIĆ, V. Changes of characteristic blood parameters in ketotic cows. **Veterinarski Glasnik**, v. 59, suppl. 1-2, p. 221-228, 2005.

DUFFIELD, T. F.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. et al. Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 38, p. 713-718, 1997.

DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 16, p. 231-253, 2000.

MUTLU, S.; ABDULLAH, B. The clinical-chemical parameters, serum lipoproteins and fatty infiltration of the liver in ketotic cows. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Ankara, v. 22, p. 443-447, 1998.

NIELEN, M.; AARTS, M. G.; JONKERS, A. G. et al. Evaluation of two cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 35, p. 229-232, 1994.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic diseases. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 20, p. 651-674, 2004.

STOJEVIĆ, Z.; PIRŠLJIN, J.; MILINKOVIĆ-TUR, S.; ZDELAR-TUK, M.; LJUBIĆ, B. B. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. **Veterinarski Arhiv**, Zagreb, v. 75, p. 67-73, 2005.

WEST, H. J. Effect on liver function of acetonaemia and the fat cow syndrome in cattle. **Research in Veterinary Science**, London, v. 48, p. 221-227, 1990.

XUNTA DE GALICIA. Agricultura e Ganderia. Disponível em: <http://www.xunta.es/galicia2003/gl/20_02.htm>. Acesso em fevereiro de 2009.

DETERMINAÇÃO DO PERFIL HIDROELETROLÍTICO E DO EQUILÍBRIO ÁCIDO-BÁSICO DE BEZERRAS HÍGIDAS DE TRÊS AOS TRINTA DIAS DE IDADE

Moisés Dias Freitas¹, Elias Jorge Facury Filho², Marcos Bryan Heinemman², Paulo Marcos Ferreira², Antônio Último de Carvalho², Andrey Lage² e Marina Guimarães Ferreira¹

1. Médico Veterinário, aluno (a) de doutorado em Ciência Animal, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.
2. Médico Veterinário, doutor, professor do curso de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.
E-mail: m_diasfreitas@yahoo.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, neonatos, patologia clínica.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF ELECTROLYTIC PROFILES AND ACID-BASE BALANCES OF HEALTHY DAIRY CALVES BETWEEN THREE AND THIRTY DAYS OF AGE

To assess electrolytic profiles and acid-base balances of newborn animals, venous blood samples of 36 healthy calves ($3/4$ Holstein x $31/32$ Gir) were collected. Then they were randomly distributed into one of the following six groups: 3, 7, 10, 14, 21, and 30 days of age. Concentrations of Na^+ , Cl^- , K^+ , HCO_3^- , and levels of pH, PaCO_2 , TCO_2 , BE, and AnGap were evaluated to determine electrolytic profiles and acid-base balances, respectively. Results revealed no differences ($p < 0,05$) between the groups in any variable, which contributed to the establishment of reference values for the components based on a 95% confidence interval. Furthermore, stable neonatal clinical conditions were observed.

KEYWORDS: Cattle; clinical pathology; newborns.

INTRODUÇÃO

Um dos principais entraves na bovinocultura leiteira é a criação de bezerras. Esta fase demanda grandes custos com mão de obra, alimentação, e, é quando ocorrem as maiores perdas por mortalidade, pois neste período os animais estão mais susceptíveis as doenças tais como: septicemias, pneumonias e distúrbios entéricos.

Ao nascerem os neonatos bovinos encontram-se, normalmente, em um quadro de acidose mista, devido às modificações inerentes ao início da vida extra-uterina. Esse perfil tende a se resolver durante as primeiras 24 horas de vida (MOORE, 1969; SZENCI et al., 1985). Alguns autores afirmam que este processo de adaptação e obtenção da homeostase só é alcançada plenamente entre o terceiro e o quinto dia de vida (ANGELOV et al., 1996; LISBÔA et al., 2002).

Após a fase de adaptação do recém-nascido, é de se supor que haja um estágio de equilíbrio, no qual, a concentração hidrogeniônica de eletrólitos seja mantida nos fluidos orgânicos como resultado da eficiência dos mecanismos homeostáticos (KANEKO et al., 2008). As informações sobre os possíveis efeitos da idade no período neonatal sobre o equilíbrio ácido-básico de bezerros são escassas na literatura e os resultados mostram-se, por muitas vezes, conflitantes. Autores como DIRKSEN et al. (1993), CARLSON (1997), RADOSTITS et al. (2007) e KANEKO et al. (2008) apresentam valores de referência obtidos de bovinos que são criados em condições de manejo, clima e nutrição diferentes às do Brasil. Além disso, a maioria dos autores não estabelecem valores destas variáveis específicas para bezerros até os trinta dias de idade.

Conhecer os valores de referência das variáveis eletrolíticas e hemogasométricas de bezerros neonatos, assim como as variações fisiológicas, que os mesmos podem sofrer no decorrer do primeiro mês de vida são necessários, pois podem fornecer ao clínico a informação dos parâmetros fisiológicos para as nossas condições de criação e, desta forma, estabelecer uma comparação mais adequada à interpretação dos resultados.

O objetivo desse trabalho foi de investigar o perfil eletrolítico e o equilíbrio ácido-básico de bezerras saudáveis, de três a 30 dias de idade, criadas a campo, em uma propriedade de exploração leiteira.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e animais:

Este experimento foi totalmente conduzido a campo, em uma propriedade particular localizada na bacia leiteira centro oeste de Minas Gerais, no município de Martinho Campos, no período da seca, entre os meses de junho a outubro de 2008.

As bezerras eram criadas no sistema de casinhas tropicais, recoberta com areia, em um piquete coberto com gramíneas do gênero *Cynodon* spp.. As bezerras eram dispostas de forma aleatória, sendo presas por meio de uma coleira e corrente, esta afixada ao chão. Os animais eram alimentados com quatro litros de leite, uma vez por dia no período da manhã, entre oito e 12 horas, no balde e, a partir do segundo dia de vida, concentrado *ad libitum*. A água era trocada uma vez por dia, no período da tarde, em baldes de oito litros, os mesmos utilizados no fornecimento do leite, pela manhã.

Foram utilizadas 36 bezerras, grau de sangue $\frac{3}{4}$ a $\frac{31}{32}$ Holandes-Gir, hígidias, com idades entre três e 30 dias, selecionados aleatoriamente. Estes animais foram subdivididos em seis grupos (com seis animais cada), tendo como critério a idade destes animais (3, 7, 10, 14, 21 e 30 dias de vida). Todos os animais selecionados eram submetidos ao exame físico e só eram utilizados animais que se encontrassem hígidios (DIRKSEN et al., 1993).

Coleta e análise dos dados de patologia clínica:

As amostras eram colhidas por meio de punção da veia jugular, seguindo as instruções de LISBÔA et al. (2002), e as análises realizadas imediatamente após a colheita. As análises do pH, pressão parcial de gás carbônico (PaCO_2), gás carbônico total (TCO_2), excesso de bases (EB), diferença aniônica (AGap) e das concentrações séricas de sódio (Na^+), potássio (K^+), cloro (Cl^-) e bicarbonato (HCO_3^-) foram realizadas no analisador clínico portátil (i-STAT®Co. – Abbott Laboratories – EUA), imediatamente após a coleta com a utilização de um cartucho Ec8+® (i-STAT®Co. – Abbott Laboratories - EUA), no qual foram instilados duas gotas de sangue sem anticoagulante para a realização das análises. O aparelho efetuava as análises e apresentava os resultados em aproximadamente dois minutos.

O mesmo sangue colhido também era utilizado para a análise do lactato sérico que foi realizado no analisador de lactato portátil (Accutrend Lactate® - Roche), imediatamente após a coleta com a utilização de uma fita reagente, na qual, fora instilada uma gota de sangue sem anticoagulante. O aparelho realizava a leitura e apresentava os resultados em aproximadamente um minuto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença ($p < 0,05$) nas variáveis estudadas, entre os momentos das coletas compreendidos entre os três e trinta dias de idade. Esses resultados estão de acordo aos encontrados na literatura, para bezerras saudáveis (MOORE, 1969; SZENCI et al., 1985; LISBÔA et al., 2002).

Os valores médios e respectivos desvios padrões para as concentrações séricas dos eletrólitos e parâmetros hemogasométricos de bezerras sadias com três dias de idade foram: Na^+ : $136,7 \pm 2,9$ mEq/L; Cl^- : $97,2 \pm 2,9$ mEq/L; K^+ : $4,3 \pm 0,16$ mEq/L; HCO_3^- : $31,2 \pm 1,6$ mEq/L; pH sanguíneo $7,42 \pm 0,23$; PaCO_2 : $47,8 \pm 2,8$ mm/Hg; TCO_2 : $32,5 \pm 1,6$ mEq/L; EB: $6,5 \pm 1,9$ mEq/L; AGap: $12,6 \pm 1,8$ mEq/L e lactato sérico: $2,3 \pm 0,5$ mmol/L.

Os valores médios e respectivos desvios padrões para as concentrações séricas dos eletrólitos e parâmetros hemogasométricos de bezerras sadias com sete dias de idade foram: Na^+ : $137,5 \pm 2,1$ mEq/L; Cl^- : $98,7 \pm 1,2$ mEq/L; K^+ : $4,3 \pm 0,1$; HCO_3^- : $30,3 \pm 1,4$ mEq/L; pH sanguíneo $7,41 \pm 0,01$; PaCO_2 : $48,1 \pm 2,0$ mm/Hg; TCO_2 : $31,8 \pm 1,7$ mEq/L; EB: $5,5 \pm 1,8$ mEq/L; AGap: $13,2 \pm 1,3$ mEq/L e lactato sérico: $2,0 \pm 0,3$ mmol/L.

Os valores médios e respectivos desvios padrões para as concentrações séricas dos eletrólitos e parâmetros hemogasométricos de bezerras sadias com dez dias de idade foram: Na^+ : $137,1 \pm 2,0$ mEq/L; Cl^- : $99,5 \pm 0,9$ mEq/L; K^+ : $4,8 \pm 0,1$ mEq/L; HCO_3^- : $30,5 \pm 1,7$ mEq/L; pH sanguíneo $7,42 \pm 0,05$; PaCO_2 : $47,5 \pm 3,4$ mm/Hg; TCO_2 : $31,8 \pm 1,6$ mEq/L; EB: $6,0 \pm 2,4$ mEq/L; AGap: $12,0 \pm 1,0$ mEq/L e lactato sérico: $2,1 \pm 0,6$ mmol/L.

Os valores médios e respectivos desvios padrões para as concentrações séricas dos eletrólitos e parâmetros hemogasométricos de bezerras sadias com 14 dias de idade foram: Na^+ : $137,0 \pm 1,7$ mEq/L; Cl^- : $99,8 \pm 1,8$ mEq/L; K^+ : $4,5 \pm 0,4$ mEq/L; HCO_3^- : $29,8 \pm 1,8$ mEq/L; pH sanguíneo $7,42 \pm 0,04$; PaCO_2 : $45,8 \pm 4,5$ mm/Hg; TCO_2 : $31,0 \pm 2,0$ mEq/L; EB: $5,4 \pm 1,9$ mEq/L; AGap: $12,2 \pm 1,6$ mEq/L e lactato sérico: $1,7 \pm 0,7$ mmol/L.

Os valores médios e respectivos desvios padrões para as concentrações séricas dos eletrólitos e parâmetros hemogasométricos de bezerras sadias com 21 dias de idade foram: Na^+ : $137,0 \pm 0,6$ mEq/L; Cl^- : $99,5 \pm 2,1$ mEq/L; K^+ : $4,6 \pm 0,3$ mEq/L; HCO_3^- : $30,0 \pm 0,8$ mEq/L; pH sanguíneo $7,41 \pm 0,02$; PaCO_2 : $47,7 \pm 3,0$ mm/Hg; TCO_2 : $31,3 \pm 0,8$ mEq/L; EB: $5,2 \pm 0,8$ mEq/L; AGap: $12,2 \pm 2,0$ mEq/L e lactato sérico: $2,2 \pm 0,5$ mmol/L.

Os valores médios e respectivos desvios padrões para as concentrações séricas dos eletrólitos e parâmetros hemogasométricos de bezerras sadias com 30 dias de idade foram:

Na^+ : $136,8 \pm 1,3$ mEq/L; Cl^- : $100,0 \pm 2,6$ mEq/L; K^+ : $4,2 \pm 0,32$ mEq/L; HCO_3^- : $28,78 \pm 1,3$ mEq/L; pH sanguíneo $7,41 \pm 0,04$; PaCO_2 : $45,9 \pm 3,5$ mm/Hg; TCO_2 : $30,2 \pm 1,5$ mEq/L; EB: $4,16 \pm 1,5$ mEq/L; AGap: $12 \pm 1,5$ mEq/L e lactato sérico: $1,9 \pm 0,4$ mmol/L.

Foram realizados análises de comparação de média das variáveis estudadas entre as idades e não foram evidenciadas diferenças ($p < 0,05$). Essa ausência de variação dos parâmetros estudados nos permitiu a possibilidade de agrupar os 36 dados individuais, oriundos de diferentes animais hígidos e desta forma criar novos valores de referência para as concentrações eletrolíticas e hemogasométricas de bezerras saudáveis criadas nas condições climáticas do Brasil, mais especificamente na região centro oeste, do Estado de Minas Gerais.

Os valores de referência foram criados com base no intervalo de confiança de 95%. Nas variáveis, analisadas podemos observar que os valores do intervalo de confiança são próximos, dando maior confiabilidade aos resultados (SAMPAIO, 1998).

Os valores do intervalo de confiança das concentrações séricas eletrolíticas e hemogasométricas foram: Na^+ : 136,41-137,65 mEq/L; K^+ : 4,36-4,58 mEq/L; Cl^- : 98,36-99,82 mEq/L; HCO_3^- : 29,55-30,60 mEq/L; pH: 7,399-7,42; PaCO_2 : 46,09-48,25 mm/Hg; TCO_2 : 30,9-32,02 mEq/L; EB: 4,84-6,08 mEq/L; AGap: 11,79-12,94 mEq/L e lactato sérico: 1,72-2,1 mmol/L. Importante ressaltar que estes valores estão contidos dentro da faixa de valores de referências citados na literatura, que possuem uma grande amplitude (DIRKSEN et al., 1993; CARLSON, 1997; KANEKO et al., 2008). Entretanto, no presente trabalho, essa amplitude de variação foi menor que os encontrados na literatura, o que permite interpretar os achados de patologia clínica de forma mais eficiente e traçar um tratamento e prognóstico mais fidedignos às nossas condições de criação e climáticas do Brasil.

CONCLUSÃO

Os valores estabelecidos no intervalo de confiança obtidos nesse trabalho, estão contidos dentro da faixa dos valores referidos na literatura, porém com amplitude menor e podem auxiliar na avaliação da interpretação do perfil hidroeletrólítico e ácido-básico de bezerras saudáveis e enfermas, criadas em nossas condições ambientais e de manejo, entre três e trinta dias de vida.

REFERÊNCIAS

- ANGELOV, G.; ANGELOV, A.; SLAVOV, E.; SPASSOVA, V. Age dynamics of acid-base balance and some biochemical indices in calves. **Veterinarski Arhiv**, Zagreb, v. 66, n. 5, p. 173-180, 1996.
- CARLSON, G. P. Fluid electrolyte and acid-base balance. In: KANECO, J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. London: Academic Press, 1997. p. 485-515
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger: Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, 419p
- KANECO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animal**. 6.ed. Elsevier Inc, 2008, 918p.
- LISBÔA, J. A. N.; BENESI, F. J.; LEAL, M. L. R. et al. Efeito da idade sobre o equilíbrio ácido-básico de bezerras sadias no primeiro mês de vida. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 39, p. 136-142, 2002.
- MOORE, W. N. Acid-base and electrolyte changes in normal calves during the neonatal period. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 30, n. 7, p. 1133-1138, 1969.
- NAGY, O.; SEIDEL, H.; KOVÁČ, G.; PAULÍKOVÁ, I. Acid-base balance and blood gases in calves in relation to age and nutrition. **Czech Journal of Animal Science**, Prague, v. 48, n. 2, p. 61–68, 2003.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; et al. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed., Philadelphia: Elsevier, 2007, p.2156.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada a experimentação animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 1998, 221p
- SZENCI, O.; TORÖS, I.; SÁRI, A. Changes of acid-base balance in Holstein-Friesian calves during the first two days after birth. **Acta Veterinaria Hungarica**, Budapest, v. 29, n. 2, p. 143-151, 1981.

PARAPARESIA ESPÁSTICA E HIPERREFLEXIA EM UM BOVINO ASSOCIADA A CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS: RELATO DE CASO

Lívia Maria Túlio¹, Marina Tie Shimada¹, Liege Giorgia Andrioli Martins², Andrea Cristina F. Meirelles¹, Roney Zimpel³, Amanda Furjan Rial³

1. Médica veterinária, mestre, professora do Curso de Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) *campus* Toledo. E-mail: maria.livia@pucpr.br (autor correspondente)
2. Médica veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) *campus* Toledo
3. Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) *campus* Toledo

PALAVRAS-CHAVE: Alteração neurológica, histopatologia, neoplasia.

ABSTRACT

HYPERREFLEXIA AND SPASTIC PARAPARESIS IN AN AGED COW AND THEIR ASSOCIATION TO SQUAMOUS CELL CARCINOMA: CASE REPORT

Neurological manifestations may be detected in routine clinical observations of ruminants with possible infections, injuries and neoplasias. An aged cow was attended to at the Veterinary Hospital in Pontifícia Universidade Católica, Toledo Campus, Paraná State. The animal presented severe nervous system alterations and spastic paraparesis. Its critical state lead to euthanasia. At necropsy, a large firm mass with deep ulcerations on the thoraco-lumbar region was evidenced. It was yellowish in colour and had infiltrated into the subcutaneous tissue and muscles in the lumbar vertebrae, along the orifice channel through which nerves pass. The spinal cord was compressed in ventral direction by the protuberance. Histopathological examination revealed islands of moderate anaplastic cells and cytoplasmic eosinophilic material. Horn pearls and intercellular junctions were scarce, whereas mitotic figures were frequent. Histological and animal data indicated the lesion was consistent with squamous cell carcinoma.

KEYWORDS: Histopathological, neoplasias, neurological manifestation.

INTRODUÇÃO

O carcinoma de células escamosas, também denominada de carcinoma epidermóide, carcinoma de células espinhosas ou carcinoma espinocelular, é uma neoplasia maligna originada dos queratinócitos da camada escamosa do epitélio da pele (FAVA et al., 2001; FERNANDES, 2007). É freqüente em caninos, felinos (WITHROW & MACEWEN, 1996; SOUZA et al., 2006), bovinos, equinos (SCOPEL et al., 2006; RAMOS et al., 2007) e relativamente incomum em ovinos, caprinos e suínos (MEUTEN, 2002). A sua incidência aumenta com a idade (FERNANDES, 2007). Um dos fatores que predispõe o desenvolvimento da neoplasia, independente da espécie, é a exposição prolongada aos raios ultravioleta associada a áreas despigmentadas e com escassez de pêlo. Esta é uma das neoplasias da pele e subcutâneo mais prevalente cuja localização no animal varia dependendo da espécie (FERREIRA et al., 2006; RAMOS et al., 2007). No bovino e equino ocorrem principalmente em junções muco-cutâneas como na pálpebra; em felinos, os locais comuns são: orelha, pálpebra e nariz; nos cães, na cabeça, abdômen, membros posteriores, períneo e dígitos. Outros locais comuns em bovinos incluem pele do dorso, vulva, globo ocular, base do chifre e períneo (KELLER et al., 2008).

A neoplasia inicia com uma alteração caracterizada por eritema, edema, descamação e evolui para formação de crostas e ulceração. Conforme ocorre a invasão da derme, o local torna-se firme e a área ulcerada amplia e aprofunda formando crateras. Este tipo é chamado de erosiva sendo a forma mais comum. Outro tipo é o produtivo que possui aspecto de couve-flor geralmente com superfície ulcerada e hemorrágica (FERNANDES, 2007). As infecções bacterianas secundárias são responsáveis pela exsudação purulenta na superfície da massa tumoral (MEUTEN, 2002). Na histologia, o carcinoma de células escamosas apresenta ilhas e cordões de células epiteliais neoplásicas com grau variável de diferenciação escamosa. Nos tumores bem diferenciados distinguem-se facilmente as pérolas córneas e as pontes intercelulares. Já nos diferenciados estas estruturas são menos comuns. Nos indiferenciados verificam-se células escamosas grandes e ovóides acompanhada de queratinização intracitoplasmática restrita a algumas células. As figuras de mitose são comuns em todos os tipos sendo mais freqüentes nos pobremente diferenciados (WEISS & FREZE, 1974). Quanto ao comportamento, os carcinomas da pele são considerados localmente invasivos e com baixo potencial metastático (YAGER & SCOOT, 1993).

Os relatos de casos são importantes informações para se somarem aos dados epidemiológicos, desta forma, a presente descrição refere-se a um caso de carcinoma de

células escamosas em um bovino da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – *Campus Toledo*.

MATERIAL E MÉTODOS

Uma fêmea bovina holandesa preto e branca, com aproximadamente oito anos de idade e 500kg, do rebanho didático do hospital veterinário da PUCPR *Campus Toledo*, apresentou dificuldade de locomoção descrita pelo funcionário responsável como andar cambaleante, com evolução de dois dias. Ao exame clínico, o animal não foi capaz de assumir posição de estação voluntariamente e apresentava-se em decúbito esternal permanente. À inspeção e, posterior palpação notou-se uma projeção circular, com diâmetro aproximado de 4 cm, de consistência firme e ulcerada, localizada na coluna vertebral, região tóraco-lombar. Ao exame físico, não houve demonstração de dor à manipulação da lesão, os parâmetros fisiológicos mostraram-se normais, com exceção dos movimentos ruminais que estavam diminuídos em frequência e intensidade, o estado de condição corporal era bom. Ao exame neurológico foi demonstrada paraparesia espástica e hiperreflexia de membros pélvicos, com sensibilidade superficial diminuída caudalmente à lesão; não houve alteração em membros torácicos e a paciente fazia tentativas de locomoção apoiada sobre os mesmos. Não houve alteração no hemograma e na pesquisa de hemoparasitas. A região em que se encontrava a lesão externa foi radiografada, mas os resultados foram inconclusivos.

O animal identificado pelo brinco número 02 estava no rebanho há pelo menos quatro anos, possuía *status* sanitário livre de brucelose e tuberculose, pertencia à categoria de vaca vazia e seca, alimentava-se diariamente de silagem de milho, pasto cultivado de *tifton*, além de sal mineral e água à vontade.

O tratamento instituído foi dexametasona na dose de 20 mg, SID, via intravenosa. Após 72 horas da consulta inicial, devido à ausência de resposta ao tratamento, associada à piora no quadro geral da paciente, optou-se pela eutanásia.

O animal foi encaminhado à necropsia na qual foi coletada fragmentos de tecido de diversos órgãos que foram processados conforme técnica de rotina para histopatologia. Os tecidos montados em lâmina foram analisados no microscópio de luz em diversos aumentos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diagnóstico da neoplasia foi realizado associando a localização do tumor, a característica de pelagem do local e as alterações macroscópica e microscópica da lesão como consistente com carcinoma de células escamosas. O bovino do presente caso apresentava pelagem branca na região dorsal onde se desenvolveu a neoplasia. A área despigmentada é desprotegida de pigmento melânico que forma um tipo de escudo sobre o núcleo celular e reduz a ocorrência de mutações decorrente da ação dos raios ultravioleta. As mutações são responsáveis pelo desenvolvimento das neoplasias. Além disso, o dorso é um local de maior incidência de raios solares (KUSEWITT & RUSH, 2007; KELLER et al., 2008). Quanto à idade, o animal tinha 8 anos uma faixa etária que acomete a grande maioria dos casos também descritos na literatura. As fêmeas, como no caso relatado, são as mais afetadas pela neoplasia (RAMOS et al., 2007; KELLER et al., 2008).

Na necropsia, a principal alteração estava confinada ao dorso onde havia a lesão. Um exame minucioso foi realizado no local e observou-se um aumento de volume firme com pequenas áreas de consistência mole relacionadas com necrose. Havia também uma área ulcerada já com infecção bacteriana secundária. À incisão foi notada formação de uma massa levemente amarelada e firme que infiltrava o tecido subcutâneo e invadia a musculatura da região lombar. À medida que a musculatura foi dissecada verificou-se que o tecido neoplásico invadiu o canal vertebral pela abertura de passagem dos nervos. Ao abrir o canal verificou-se uma massa lisa, com as mesmas características observadas no dorso, fazendo uma protuberância e comprimindo aproximadamente 60% da medula espinhal em direção ventral. A avaliação microscópica do fragmento da massa neoformada do dorso, da musculatura e do canal vertebral apresentava as mesmas características. De acordo com a histopatologia o carcinoma foi classificado como diferenciado. Este tipo apresenta ilhas de células com núcleo oval e nucléolos grandes únicos a múltiplos e figuras de mitose frequentes. As pérolas córneas e as junções intercelulares são menos comuns e verificam-se células com citoplasma contendo material eosinofílico (RAMOS et al., 2007). Estas características microscópicas foram predominantes na análise microscópica da neoplasia. A compressão da medula espinhal pela massa verificada na vértebra L1 ocasionou degeneração e necrose de corpos de neurônios o que associa com os sinais neurológicos observados de paraparesia espástica e hiperreflexia.

A presença e gravidade dos sinais clínicos dependem de fatores como o segmento da medula em que está a lesão bem como a sua extensão e profundidade. Alterações nos membros pélvicos, sem alterações nos torácicos, indicam lesão tóraco-lombar (RIET-CORREA et al., 2002).

As metástases não foram verificadas no presente caso. De acordo com a literatura os carcinomas de pele são altamente invasivos, como foi verificado neste caso, porém, com baixo poder metastático (YAGER & SCOOT, 1993).

CONCLUSÃO

No presente caso verificou-se a compatibilidade dos sinais clínicos com o local da invasão neoplásica no canal medular da região lombar verificada na necropsia. As características microscópicas do tecido neoplásico associada condição de pelagem do animal e do local do desenvolvimento do tumor auxiliaram no diagnóstico de carcinoma de células escamosas.

REFERÊNCIAS

FAVA, C. D.; VERÍSSIMO, C. J.; RODRIGUES, C. F. C.; CUNHA, E. A.; UEDA, M.; MAIORKA, P. C.; D' ANGELINO, J. L. Ocorrência de squamous cell carcinoma in sheep from a farm in São Paulo State, Brazil. **Arquivo do Instituto de Biologia de São Paulo**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 35-40, 2001.

FERNANDES, C. G. Neoplasias em ruminantes e eqüinos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**, 3 ed. Santa Maria: Palloti, p. 650-656, 2007.

FERREIRA, I.; RAHAL, S. C.; FERREIRA, J.; CORRÊA, T. P. Terapêutica no carcinoma de células escamosas cutâneo em gatos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 1027-1033, 2006.

KELLER, D.; RÖNNAU, M.; GUSMÃO, M. A.; TORRES, M. B. A. M. Casuística de carcinoma epidermóide cutâneo em bovinos do Campus Palotina da UFPR. **Acta Scientiae Veterinarie**, Porto Alegre, v. 36, n. 2, p. 155-159, 2008.

KUSEWITT, D. F.; RUSH, L. J. Neoplasia and tumor biology. In: MacGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary disease**, 4 ed. St Louis: Mosby Elsevier, p. 253-298, 2007.

MEUTEN, D. J. **Tumors in domestic animals**. 4.ed. Blackwell Publishing Professional, 28p. 2002.

RAMOS, A. T.; NORTE, D. M.; ELIAS, F.; FERNANDES, C. G. Carcinoma de células escamosas em bovinos, ovinos e equinos: estudo de 50 casos no sul do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal Research Animal Science**, São Paulo, v. 44, supl., p. 5-13, 2007.

RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G.; SCHILD, A. L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 22, p., 161-168, 2002.

SCOPEL, D.; SPADER, M. B.; GUIM, T. N.; DANIELI, V. M.; FERNANDES, C. G. Estudo retrospectivo da casuística de carcinoma de células escamosas em felinos, bovinos, caninos, eqüinos e ovinos entre os anos de 2002 e 2006 no LRD/UFPeL. CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16. **Anais...** Disponível em: < http://www.ufpel.tche.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA_00890.pdf>. Acesso em: jul. 2009.

SOUZA, T. M.; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 555-560, 2006.

YAGER, J. A.; SCOOT, D. W. The skin and appendages. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, p. 531-738, 1993.

WEISS, E.; FREZE, K. Tumors of the skin. **Bulletin of the World Health Organization International. Histological Classification of Tumors of Domestic Animals**, v.50, n. 1-2, p. 79-100, 1974.

WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996, p. 4-16.

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO SULFETO DE HIDROGÊNIO RUMINAL UTILIZANDO TUBOS COLORIMÉTRICOS EM BOVINOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE

Paulo Henrique Jorge da Cunha¹, Peres Ramos Badial², José Paes de Oliveira Filho², Didier Quevedo Cagnini², Mariana Fontanetti Marinheiro², Ana Claudia Gorino², Alexandre Secorun Borges²

1- Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia (Campus II), Caixa postal 131, Goiânia - GO. CEP: 74001-970.

E-mail: phcunhavet@yahoo.com.br (autor correspondente)

2 - Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP - Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu - SP, Brasil. CEP: 18618-000.

PALAVRAS-CHAVE: Enxofre, gás sulfídrico ruminal, Nelore, polioencefalomalacia.

ABSTRACT

EVALUATION OF RUMINAL HYDROGEN SULFIDE CONCENTRATIONS BY DETECTOR TUBE METHOD IN EXTENSIVELY REARED CATTLE

Ingestion of high sulphur diets may cause polioencephalomalacia and produce excessive ruminal hydrogen sulfide (H₂S). This study determines sulfide concentrations in 4 extensively reared Nelore calves by detector tube method, which were assessed every 96 hours during 40 days, totalizing ten evaluations per animal. Results revealed that ruminal sulfide hydrogen values were inferior to 100 ppm. Furthermore, we observed that Nelore calves kept on *Brachiaria decumbens* pasture with 0,15% sulphur in the dry matter presented maximum H₂S concentration (100 ppm).

KEYWORDS: Hydrogen sulfide gas, Nelore, polioencephalomalacia, sulphur.

INTRODUÇÃO

O sulfeto de hidrogênio (gás sulfídrico) é um produto normal do metabolismo da microbiota ruminal, mas quando os bovinos consomem dietas com alto teor de enxofre ocorre

produção excessiva deste gás (H_2S) no rúmen podendo ocasionar a polioencefalomalacia (PEM) (GOULD, 2000).

A PEM é uma encefalopatia degenerativa dos ruminantes não apresentando etiologia única, pois vários fatores têm sido associados à sua ocorrência, tais como, alterações no metabolismo da tiamina, intoxicação por chumbo, privação hídrica e/ou intoxicação por cloreto de sódio, ingestão excessiva de enxofre (GOULD, 2000), infecção pelo herpesvirus bovino tipo 5 e intoxicação por *Phalaris* spp. (BARROS et al., 2006).

A ingestão de altos níveis de enxofre é a causa mais comum de PEM nos Estados Unidos da América (EUA) (GOULD, 2000). No Brasil, com exceção de um relato de PEM no Rio Grande do Sul (TRAVERSO et al., 2001), as demais descrições em diversos Estados brasileiros (MS, SP, RS, MG, GO, MT, PE, PB, PA) não estabeleceram a participação do enxofre na etiologia desta encefalopatia em bovinos a pasto (LIMA et al., 2005).

O presente trabalho objetivou avaliar o uso da técnica de dosagem do sulfeto de hidrogênio ruminal utilizando tubos colorimétricos e determinar a concentração do referido composto em bovinos Nelore criados em pasto de *Brachiaria decumbens* (*B. decumbens*).

MATERIAL E METODOS

O experimento foi realizado no município de Paulistânia, Estado de São Paulo, Brasil, entre os meses de janeiro a março de 2008. Foram avaliados quatro bovinos da raça Nelore com aproximadamente 16 meses e com peso médio 350 kg, mantidos em piquete com *B. decumbens*.

As amostras do capim foram colhidas usando um quadrado de 0,25 m², o qual foi lançado aleatoriamente 10 vezes em diferentes pontos do piquete. A análise bromatológica (35,85% matéria seca; 8% proteína bruta; 2,47% extrato etéreo; 8,33% minerais; 34,01% fibra bruta; 48,18% extrato não nitrogenado; 60,26% nutrientes digestíveis totais; 72,79% fibra detergente neutra; 39,11% fibra detergente ácida) da pastagem foi realizada no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ/UNESP/Botucatu). As análises de elementos minerais (13 g/kg de nitrogênio, 2,9 g/kg de fósforo, 18 g/kg de potássio, 3 g/kg cálcio, 1,5 g/kg de magnésio, 1,5 g/kg de enxofre, 6 mg/kg de boro, 10 mg/kg de cobre, 108 mg/kg de ferro, 99 mg/kg de manganês e 58 mg/kg de zinco) do capim e a dosagem de enxofre da água (0,65 mg/L) do poço semi-artesiano foram conduzidas, respectivamente, nos Laboratórios de Nutrição Mineral de Plantas e de Fertilizantes e Corretivos da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP/Botucatu.

O período experimental compreendeu 40 dias, sendo que as dosagens de gás sulfídrico ruminal foram realizadas com intervalos de 96 horas, totalizando 10 diferentes momentos (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9 e M10) avaliados por animal.

A técnica utilizada para a determinação da concentração de gás sulfídrico ruminal foi adaptada de GOULD et al. (1997) com as modificações descritas a seguir.

Inicialmente foi realizada a tricotomia da fossa paralombar esquerda e anti-sepsia com iodopovidona (PVPI). A punção ruminal foi realizada no ponto médio da porção mais dorsal da fossa paralombar esquerda utilizando-se agulha do cateter intravenoso 14G sem a cânula externa de teflon. Em seguida, foi encaixado ao conector da agulha um equipo intravenoso com 15 cm de comprimento, cortando e desprezando-se a extremidade com o gotejador. A ponta cortada do equipo adaptado foi acoplada ao tubo colorimétrico de dosagem de gás sulfídrico (modelo 120 SF, Sensidyne[®], Florida, USA), previamente inserido na bomba manual de vácuo (modelo AP-20S, Sensidyne[®], Florida, USA). As mensurações foram realizadas de acordo com o manual do fabricante da bomba de vácuo, padronizando em 100 mL de gás para valores entre 25 a 1.000 ppm de sulfeto de hidrogênio com tempo de amostragem de 1,5 minutos.

Para avaliação do pH ruminal (Phmetro modelo pH100, Phtek[®], São Paulo, Brasil), os primeiros 200 mL foram desprezados para evitar contaminação pela saliva, sendo colhidos aproximadamente 100 mL de cada animal (DIRKSEN et al., 1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores detectados do gás sulfídrico ruminal foram baixos e inferiores a 100 ppm, não sendo encontrado na literatura nacional valores de referência para este composto em bovinos Nelore criados extensivamente utilizando a técnica descrita nesse estudo. GOULD et al. (1997) e NILES et al. (2002) utilizaram metodologia semelhante de dosagem de H₂S ruminal e consideraram como valores normais para o H₂S ruminal concentrações inferiores a 500 ppm. Entretanto, este valor foi estabelecido por GOULD et al. (1997) a partir de mensurações realizadas em bezerros da raça Holandesa alimentados com feno de alfafa e mantidos confinados.

Em relação ao consumo de enxofre pelos bovinos Nelore, considerou-se que a ingestão da forragem foi de 2,5% do peso vivo representando uma ingestão de 0,15% de enxofre na matéria seca. Considerando que um bovino de 350 kg mantido em temperatura ambiente de 28°C deve ingerir 37 litros de água por dia (GOULD, 2000) e que a concentração de enxofre obtida na água foi de 0,65 mg/L, estimou-se um consumo de 24 mg de enxofre por

dia (0,0024% de enxofre na matéria seca). Desta forma, os bovinos ingeriram um total de 0,1524% de enxofre na matéria seca, estando no nível recomendado (0,15%) e abaixo do considerado tóxico (0,40%) pelo NRC (2005).

Os valores de pH ruminal variaram de 6,5 a 7,5, estando dentro da normalidade para bovinos mantidos a pasto (DIRKSEN et al., 1993). No rúmen, os íons sulfeto são encontrados principalmente na fase gasosa como sulfeto de hidrogênio (gás sulfídrico) e na líquida como anion hidro-sulfeto, sendo que o pH ruminal influencia a proporção da distribuição entre estas duas formas (GOULD, 2000). Assim, um dos fatores que pode ter favorecido a baixa produção de gás sulfídrico ruminal pelos bovinos Nelore avaliados foi o pH do rúmen superior a 6,5, concordando com GOULD (2000), pois, quanto mais próximo de 7,0, menor a concentração de sulfeto de hidrogênio ruminal

A técnica de dosagem de sulfeto de hidrogênio ruminal pelos tubos colorimétricos é uma ferramenta extremamente útil para monitorar situações de risco e auxiliar no diagnóstico definitivo da PEM por enxofre. A utilização desta metodologia associada à análise de enxofre na dieta, pastos, água e suplementos (GOULD, 2000) estabeleceria a participação do enxofre nos casos de PEM no Brasil (LIMA et al., 2005), bem como auxiliaria no diagnóstico diferencial de outras causas de encefalopatias (BARROS et al., 2006).

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, pode-se concluir que os bovinos Nelore mantidos em pasto de *Brachiaria decumbens* com 0,15% de enxofre na matéria seca apresentam concentração máxima de 100 ppm de gás sulfídrico ruminal.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Programa Institucional de Capacitação Docente e Técnica (PICDT) de doutorado concedida ao primeiro autor e pela bolsa Programa de Demanda Social (DS) de mestrado concedida ao segundo autor. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade ao último autor e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP Processo n°. 2006/05836-6) pelo apoio financeiro e concessão de bolsa para o terceiro (Processo n°.2007/05008-9) e quarto autores (Processo n°.2009/00763-9).

REFERÊNCIAS

- BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS, A. A. Polioencefalomalacia (necrose cerebrocortical). In: ____ **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. Montes Claros, MG: Vallée. Cap. 33, p.166-171, 2006.
- DIRKSEN G., GRUNDER H. D., STOBBER M. **Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 419 p., 1993.
- GOULD D. H., CUMMINGS B. A., HAMAR D.W. In vivo indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, n. 9, p.72-76, 1997.
- GOULD, D.H. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. In: OSWEILER, G. D.; GALEY, F.D. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice: Toxicology**, Philadelphia, v. 16, n. 3, p. 481-496, 2000.
- LIMA, E. F., RIET-CORREA, F., TABOSA, I. M., DANTAS, A. F. M., MEDEIROS, J. M. LIMA, E. F. Polioencefalomalacia em caprinos e ovinos na região semi-árida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 1, p.9-14, 2005.
- NILES G. A., MORGAN S., EDWARDS W. C., LALMAN D. Effects of dietary sulfur concentrations on the incidence and pathology of polioencephalomalacia in weaned beef calves. **Veterinary & Human Toxicology**, Manhattan, v. 44, n.2, p. 70-72, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Mineral tolerance of animals**. 2.ed. Washington, DC: National Academy of Sciences. 385 p., 2005.
- TRAVERSO, S. D. Polioencefalomalacia em bovinos leiteiros no Rio Grande do Sul suplementados com enxofre. In: ANAIS DO ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 10, 2001. **Anais...** Pirassununga. p.72, 2001.

DERMATOFILOSE: RELATO DE CASO EM BOVINOS DA RAÇA NELORE CRIADOS EM REGIME DE CONFINAMENTO

Paulo Henrique Jorge da Cunha¹; Amanda Keller Siqueira³; José Paes de Oliveira Filho²;
Peres Ramos Badial²; Andreza Pimenta de Oliveira²; Fernando José Paganini Listoni³; Márcio
Garcia Ribeiro³; Alexandre Secorun Borges²

1- Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus
Samambaia (Campus II), Caixa postal 131, Goiânia - GO. CEP: 74.001-970.

E-mail: phcunhavet@yahoo.com.br (autor correspondente)

2- Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP - Campus de
Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu - SP, Brasil. CEP: 18.618-000.

3- Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
UNESP – Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu - SP, Brasil. CEP: 18.618-000.

PALAVRAS-CHAVE: Dermatite, *Dermatophilus congolensis*, doenças infecciosas

ABSTRACT

DERMATOPHILOSIS IN FEEDLOT NELORE CATTLE: CASE REPORT

Dermatophilosis is a contagious zoonotic skin disease caused by *Dermatophilus congolensis*. It affects mainly cattle, sheep and horses, but also goats and pigs. This study describes clinical and epidemiological characteristics as well as diagnosis and treatment of dermatophilosis in 4 Nelore feedlot-raised cattle from Botucatu, São Paulo. Skin samples of lesions were submitted to cytological, microbiological, and histopathological examination, which confirmed the diagnosis of dermatophilosis. Animals were treated with oxitetracyclin (20 mg/kg BW every 48 hours).

KEYWORDS: Dermatitis, *Dermatophilus congolensis*, infectious diseases.

INTRODUÇÃO

A dermatofilose é uma enfermidade infecto-contagiosa, de caráter zoonótico (BURD et al. 2007), aguda ou crônica, de distribuição mundial, que acomete diversas espécies de mamíferos, principalmente bovinos, equinos e ovinos, além de caprinos e suínos (BIRGEL JUNIOR et al., 2006), causada por *Dermatophilus congolensis* (*D. congolensis*), bactéria

Gram positiva, filamentosa, aeróbia facultativa, do grupo dos actinomicetos (RADOSTITIS et al., 2007).

Os animais assintomáticos são os principais reservatórios da infecção, pois o agente é oportunista e está presente na pele íntegra, penetrando e colonizando a epiderme mediante condições predisponentes (RIET-CÔRREA et al., 2007; SCOTT, 2007). O microrganismo persiste em crostas secas, podendo sobreviver por mais de 42 meses no ambiente. A transmissão ocorre por contato direto com o hospedeiro, por fômites contaminados, ou por ectoparasitas e insetos sugadores (YERUHAM et al., 2000).

A presença de alta umidade, nutrição deficiente, estresse e traumas contribuem para com maior prevalência da doença. A dermatofilose cutânea, também denominada “estreptotricose”, se caracteriza principalmente por lesões exsudativas, não pruriginosas, com formação de crostas e escamas, localizadas ou disseminadas, que se destacam com facilidade (RIET-CÔRREA et al., 2007; SCOTT, 2007).

A dermatofilose pode causar severas perdas econômicas, pois provoca decréscimo no ganho de peso, redução das taxas reprodutivas, da produção de leite e até a morte de vários animais (YERUHAM et al., 2000).

O presente relato descreve aspectos clínicos, epidemiológicos, diagnósticos e o tratamento de dermatofilose em bovinos da raça Nelore, criados sob regime de confinamento em Botucatu, São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Em julho de 2008, foram avaliados clinicamente quatro bovinos machos da raça Nelore, com oito meses de idade. Os animais integravam um lote de bezerros recém desmamados, criados confinados em propriedade localizada no município de Botucatu, São Paulo, e apresentavam há três semanas lesões dermatológicas.

Amostras das lesões para os exames citológicos foram removidas e acondicionadas em placa de Petri estéril e enviadas ao Serviço de Diagnóstico Microbiológico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu, SP. Os fragmentos foram macerados com salina 0,9% estéril em capela de fluxo laminar. Após serem fixados, as lâminas do sobrenadante foram coradas por Gram e Giemsa.

Para confirmação diagnóstica, o mesmo material extraído das crostas foi submetido a cultura microbiológica em ágar sangue bovino (AS) desfibrinado 5% e ágar MacConkey, incubado a 37°C em condições de aerobiose e microaerofilia (5 a 10% de CO₂), durante 72

horas. Foram realizados esfregaços das colônias características obtidas no ágar sangue, os quais foram corados por Gram.

Foram realizadas duas biópsias incisionais das lesões de dois animais, incluídas em parafina, visando exames histopatológicos. Seções histológicas dos blocos de parafina foram realizadas com espessura de cinco micras e coradas por hematoxilina e eosina (HE), para posterior exame sob microscopia óptica de luz.

Após estes procedimentos os animais foram submetidos ao tratamento com quatro aplicações intramusculares de oxitetraciclina, 20 mg por kg de peso vivo, a cada 48 horas. Ao final do tratamento, todos os animais apresentaram melhora do quadro clínico, não sendo observada remissão dos sinais clínicos após 90 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame físico, os animais apresentavam lesões crostosas, elevadas, espessas, não pruriginosas e de coloração acastanhada. Quando sujeitas a tração estas se desprendiam com facilidade, revelando úlceras rosadas com secreção amarelada. As crostas apresentavam superfície inferior côncava sendo atravessadas por tufo de pêlos, caracterizando aspecto de escova. As lesões localizavam-se na região da cabeça, principalmente chanfro e orelhas, e pescoço. Esses achados são semelhantes aos descritos por TOPA et al. (2001), que associaram a proliferação das lesões e o envolvimento de grandes porções da pele ao desenvolvimento do microrganismo em ambientes quentes e úmidos, coincidente com a região e a época do ano em que foi realizado o presente relato.

A alteração brusca do regime alimentar (desmame) e a presença de elevadas taxas de precipitação pluviométrica em julho nesta região do Estado de São Paulo, podem ser considerados fatores predisponentes para a ocorrência da dermatofilose neste grupo de animais. O clima extremamente úmido, aliado a alto índice pluviométrico pode afetar a integridade do extrato córneo, provocando tumefação e destacamento das células, removendo a película de gordura protetora, exercendo efeito de lavagem ou arrastamento da mesma (TOPA et al., 2001). O estresse do desmame pode levar ao desequilíbrio das barreiras superficiais de defesa imunológica e inespecíficas (pH, ácidos graxos e microbiota) quebrando a integridade da pele (RIET-CÔRREA et al., 2007). A associação destes fatores pode predispor a invasão do tecido cutâneo por *D. congolensis*.

A avaliação microscópica do sobrenadante revelou ao Gram presença de microrganismos filamentosos, septados, Gram positivos, com padrão de “trilho de trem”. Ao Giemsa foram visualizadas estruturas filamentosas basofílicas, septadas e muitas vezes

ramificadas, associadas com células epiteliais, material amorfo e discreto infiltrado neutrofílico. Estes achados foram considerados sugestivos de infecção por *D. congolensis*.

A cultura microbiológica revelou, após 48 horas de incubação, em ambas as atmosferas de cultivo, colônias pequenas (1mm), amareladas, hemolíticas, rugosas e firmemente aderidas ao meio. Esfregaços realizados a partir das colônias obtidas por cultura demonstraram bactérias Gram positivas, filamentosas, septadas, confirmando a presença de *Dermatophilus*. Não foi verificado isolamento bacteriano no ágar MacConkey.

Os resultados microbiológicos aliados aos achados histopatológicos, de hiperqueratose com acúmulo de leucócitos, principalmente neutrófilos em meio às lamelas córneas, presença de inúmeros filamentos multi-septados, delicados e outros mais grosseiros, fragmentos de epiderme ligeiramente acantótica com discreta espongiose e derme superficial com discreto processo inflamatório linfo-histiocitário, confirma a suspeita clínica de dermatofilose

A melhora do quadro clínico observada nos animais relatados, submetidos ao tratamento com oxitetraciclina coincide com os resultados encontrados por Nunes et al. (1977), que apesar de preconizarem a associação de estreptomicina e espirimicina como tratamento de escolha para dermatofilose, também obtiveram índice de cura de 100%, em 10 bovinos tratados com administração intramusculares de cloridrato de tetraciclina (6,6 mg porKg de peso vivo) durante três dias consecutivos.

CONCLUSÃO

O exame citológico do sobrenadante permitiu a identificação de microrganismos de morfologia característica, que em associação com os achados clínicos seriam suficientes para o diagnóstico da enfermidade. Os exames microbiológico e histopatológico permitiram a identificação precisa e inequívoca do microrganismo envolvido (*D. congolensis*).

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Programa Institucional de Capacitação Docente e Técnica (PICDT) de doutorado concedida ao primeiro autor e pela bolsa Programa de Demanda Social (DS) de mestrado concedida ao quarto autor. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade ao penúltimo e último autores e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (Processo n°. 2006/05836-6) e concessão de bolsa para o segundo (Processo n°.2008/51040-4) e terceiro (Processo n°.2007/05008-9) autores.

REFERÊNCIAS

- BIRGEL JUNIOR, E. H.; DAGLI, M. L. Z.; BENITES, N. R.; GOMES, V.; KIMURA, K. C.; MELVILLE, P. A.; SOUZA, R. M.; POGLIANI, F. C.; BIRGEL, D. B.; RAIMONDO, R. F. S. Ocorrência da dermatofilose (*Dermatophilus congolensis*) em suínos criados no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 3, p. 361-364, 2006.
- BURD, E. M.; JUZYCH, L. A.; RUDRIK, J. T.; HABIB, F. Pustular dermatitis caused by *Dermatophilus congolensis*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 45, n. 5, p. 1655-1658, 2007.
- NUNES, L. P.; SILVA, P. R. F.; MACHADO, O. P.; LAIR, J. Observações clínicas sobre quatro diferentes tratamentos da dermatofilose bovina. **Anais da E.A.V da U.F.G.**, Goiânia, v. 1., p. 78-87, 1977.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary medicine. A textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Saunders Elsevier: USA. 2156p., 2007.
- SCOTT, D. W. **Atlas of farm animal dermatology**. USA: Blackwell Publishing. 252 p., 2007.
- TOPA, M. C.; ISEENSEE, K.; THOMPSON, G. Um caso de dermatofilose em bovino. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 96, n. 538, p. 89-93, 2001.
- YERUHAM, I.; ELAD, D.; PERL, S. Economic aspects of outbreaks of dermatophilosis in first-calving cows in nine herds of dairy cattle in Israel. **Veterinary Record**, London, v. 146, n. 10, p. 695-698, 2000.

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DO HERPESVIRUS BOVINO TIPO 5 EM UM BOVINO CONFINADO ASSOCIADO COM DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL LABORATORIAL DE OUTRAS CAUSAS DE POLIOENCEFALOMALACIA

Paulo Henrique Jorge da Cunha¹, Diego José Zanzarini Delfiol², Didier Quevedo Cagnini², Peres Ramos Badial², José Paes de Oliveira Filho², Giovane Olivo², Rogério Martins Amorim², Alexandre Secorun Borges²

1- Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia (Campus II), Caixa postal 131, Goiânia - GO. CEP: 74001-970.

E-mail: phcunhavet@yahoo.com.br (autor correspondente)

2 - Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP - Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu - SP, Brasil. CEP: 18618-000.

PALAVRAS-CHAVE: Diagnóstico laboratorial, meningoencefalite necrotizante, sistema intensivo.

ABSTRACT

DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF POLIOENCEPHALOMALACIA DUE TO BOVINE HERPESVIRUS TYPE 5 IN FEEDLOT CATTLE

This study investigates a case of necrotizing meningo-encephalitis caused by bovine herpesvirus in São Paulo. The feedlot-raised calf presented cerebrocortical degeneration. Its ruminal hydrogen sulfide concentrations as well as those of nine healthy animals raised in similar conditions were inferior to 1,000 ppm. Cerebral spinal fluid analysis revealed pleocytosis. Sulphur concentrations in the water and diet were low, as well as hepatic and renal lead concentrations. Laboratory diagnoses of rabies were negative. The main histopathological evidence was telencephalic grey matter necrosis. Bovine herpesvirus type 5 DNA was detected by PCR analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded brain tissue samples.

KEYWORDS: Intensive system, laboratory diagnosis, necrotizing meningo-encephalitis.

INTRODUÇÃO

A polioencefalomacia (PEM) é uma encefalopatia degenerativa dos ruminantes não apresentando uma única etiologia, pois vários fatores têm sido associados à sua ocorrência, tais como, alterações no metabolismo da tiamina, intoxicação por chumbo, privação hídrica e/ou intoxicação por cloreto de sódio, ingestão excessiva de enxofre (GOULD, 2000), infecção pelo herpesvirus bovino tipo 5 (BoHV-5) e intoxicação por *Phalaris* spp. (BARROS et al., 2006).

A meningoencefalite causada por BoHV-5 é uma doença infecciosa aguda e altamente letal, descrita em vários países, causada pelo BoHV-5, um vírus DNA de fita dupla, envelopado, pertencente à família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae (BARROS et al., 2006).

O diagnóstico do BoHV-5 pode ser estabelecido pelos resultados da análise do líquido cefalorraquidiano (ISERNHAGEN, 2005), pelos achados histopatológicos (RISSI et al, 2006) e, principalmente, pela detecção do DNA viral por meio da técnica de PCR em diferentes porções do sistema nervoso central (CLAUS et al., 2005).

O presente trabalho objetivou relatar os achados clínicos e laboratoriais de um bovino confinado com polioencefalomalacia causada por herpesvírus bovino tipo 5.

MATERIAL E MÉTODOS

Um bovino mestiço com aproximadamente 300 kg de peso vivo, em confinamento por um período de 36 dias e pertencente a um lote de 140 animais de um total de 17.000 bovinos confinados, foi atendido em uma propriedade rural no Estado de São Paulo.

O animal foi submetido ao exame físico e específico do sistema nervoso central na propriedade. Neste bovino e em mais nove do mesmo lote foi realizada a dosagem do sulfeto de hidrogênio ruminal. A técnica utilizada foi adaptada de GOULD et al. (1997) com as modificações descritas a seguir. Inicialmente foi realizada a tricotomia da fossa paralombar esquerda e anti-sepsia com iodopovidona (PVPI), sendo que a punção ruminal foi realizada no ponto médio da porção mais dorsal da fossa paralombar esquerda utilizando-se agulha do cateter intravenoso 14G sem a cânula externa de teflon. Em seguida, foi encaixado ao conector da agulha um equipo intravenoso com 15 cm de comprimento, cortando e desprezando-se a extremidade com o gotejador. A ponta cortada do equipo adaptado foi acoplada ao tubo colorimétrico de dosagem de gás sulfídrico, que já estava previamente inserido na bomba manual de vácuo (modelo AP-20S, Sensidyne®, Florida, USA). As mensurações foram realizadas de acordo com o manual do fabricante da bomba de vácuo,

padronizando em 100 mL de gás para valores entre 1.000 a 40.000 ppm (modelo 120 SH, Sensidyne[®], Florida, USA) de sulfeto de hidrogênio com tempo de amostragem de 1,5 minutos.

A dieta dos bovinos era constituída por 9,4% de torta de algodão, 12,1% de bagaço de cana, 15,4% de milho, 19,5% de gérmen de milho, 26,7% de casca de soja, 0,7% de uréia, 0,3% de calcáreo calcítico, 2,0% núcleo BTP, 0,24% de sal mineral e 13,66% de água. Foi realizada a determinação da concentração do enxofre na ração (1.370 mg/Kg) e na água do bebedouro (1,3 mg/L), respectivamente no Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo Ltda. e no Laboratório de Fertilizantes e Corretivos da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCA/UNESP/Botucatu).

Para realização da análise do líquido cefalorraquidiano e necrópsia, o referido animal foi encaminhado ao Serviço de Clínica de Grandes Animais do Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP/Botucatu. Após a morte natural do bovino, foi realizada a necrópsia, sendo colhidas amostras de tecido hepático e renal para dosagem de chumbo, enquanto fragmentos encefálicos (porção caudal do telencéfalo, o tálamo, o vermix do cerebelo e a porção final do tronco encefálico) foram congelados e encaminhados para diagnóstico diferencial de raiva. As porções restantes do telencéfalo, do cerebelo, o tronco encefálico e o monobloco contendo os gânglios do trigêmio e a “rede mirabile” foram fixados em formol a 10% para realização do exame histopatológico para diagnóstico diferencial das encefalopatias. Posteriormente, foi separado um bloco de parafina de uma região do encéfalo que apresentava lesão sugestiva de meningoencefalite de origem viral para realizar a técnica da PCR para detecção do DNA do herpesvírus bovino tipo 5. A extração do DNA dos blocos de parafina foi realizada com o *kit* comercial QIAamp[®] DNA FFPE Tissue (QIAGEN) e a técnica da PCR foi realizada segundo protocolo estabelecido por CLAUS et al. (2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ocorrência de um caso isolado da doença e de forma letal em um confinamento com 17.000 animais corroboraram com os relatos de SALVADOR et al. (1998) que descreveram que a doença ocorre tanto na forma de surtos como na de casos isolados.

No exame neurológico do bovino confinado foi observada intensa apatia, ataxia, amaurose e tremor de cabeça, caracterizando como síndrome cerebrocortical e podendo estabelecer como uma das suspeitas clínicas a polioencefalomalacia (GOULD, 2000).

Os valores observados das concentrações de sulfeto de hidrogênio ruminal no bovino com síndrome cerebrocortical e nos demais nove animais do lote foram inferiores a

1.000 ppm, indicando que os animais não estavam consumindo enxofre em quantidades elevadas (GOULD, 2000). Estes resultados associados com as concentrações de enxofre na dieta (1.370 mg/kg na matéria seca) e na água (1,3 mg/L), dentro do nível recomendado pelo NRC (2005), permitiram descartar a participação do enxofre como agente causador da síndrome cerebrocortical neste bovino.

A análise do líquido cefalorraquidiano revelou pleocitose (262 células nucleadas/ μ L) com predomínio de linfócitos indicando que o agente etiológico responsável pelo quadro clínico poderia ter origem viral. Possivelmente, tratando-se do BoHV-5, já que segundo ISERNHAGEN (2005) a pleocitose mononuclear foi a alteração marcante no líquido de bezerros infectados experimentalmente pelo vírus da meningoencefalite herpética tipo 5.

O principal achado de necropsia foi hiperemia acentuada na região do córtex frontal direito e esquerdo e, parietal direito. Os achados macro e microscópicos foram semelhantes aos descritos na literatura para meningoencefalite por BoHV-5 (RISSI et al., 2006). O animal apresentou lesões microscópicas meningoencefálicas generalizadas caracterizadas por infiltrado inflamatório composto predominantemente por células mononucleares (linfócitos, plasmócitos e macrófagos). Em três regiões do córtex, concomitante ao infiltrado de células mononucleares havia acentuado infiltrado de células polimorfonucleares. Além das alterações inflamatórias havia necrose cerebrocortical e edema vasogênico que variou entre moderado e acentuado. Notou-se ainda, área focal de malácia da substância cinzenta do córtex telencefálico com presença de inúmeras células Gitter.

As dosagens de chumbo nos fragmentos de tecido hepático e renal apresentaram resultados inferiores a 0,05 μ g/g, estando dentro dos valores normais (RADOSTITS et al., 2007), e conseqüentemente, excluindo a participação deste elemento na etiologia da síndrome cerebrocortical investigada. Os resultados da técnica de imunofluorescência direta (IFD) nos tecidos colhidos do SNC e a inoculação intracerebral em camundongos foram negativos para raiva.

A presença do DNA viral do BoHV-5 obtido por meio da técnica da PCR identificou como o agente causador da polioencefalomalácia no bovino confinado o herpesvírus bovino tipo 5.

CONCLUSÃO

Os achados clínicos associados com os resultados dos exames do líquido cefalorraquidiano, do histopatológico e da PCR confirmaram que o herpesvírus bovino tipo 5 foi o agente causador da polioencefalomalácia no bovino confinado.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Programa Institucional de Capacitação Docente e Técnica (PICDT) de doutorado concedida ao primeiro autor e pela bolsa Programa de Demanda Social (DS) de mestrado concedida ao quarto autor. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP Processo n°. 2006/05836-6) pelo apoio financeiro e concessão de bolsa para o terceiro (Processo n°.2009/00763-9) e quinto autor (Processo n°.2007/05008-9) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade ao último autor.

REFERÊNCIAS

BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS, R. A. A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. Montes Claros, MG: Vallée, 2006.

CLAUS, M. P.; ALFIERI, A. F.; FOLGUERAS-FLATSCHART, A. V.; WOSIACKI, S. R.; MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. A. Rapid detection and differentiation of bovine herpesvirus 1 and 5 glycoprotein C gene in clinical specimens by multiplex-PCR. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 128, p. 183–188. 2005.

COLODEL, E. M.; NAKAZATO, L.; WEIBLEIN, R.; MELLO, R. M.; SILVA, R. R. P.; SOUZA, M. A.; FILHO, J. A. O.; CARON, L. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por herpesvirus bovino no estado do Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 293-298, 2002.

GOULD D. H., CUMMINGS B. A., HAMAR D. W. In vivo indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, n. 9, p. 72-76, 1997.

GOULD, D. H. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. In: OSWEILER, G. D.; GALEY, F.D. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice: Toxicology**, Philadelphia, v. 16, n. 3, p.481-496, 2000.

ISERNHAGEN, A. J. **Meningoencefalite herpética em bezerros: evolução clínica e diagnóstico.** 2005. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Mineral tolerance of animals.** 2.ed. Washington,: National Academy of Sciences. 385 p., 2005.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary medicine. A textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats.** 10.ed. Saunders Elsevier: USA, 2156p., 2007.

RISSI, D. R.; OLIVEIRA, F. N.; RECH, R. R.. PIEREZAN, F.; LEMOS, R. A. A.; BARROS, C. S. L. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 123-132, 2006.

SALVADOR S. W. C.; LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F.; ROEHE, P. M.; OSÓRIO, A. L. A. R. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, p. 76-83. 1998.

PARÂMETROS METABÓLICOS SANGUÍNEOS DE VACAS LEITEIRAS DE ALTA PRODUÇÃO NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Tiago André Frigotto¹, Rüdiger Daniel Ollhoff², Ivan Roque de Barros Filho³ e Rodrigo de Almeida⁴

1. Médico Veterinário, mestrando em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná (UFPR)

2. Médico Veterinário, PhD, professor do Curso de Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

3. Médico Veterinário, PhD, professor do Curso de Medicina Veterinária, UFPR

4. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, UFPR, CEP 80035-050, Curitiba, Paraná, Brasil.

E-mail: ralmeida@ufpr.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: AGNE, BHB, bovinocultura de leite, cálcio, parâmetros sanguíneos.

ABSTRACT

BLOOD METABOLIC PARAMETERS OF HIGH PRODUCING DAIRY COWS DURING THE TRANSITION PERIOD

The transition period refers to the last 3 weeks of gestation and the first 3 weeks after parturition. It is critically important as regards health, production, and profitability of cows, and the fact that most health disorders occur during this time. Therefore, the aim of this study was to assess blood metabolic parameters of high producing dairy cows during the transition period. A total of 106 postpartum cows (72 multiparous and 34 first-lactation) from two herds in the municipality of Arapoti, Paraná, Brazil, were monitored from April to July 2009. Blood samples were collected 1, 2, 5, and 10 days after calving. Serum analysis determined beta-hydroxybutyrate (BHB), nonesterified fatty acids (NEFA), and calcium concentrations. Average values for the first two serum components – obtained 1, 5, and 10 days after calving – were: 0,548 - 0,665 - 0,506 mmol/L; and 0,91 - 0,77 - 0,68 mmol/L, respectively. Calcium levels on days 1, 2, 5, and 10 were: 10,25 - 10,30 - 11,08 - 11,22 mg/dL, respectively. Results show that blood metabolic parameters may be used as tools for monitoring the adaptation of high producing dairy cows in the periparturient period.

KEYWORDS: BHBA, blood parameters, calcium, dairy production, NEFA.

INTRODUÇÃO

O período de transição se refere ao intervalo de tempo que compreende as três semanas antes do parto e as três semanas pós-parto de vacas leiteiras. Considera-se que a transição entre o final da gestação e o início da lactação seja o estágio mais desafiador e de maior interesse do ciclo produtivo de uma vaca leiteira (GRUMMER, 1995; DRACKLEY, 1999). Neste estágio, severas alterações metabólicas, fisiológicas e anatômicas ocorrem na vaca parturiente, favorecendo a ocorrência de diversos distúrbios patológicos que podem prejudicar a eficiência produtiva da futura lactação pela diminuição da produção leiteira, redução do desempenho reprodutivo e aumento na taxa de descarte (HUZZEY et al., 2007).

A maioria das doenças metabólicas em vacas leiteiras (retenção de placenta, endometrite, hipocalcemia, cetose, deslocamento de abomaso e outras) ocorrem nas primeiras duas semanas da lactação (GOFF & HORST, 1996). DUFFIELD & LEBLANC (2009) acrescentam que os problemas deste período tipicamente possuem algum elemento metabólico como componente causal da doença clínica.

Os perfis metabólicos são usados como procedimento de monitoramento rotineiro para o diagnóstico de transtornos metabólicos, deficiências derivadas da nutrição e como preventivo de transtornos subclínicos, além da pesquisa de problemas de saúde e de desempenho de um rebanho (DUFFIELD & LEBLANC, 2009).

O acompanhamento da qualidade do período de transição de vacas leiteiras pela realização de exames metabólicos pode ser individual ou geral do rebanho. O objetivo do exame individual é identificar as vacas com risco para doenças e com isso evitar ou atenuar o problema clínico, e no caso do exame do rebanho, pode-se avaliar a eficiência do manejo realizado com a detecção precoce dos problemas existentes (LEBLANC et al., 2006). Para DUFFIELD & LEBLANC (2009) a interpretação dos parâmetros metabólicos focada no rebanho é essencial, pois pouco se sabe sobre o tratamento individual de vacas com altos parâmetros séricos.

Dois parâmetros metabólicos séricos são importantes ferramentas clínicas para medição do status nutricional e da adaptação ao balanço energético negativo de vacas leiteiras durante o período periparto. São eles os ácidos graxos não-esterificados (AGNE) e o β -hidroxibutirato (BHB) (CHUNG et al., 2008).

Devido à grande demanda de cálcio após o parto, este também deve ser monitorado em vacas até uma semana após o parto, no entanto, antes ou depois desse período, não faz sentido medir cálcio (DUFFIELD & LEBLANC, 2009).

Este trabalho teve como objetivo monitorar parâmetros metabólicos sanguíneos de vacas leiteiras de alta produção nos primeiros 10 dias após o parto.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois rebanhos leiteiros comerciais de alta produtividade no município de Arapoti, estado do Paraná, foram monitorados de 01 de abril a 12 de julho de 2009. Ambos os rebanhos possuíam o mesmo sistema de criação do tipo “*free-stall*”, com ordenha realizada três vezes ao dia e média de produção de 35 litros de leite/dia. As dietas fornecidas foram balanceadas de acordo com as exigências nutricionais para vacas no início da lactação (NRC, 2001) e consistiam em silagem de milho, pré-secado de forrageiras temperadas, concentrado comercial, caroço de algodão, farelo de soja, milho grão moído, gordura protegida e suplemento mineral.

Foi avaliado um total de 106 fêmeas da raça Holandesa, sendo 72 vacas (67,9%) e 34 novilhas (38,1%). Coletaram-se amostras de sangue, após a ordenha da manhã, nos dias 1, 2, 5 e 10 pós-parto, mediante punção venosa coccígea em tubos sem anticoagulante, sendo centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para obtenção de soro, os quais foram divididos em frações, identificados e congelados a -20°C até o momento das correspondentes determinações.

Ácidos graxos não-esterificados (AGNE) e beta-hidroxibutirato (BHB) foram analisados nos dias 1, 5 e 10, e cálcio arsenazo nos dias 1, 2, 5 e 10, por meio de provas enzimáticas colorimétricas utilizando equipamento automático (Biosystems A15, Espanha) e reagentes comerciais (Randox, Reino Unido).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As altas produções no início da lactação da vaca leiteira especializada justificam a mobilização de tecido adiposo das reservas corporais, a liberação de ácidos graxos livres e o acúmulo destes AGNE no fígado (SMITH et al., 1997). O acúmulo de triglicerídios hepáticos é fisiológica em vacas leiteiras periparturientes, mas quando o aporte de AGNE ultrapassa a capacidade do fígado em oxidar ácidos graxos, há um acúmulo de metabólitos intermediários, conhecidos por corpos cetônicos, entre os quais o β -hidroxibutirato (BHB).

Desta forma, a concentração sérica de AGNE reflete o grau de adaptação da vaca ao balanço energético negativo (DUFFIELD & LEBLANC, 2009). Os valores de AGNE séricos encontrados no presente trabalho, nos dias 1, 5 e 10 pós-parto foram de 0,91, 0,77 e 0,68 mmol/L, respectivamente. Níveis séricos de AGNE são aceitáveis até 0,50 mmol/L e valores acima deste são associados com aumento dos riscos de ocorrência de doenças metabólicas como o deslocamento de abomaso (LEBLANC et al., 2005). De acordo com o NRC (2001), altas concentrações de AGNE estão presentes antes do parto, mas após seus níveis decrescem rapidamente, como pôde ser verificado neste trabalho. O mesmo ocorreu nos experimentos de LEBLANC et al. (2005) e CHUNG et al. (2008). Contrariamente, PICKETT et al. (2003) demonstraram um pico de concentração de AGNE no sexto dia pós-parto. Observou-se no presente trabalho que no dia 1 pós-parto 71,1% das vacas apresentaram valores maiores que os aceitáveis ($>0,5$ mmol/L), no dia 5 (65,6%) e no dia 10 (52,3%).

O BHB é importante em vacas leiteiras como indicador de cetose subclínica, ocasionada pela mobilização de gordura corporal para suprir o déficit energético durante o balanço energético negativo (ENJALBERT et al., 2001). No presente experimento encontrou-se valores médios de BHB sérico nos dias 1, 5 e 10 pós-parto de 0,548, 0,665 e 0,506 mmol/L, respectivamente. Resultados similares foram encontrados por CHUNG et al. (2008), em que os valores mais altos de BHB também ocorreram aproximadamente no quinto dia após o parto, salientando-se que na pesquisa destes autores o manejo alimentar do rebanho foi similar ao do presente trabalho. Entretanto, PICKETT et al. (2003) encontraram resultados distintos, onde a concentração de BHB após o parto foi crescente, alcançando o pico na quarta semana de lactação. Os resultados médios de rebanho para BHB encontrados neste trabalho estão abaixo dos níveis considerados como indicativos de cetose subclínica ($> 1,4$ mmol/L) segundo GEISHOUSER et al. (2000). Entretanto, ao se avaliar os resultados individualmente, pôde-se verificar a prevalência de cetose subclínica em 2,9% dos animais no primeiro dia após o parto, 6,9% no quinto dia e 3,0% no décimo dia de avaliação. No rebanho avaliado por GEISHOUSER et al. (2000), 20% das vacas apresentaram cetose subclínica.

Níveis de cálcio sanguíneo diminuem nos dias que antecedem o parto pela formação do colostro, no entanto, a partir do parto, estes níveis são controlados por diversos mecanismos fisiológicos (NRC, 2001). Assim, o monitoramento de cálcio sérico após o parto torna-se importante com o objetivo de evitar doenças metabólicas, principalmente a hipocalcemia subclínica, diagnosticada por níveis menores que 7,5 mg/dL no sangue (NRC, 2001; DUFFIELD & LEBLANC, 2009). Neste trabalho, valores séricos de cálcio para os dias

1, 2, 5 e 10 pós-parto foram de 10,25, 10,30, 11,08 e 11,22 mg/dL, respectivamente. Resultados semelhantes foram apresentados por LEBLANC et al. (2005), onde também não foram observados níveis abaixo do aceitável. Entretanto, avaliando-se individualmente o rebanho, pôde-se observar nos dias 1 e 2 pós-parto presença de hipocalcemia subclínica em 11,3 e 4,7% das vacas, respectivamente.

CONCLUSÃO

Vacas leiteiras avaliadas no presente experimento apresentaram baixas incidências de cetose subclínica e hipocalcemia, no entanto, a maioria das vacas analisadas apresentaram altos valores para AGNE, indicando uma aguda mobilização das reservas corporais nos primeiros 10 dias pós-parto.

Com os resultados encontrados neste trabalho, pôde-se concluir que as determinações de ácidos graxos não-esterificados, beta-hidroxibutirato e cálcio sanguíneo são importantes no monitoramento de vacas leiteiras de alta produção no período de transição, indicativos da eficiência do manejo pré e pós-parto.

AGRADECIMENTOS

Ao corpo técnico da Química Geral do Nordeste (QGN) e Laboratórios Pfizer Ltda. pelo auxílio financeiro que viabilizou a aquisição dos reagentes comerciais.

REFERÊNCIAS

CHUNG, Y. M.; PICKETT, M. M.; CASSIDY, T. W.; VARGA, G. A. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, p. 2744-2758, 2008.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, p. 2259-2273, 1999.

DUFFIELD, T. F., LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. **Southwest Nutrition and Management Conference**, p. 106-114, 2009.

Disponível em: <http://ag.arizona.edu/ANS/swnmc/papers/2009/11%20Duffield%202%202009%20SWNMC.pdf>

DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE, K. D.; McBRIDE, B. W.; LESLIE, K. E. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, p. 571-580, 2009.

ENJALBERT, F.; NICOT, M. C.; BAYOURTHE, C.; MONCOULON, R. Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 583-589, 2001.

GEISHAUSER, T.; LESLIE, K.; TENHAG, J.; BASHIRI, A. Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 296-299, 2000.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 1260-1268, 1996.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

HUZZEY, J. M.; VIEIRA, D. M.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 3220-3233, 2007.

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, v. 159-170, 2005.

LEBLANC, S. J.; LISSEMORE, K. D.; KELTON, D. F.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, p. 1267-1279, 2006.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academy Press, p. 184-213. 2001.

PICKETT, M. M.; PIEPENBRINK, M. S.; OVERTON, T. R. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 2113-2121, 2003.

SMITH, T. R.; HIPPEN, A. R.; BEITZ, D. C.; YOUNG, J. W. Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 1569-1581, 1997.

INFLUENCIA DO ALEITAMENTO DE BEZERROS BUBALINOS COM LEITE DE VACA INTEGRAL NO GANHO DE PESO E NA GLICEMIA

Daniela Gomes da Silva¹, André Marcos Santana², Priscila Arrigucci Bernardes³, Lucas José Luduverio Pizauro³ e José Jurandir Fagliari⁴

1. Pós-doutoranda do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal
2. Doutorando em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária) da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal
3. Graduandos em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal
4. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. 14.884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Búfalo, crescimento, glicose plasmática, mamadeira.

ABSTRACT

EFFECT OF SUCKLING WHOLE COW'S MILK ON WEIGHT GAIN AND GLUCOSE LEVELS OF BUFFALO CALVES

This study evaluates whole bovine milk intake by buffalo calves fed from a nipple bottle and how it relates to plasma glucose levels and weight gain. A total of 5 Murrah buffalo calves aged 11 to 26 days old were assessed, of which 2 were male and 3 were female. They weighed from 42,8 to 64,4 kg and received 4 L of whole bovine milk each from a nipple bottle, which were divided in two daily meals. They were also given water, ration and hay ad libitum. The animals were observed during eight days and blood samples were collected via jugular venepuncture once daily before the first feeding of the day to assess plasma glucose concentrations. Individual milk consumption was also recorded on a daily basis and all animals were weighed at the beginning and at the end of the research period. Mean values for daily milk consumption, plasma glucose levels and daily body weight gain were 2,80 L, 89,78 mg/dL, and 0,100g per calf, respectively. Evidence showed some difficulty in the adaptation to suckling an artificial nipple, although it had a positive effect on the relationship between milk intake and weight gain and plasma glucose levels; therefore, artificial suckling with whole bovine milk may be a viable alternative as regards the nutrition of buffalo calves.

KEYWORDS: Buffalo, growth, plasma glucose levels, nipple bottle

INTRODUÇÃO

O rebanho bubalino brasileiro é estimado em mais de 2,80 milhões de animais, sendo o maior efetivo encontrado na região Norte do país (MALHADO et al., 2007). Deste montante, 15% são destinados à produção de leite e 85% à produção de carne (ROSA et al., 2007). Contudo, a exploração leiteira tem crescido nos últimos anos, particularmente na região Sudeste, onde o leite produzido é destinado, quase na sua totalidade, à produção de queijo tipo *mozarella*, que tem mercado assegurado e preços compensatórios (MACEDO et al., 2001; TONHATI, 2002).

No Brasil a produção anual de leite de búfala é de aproximadamente 92 milhões de litros, com produção média de 1.584 kg de leite por lactação (BERNARDES, 2007; ROSA et al., 2007).

Apesar das melhorias nutricionais e genéticas dos animais (HISHI et al., 2008), o aleitamento natural dos bezerros bubalinos compromete parte da produção leiteira (BERNARDES, 2007). Para aumentar a quantidade de leite destinado à comercialização, produtores de criações intensivas de bubalinos de outros países recorrem ao aleitamento artificial dos bezerros bubalinos com leite de vaca integral e sucedâneos de leite, sem comprometer significativamente o desenvolvimento ponderal dos neonatos (TULLOH & HOLMES, 1992; KHAN et al., 2007).

Assim, o objetivo do estudo foi avaliar a influência do aleitamento artificial de bezerros bubalinos com leite de vaca integral no ganho de peso e na glicemia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cinco bezerros bubalinos saudáveis, dois machos e três fêmeas, da raça Murrah, com 11 a 26 dias de idade, pesando entre 42,8 e 64,4 Kg, provenientes de um rebanho comercial do município de Marília, Estado de São Paulo. Os animais foram alojados em baia de alvenaria coberta (2,82 m x 3,95 m), anexa ao Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal e avaliados durante oito dias. Os bezerros receberam diariamente quatro litros de leite de vaca integral pasteurizado, em mamadeiras individuais, divididos em duas refeições, além de água, ração e feno de tifton à vontade.

As amostras de sangue para dosagem de glicose foram colhidas uma vez ao dia, durante o período experimental e sempre antes da primeira mamada do dia, por punção da veia jugular,

utilizando-se o sistema de colheita a vácuo (Vacutainer) em frascos contendo fluoreto de sódio e ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). As amostras de sangue foram centrifugadas a 500 g durante 5 minutos, para a obtenção do plasma. O teor glicêmico foi obtido pelo método de GOD-Trinder, mediante utilização de kit enzimático comercial (Labtest) e leitura em espectrofotômetro semi-automático (Labquest).

O consumo individual de leite foi anotado diariamente e todos os bezerros foram pesados no início e ao término do estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média do consumo diário de leite foi de 2,51 L para o bezerro 1; 3,80 L para o bezerro 2; 1,28 L para o bezerro 3; 3,22 L para o bezerro 4; 3,24 L para o bezerro 5, com média geral de 2,81 L. Nestes animais, as respectivas taxas glicêmicas médias foram 85,57 mg/dL, 89,56 mg/dL, 73,26 mg/dL, 111,07 mg/dL, 89,42 mg/dL, com média geral de 89,78 mg/dL.

Constatou-se ganho de peso nos bezerros 2, 4 e 5 (225, 300 e 525 g/dia, respectivamente) e perda de peso nos bezerros 1 e 3 (150 e 400 g/dia, respectivamente).

Notou-se que o ganho de peso e a taxa glicêmica foi diretamente proporcional ao volume de leite consumido. Contudo, a média diária de ganho de peso dos bezerros avaliados foi de 100g/dia, valor este inferior aos relatados por BERNARDES & BERNARDES (1999) e AQUINO et al. (2008), que observaram ganhos de peso acima de 350 g/dia em bezerros bubalinos alimentados artificialmente com leite de búfala e com sucedâneo de leite. Estes resultados podem ser atribuídos principalmente às diferenças entre as composições do leite bubalino e do leite bovino e à grande dificuldade dos bezerros bubalinos em aceitar o aleitamento artificial por meio de baldes e mamadeiras (NASCIMENTO & CARVALHO, 1993; ASSUMPÇÃO, 1996).

CONCLUSÃO

Conclui-se que o maior empecilho para o aleitamento artificial é a dificuldade dos bezerros bubalinos em aceitar o aleitamento por meio de mamadeiras ou baldes. Contudo, superada esta dificuldade, notou-se uma relação positiva entre o volume de leite consumido e o ganho de peso e o teor plasmático de glicose, indicando que o aleitamento com leite bovino pode ser uma alternativa viável como alimento de bubalinos neonatos.

REFERÊNCIAS

AQUINO, D. L.; MAROON, M. C. C.; ABESAMIS JUNIOR, A. F.; ROSARIO, M. V. Utilization of milk substitute in rearing buffalo calf. **Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Manila, v. 34, n. 2, p. 33-42, 2008.

ASSUMPÇÃO, J. C. **Bufalando sério**. Guaíba: Agropecuária, 1996. 131p.

BERNARDES W.; BERNARDES O. Exploração leiteira de búfala. In: SAMARA, S. I.; DUTRA, I. S.; FRANCESCHINI, P. H.; CHACUR, M. G. M. (Ed.). **Sanidade e produtividade em búfalos**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. p. 161-171.

BERNARDES, O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 292-298, 2007.

HISHI, E.; FRUCHI, V. M.; ANDRIGHETTO, C. **Produção e composição do leite de búfala**. Disponível em: <http://www.dracena.unesp.br/eventos/sicud_2008/trabalhos/emy_hishi.pdf> Acesso em: 21 de julho de 2009.

KHAN, Z. U.; KHAN, S.; AHMAD, N.; RAZIQ, A. Investigation of mortality incidence and managemental practices in buffalo calves at commercial dairy farms in Peshawar city. **Journal of Agricultural and Biological Science**, Peshawar, v. 2, n. 3, p. 16-22, 2007.

MACEDO, M. P.; WECHSLER, F. S.; RAMOS, A. A.; AMARAL, J. B.; SOUZA, J. C.; RESENDE, F. D.; OLIVEIRA, J. V. Composição físico-química e produção do leite de búfalas da raça Mediterrâneo no oeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 1084-1088, 2001.

MALHADO, C. H. M.; RAMOS, A. A.; CARNEIRO, P. L. S.; SOUZA, J. C.; PICCIN, A. Parâmetros e tendências da produção de leite em bubalinos da raça Murrah no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 376-379, 2007.

NASCIMENTO, C.; CARVALHO, L. O. M. **Criação de búfalos: alimentação, manejo, melhoramento e instalações.** Brasília: EMBRAPA-SPI, 1993. 403p.

ROSA, B. R. T.; FERREIRA, M. M. G.; AVANTE, M. L.; ZANGIROLAMI FILHO, D.; MARTINS, I. S. **Introdução de búfalos no Brasil e sua aptidão leiteira.** Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria08/revisao/08.pdf>> Acesso em: 21 de julho de 2009.

TONHATI, H. **Crítérios de seleção para produção total de leite em bubalinos criados no Estado de São Paulo, Brasil.** 2002. 68p. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

TULLOH, N. M; HOLMES, J. H. G. **World animal science.** Amsterdam: Elsevier, 1992. 505p.

MEGAESÔFAGO EM CAPRINO: RELATO DE CASO

Luiz Cosme da Silva Júnior¹, Lúcia Cristina Pereira Arruda¹, Danilo Gonçalves Beltrão da Silva¹, Filipe Aureliano Pedrosa Soares¹, Álvaro Veloso Borba Neto¹, Jacinta Eufrásia Brito Leite², Pierre Castro Soares²

1. Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco

2. Médicos veterinários, doutores, professores do Curso de Medicina Veterinária,

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N – Dois

Irmãos, CEP 52171-900 Recife-PE/ Brasil.

E-mail: psoares@dmv.ufpe.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Esôfago, diagnóstico, radiografia, ruminante

ABSTRACT

MEGAESOPHAGUS IN GOATS: CASE REPORT

This study investigates a 7-month-old female mixed breed goat showing increased volume of the neck, apathy, inappetence, and regurgitation. Radiological examination in lateral projection revealed a radiopaque content in the esophageal lumen dorsally positioned at the apex of the heart. It was located between the second and sixth rib pairs and its density and appearance were similar to the rumen contents. Single-contrast esophagram with barium sulfate showed esophageal dilatation cranial to the radiopaque content detected by simple radiography. Once the probe was introduced, which found no obstacles in the passage into the rumen, the same clinical signs were observed. Therefore, radiographic findings contributed to the diagnosis of megaesophagus.

KEYWORDS: Diagnosis, esophagus, radiography, ruminant.

INTRODUÇÃO

O esôfago é responsável pelo simples e rápido deslocamento da ingesta desde a faringe até o estômago. Sua distribuição anatômica começa dorsalmente a laringe e segue sob a traquéia, desviando-se a esquerda para entrar na cavidade torácica. Na região torácica o

esôfago passa pelo mediastino à direita da aorta penetrando na cavidade abdominal através do hiato diafragmático presente no músculo diafragma (TORRES, 1997). Inúmeras são as enfermidades que podem comprometer a integridade deste segmento anatômico e alterar a dinâmica do sistema digestivo em ruminantes.

Megaesôfago é o termo utilizado para designar a dilatação esofágica resultante de um esôfago com hipomotilidade ou aperistáltico, secundário a distúrbios neuromusculares, e por obstrução da luz esofagiana. A dilatação é resultante do acúmulo de alimento na luz do esôfago, sendo uma causa comum de regurgitação (TORRES, 1997).

Pode estar classificado em congênito, ocorrendo em animais jovens logo após o desmame, sendo freqüentemente hereditário e resultante de anormalidades no desenvolvimento da inervação esofágica ou pela persistência do quarto arco aórtico direito; ou secundário, ocorrendo devido à ausência da motilidade esofágica gerada por uma disfunção do nervo vago, que pode ocorrer devido a diversas enfermidades (STURION et al., 2008). Qualquer enfermidade que comprometa o reflexo nervoso controlador da deglutição ou que obstrua a luz esofagiana pode resultar em dilatação esofágica.

Os sinais geralmente observados são de esôfago com anormalidade funcional, dilatado e repleto com saliva, alimento, anorexia, ansiedade, inquietação, sialorréia, tentativas vigorosas de deglutição e regurgitação, tosse, movimentos de mastigação contínuos, debilidade geral, além de insuficiência respiratória e cardíaca aguda ou pneumonia aspirativa (SCHERMAN, 2008). Nos ruminantes o megaesôfago pode causar timpanismo por impedir a eructação (RADOSTITS et al., 2000).

Esofagiopatias podem ser diagnosticadas por meio de exames radiográficos contrastados e exame endoscópico do esôfago, além da observação dos sinais clínicos. Técnicas como a fluoroscopia também pode ser útil para esclarecer os distúrbios da motilidade. O tratamento visa combater à causa primária e garantir o retorno ao funcionamento normal do órgão, porém este pode ser prolongado ou não acontecer a tempo, complicando a saúde do animal e leva-lo a óbito. Poucos são os relatos na literatura sobre tal enfermidade, tendo identificado alguns casos descritos em cães (TORRES, 1997; GAIGA et al., 2006; WRAY & SPARKES, 2006; ANDRADE et al., 2007 e SCHERMAN, 2008) e gato (FORBES e LEISHMAN, 1985), porém nenhum caso ainda foi descrito em animais de produção, particularmente em caprinos. Relevante considerar que relatos de casos desta enfermidade são importantes para se conhecer mais efetivamente a fisiopatologia e as conseqüências sobre a saúde animal, além das possíveis possibilidades de diagnóstico que têm

sido implementadas para caracterização e confirmação deste problema. Assim sendo, este trabalho descrever pioneiramente aspectos clínicos e procedimento de diagnóstico de megaesôfago em caprino através do esofagograma simples e contrastado.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco um caprino sem raça definida, fêmea, com aproximadamente sete meses de idade, com histórico de aumento de volume na região do pescoço, apatia, falta de apetite, salivação, inquietude, tosse e regurgitação. O proprietário também relatou que os episódios de regurgitação ocorriam apenas após ingestão de alimento sólido, além de registrar significativa perda de peso.

Após a anamnese o animal foi submetido ao exame físico, observando-se aumento de volume na porção cervical ventral, taquicardia, taquipnéia, sialorréia, estado senso-motor diminuído, anorexia, fezes e urina com aspectos normais, grau discreto de desidratação, tendo como suspeita clínica o megaesôfago. O animal foi conduzido ao setor de diagnóstico por imagem e submetido ao esôfagograma.

Para a realização do exame radiológico foi utilizada a projeção lateral para as análises (75,0 kw / 8,0 mAs). Foram realizadas radiografias simples e contrastadas com a utilização de sulfato de bário. Este foi administrado oralmente em volume correspondente a 120ml. A primeira radiografia foi realizada antes da administração do contraste e outras três radiografias foram feitas consecutivamente, sendo uma imediatamente após a administração do contraste ($t=0$), outra cinco minutos após a $t=0$ ($t=5$), e outra dez minutos após a $t=5$ ($t=10$). Os dados foram analisados de modo descritivo, auxiliando o diagnóstico clínico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na radiografia simples, observou-se conteúdo radiopaco na luz esofágica, dorsal a base do coração, situado entre o segundo e sexto pares de costelas, com densidade e aspecto semelhantes ao conteúdo ruminal. Na esofagografia em $t=0$, constatou-se uma dilatação do esôfago, cranial ao conteúdo radiopaco descrito na radiografia simples. Já no $t=5$, realizada na mesma projeção anterior, possibilitou concluir que o contraste não evoluiu para o rúmen. Nesse momento, optou-se por inserir uma sonda na luz esofágica, verificando-se que esta foi feita sem observação de resistência de passagem no seu trajeto até o rúmen. A esofagografia em $t=10$ foi realizada com o paciente sondado. Na interpretação radiográfica neste último

tempo, não foi visualizada qualquer modificação quanto aos achados já descritos anteriormente. Associando-se os sinais radiográficos descritos, conclui-se que se tratava de uma dilatação esofágica cérvico-torácica, cranial ao conteúdo observado e descrito na luz do esôfago, compatível com conteúdo alimentar, sendo o quadro sugestivo de megaesôfago.

Conforme exame clínico verificou-se que o animal apresentava um quadro de emagrecimento conseqüente a hiporexia e dificuldade de apreensão e deglutição do alimento. Naturalmente tal condição altera diferentes sistemas, levando o animal a progressiva debilidade (TORRES, 1997; GAIGA et al., 2006), compatível com a evolução deste animal. Sinais de megaesôfago incluem regurgitação seguida de perda de peso, desidratação e fraqueza. Era observado que a regurgitação ocorria logo após a ingestão do alimento, conforme observado também por FORBES & LEISHMAN (1985), além de que sinais respiratórios como tosse, respiração ofegante e cianose estiveram presentes e estes sinais indicavam uma pneumonia como conseqüência de provável aspiração secundária (NELSON & COUTO, 1998). Tal observação torna o prognóstico reservado para os animais acometidos com esta patologia (ANDRADE et al., 2007), o que aconteceu com o referido animal com tal enfermidade.

O exame radiográfico confirmou a suspeita de megaesôfago e este foi preciso em revelar os segmentos anatômicos com alterações, particularmente quando se procedeu com a utilização do contraste, bem como a passagem da sonda oro-esofágica, a qual permitiu mostrar a permeabilidade esofágica existente associado a dilatação esofágica. Considerando o que STURGESS et al. (2001) citaram, esta afecção pode ser congênita ou adquirida e, neste caso, considerando a idade, os fatores responsáveis provavelmente estão relacionados a fatores mecânicos com comprometimento neural do esôfago. Outro fato a considerar é que esta afecção tem sido descrita em cães (WRAY & SPARKES, 2006) e em gatos (STURGESS et al., 2001), porém nenhuma literatura foi encontrada relatando casuística de megaesôfago em caprinos, sendo, portanto, este relato de grande importância para a ciência veterinária, particularmente quanto ao diagnóstico, o qual geralmente é feito através dos sinais clínicos e achados radiográficos (RADOSTITS et al., 2000; WRAY & SPARKES, 2006; SCHERMAN, 2008). Neste caso, tal afecção foi facilmente diagnosticada com o uso do esofagograma contrastado, permitindo um diagnóstico precoce e medidas de controle.

CONCLUSÕES

Associando-se os sinais clínicos e, particularmente, os radiográficos descritos, conclui-se tratar de diagnóstico de megaesôfago em caprino, além de que o esofagograma contrastado é recomendado para auxiliar efetivamente o diagnóstico de tal afecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. F.; NOGUEIRA, R. M. B.; MELCHERT, A.; SILVA, M. P. C.; MOTTA, Y. P.; BRINHOLI, R. B.; TOSTES, R. A.; SANCHES, O. Megaesôfago secundário a miastenia grave em uma cadela da raça pastor alemão. **Ciências Agrárias**, Teresina, v. 28, p. 477-482, 2007.

FORBES, D. C.; LEISHMAN, D. E. Megaesophagus in cats. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 26, p. 354-356, 1985.

GAIGA, L. H.; PIGATTO, J. A. T.; BRUN, M. V. Megaesôfago e hérnia de hiato esofágico associados ao tétano em um cão: relato de caso. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 13, n. 2, p. 145-152, 2006.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Anomalias do anel vascular. In: ____ **Medicina interna de pequenos animais**, São Paulo: Manole, 1998. cap. 9, p. 125.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C.C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2000, 1737p.

SCHERMAN, A. D. Megaesôfago e atrofia muscular da cabeça secundários a miastenia grave em uma cadela da raça Rottweiler – relato de caso. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Campo Grande, v. 12, p. 197-203, 2008.

STURION, D. J.; STURION, M. A. T.; STURION T. T.; STURION, A. L. T.; SALIBA, R.; DIAMANTE, G.; BORDOLINI, S. L. S. Correção cirúrgica de persistência de arco aórtico

direito em felino de dois anos: relato de caso. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, Campos dos Goytacazes, v. 1, p. 86-93, 2008.

STURGESS, C. P.; CANFIELD, P. J.; GRUFFYD-JONES, T. J.; STOKES, C. R. A gross and microscopical morphometric evaluation of feline large intestinal anatomy. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 124, n. 4, p. 255-264, 2001.

TORRES, P. Megaesófago en el perro. Revisión bibliográfica y proposición de una nueva clasificación. **Archivos de Medicina Veterinária**, Valdivia, v. 29, p. 3-23, 1997.

WRAY, J. D.; SPARKES, A. H. Use of radiographic measurements in distinguishing myasthenia gravis from other causes of canine megaesophagus. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 47, n. 5, p. 256-263, 2006.

ACIDOSE LACTICA RUMINAL AGUDA EM CAPRINOS

Diego Medeiros Oliveira¹, João Marcos Araújo Medeiros¹, Adriana Cunha de O. Assis¹,
Patrícia Bueno Neves³, Glauco José Nogueira Galiza¹, Sara Vilar Dantas Simões², Antônio
Flávio M. Dantas² e Franklin Riet-Correa²

1.

1. Alunos do Mestrado em Medicina Veterinária, Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB 58700-000, Brasil.

2. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000 Patos, PB. E-mail: saravilar@bol.com.br (autor correspondente).

3. Médica Veterinária, MSc

PALAVRAS-CHAVE: Carboidratos, doença digestiva, Paraíba, ruminantes.

ABSTRACT

ACUTE RUMEN LACTIC ACIDOSIS IN GOATS

Rumen acidosis is perhaps the most important non-infectious disease in Brazil. It results from the ingestion of high-concentrate rations. Therefore, this study investigates the occurrence of acute rumen lactic acidosis in goats from Patos, Paraíba, Brazil. A total of 51 goats reared under semi-intensive conditions were fed corn and wheat meal *ad libitum*, of which 8 got sick. The main clinical signs were apathy, depression, anorexia, congestion of mucous, dehydration, tachycardia, mixed dyspnea, ruminal distention and atony, as well as feces of liquid consistence. Ruminal fluid analysis revealed that four goats had pH 5,0 and three between 4,5 and 5,0. Rumenotomy was performed on animals with pH level below 5,0. Four of them died and three recovered after clinical treatment. At necropsy, chemical ruminitis was observed. The occurrence of acidosis was related to the high corn diet and the lack of roughage resulted in a decrease in fiber. Histological findings showed signs of acute ruminal acidosis and ruminitis, which indicated high lactic acid concentrations in the rumen responsible for epithelial destruction.

KEYWORDS: Carbohydrates, goats, indigestion, Paraíba.

INTRODUÇÃO

Entre as doenças digestivas não infecciosas a acidose láctica ruminal é talvez a de maior importância no Brasil. Esta enfermidade ocorre mais freqüentemente em bovinos de leite ou corte, mas ovinos e caprinos também são afetados. Dentre os fatores que desencadeiam a doença estão o fornecimento de concentrado a animais que não estão adaptados, a ingestão de grandes quantidades de alimentos ricos em carboidratos mesmo os animais já estando adaptados e a reintrodução de concentrado após um período de jejum. As mudanças bruscas na dieta e a alimentação conjunta de animais de diferentes faixas etárias também são importantes no desencadeamento da acidose ruminal (RADOSTITS et al., 2002; MURRAY & SMITH, 2006; AFONSO & MENDONÇA, 2007).

A acidose láctica ruminal pode se apresentar na forma aguda ou crônica. Na forma aguda ocorre a ingestão exagerada de alimentos ricos em carboidratos, que fermentam rapidamente no rúmen, produzindo grandes quantidades de ácido láctico e ácidos graxos voláteis (AGVs), principalmente o propionato. Esta condição favorece a multiplicação do *Streptococcus bovis* que leva a produção de quantidades significativas de ácido láctico e a diminuição do pH (<5,5), comprometendo as bactérias Gram (-) e protozoários. Quando o pH chega a valores inferiores a 5,0 o *S. bovis* é inibido e ocorre a multiplicação do *Lactobacillus* sp e a concentração de ácido láctico D (-) e L (+) aumentam significativamente no interior do rúmen, levando ao aumento da pressão osmótica e seqüestro de líquido para a luz do órgão. O conteúdo ruminal se torna aquoso e o animal apresenta hemoconcentração, desidratação, acidose metabólica, prostração, coma e freqüentemente morte. (DUNLOP, 1972; RADOSTITS et al., 2002; GARAY & GARCÍA, 2009).

Na forma crônica da acidose observa-se ingestão prolongada de quantidades excessivas de carboidrato associada a níveis inadequados de volumoso bem estruturado. A população microbiana ruminal se adapta à ração rica em grãos e grandes quantidades de microrganismos usuários e produtores de lactato são detectadas. Desta forma, o ácido láctico não se acumula, pois é metabolizado pelas bactérias. Porém, as elevadas concentrações de AGVs principalmente butírico e propiônico estimulam a proliferação do epitélio das papilas ruminais e causa paraqueratose, o que leva a uma menor absorção dos ácidos graxos voláteis e aumenta a ocorrência de traumatismo e inflamações na parede do rúmen. Os efeitos sobre os animais são crônicos e insidiosos, a contínua carga ácida pode reduzir a eficiência metabólica e desempenho geral (SMITH, 2006).

Este trabalho tem por objetivo relatar a ocorrência de um surto de acidose ruminal em caprinos e descrever os achados clínicos, patológicos e os exames complementares que podem ser utilizados no diagnóstico desta enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

De um lote de 51 caprinos da raça Saanen 8 cabras, com 2 anos e 6 meses de idade e peso corporal médio de 30 Kg, foram encaminhadas ao Hospital Veterinário (HV) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Um animal veio a óbito durante o transporte e foi encaminhado ao Setor de Patologia Animal. Após a identificação e realização da anamnese procedeu-se o exame físico geral dos animais. Amostras de suco ruminal foram obtidas, por meio de uma bomba de sucção a vácuo acoplada a uma sonda esofágica, e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica para avaliação de aspectos como cor, consistência, odor, valor do pH, avaliação dos protozoários, da sedimentação e flutuação e redução do azul de metileno. A análise do suco ruminal foi feita de acordo com o estabelecido por DIRKSEN (1993).

Quatro cabras (nº 2, 3, 4 e 5) foram submetidas a rumenotomia após a constatação que o pH ruminal estava inferior a 5,0 e três (nº 6, 7 e 8) foram submetidas a tratamento com bicarbonato de sódio na dose de 1g/kg por via oral e reposição de fluido ruminal. Os animais que morreram após o tratamento foram encaminhados para a necropsia. Fragmentos dos órgãos da cavidade abdominal e torácica e SNC foram coletados e fixados em formol a 10%. Após fixação, as lâminas histológicas foram confeccionadas em cortes de 5µm e coradas com Hematoxilina e Eosina.

RESULTADOS

Na anamnese obteve-se a informação que as cabras apresentavam diarreia e estavam apáticas. Os animais eram criados em sistema semi-intensivo, o volumoso fornecido em forma de pastejo era *Brachiaria* spp. e as cabras eram suplementadas com uma mistura de farelo de milho e trigo *ad libitum* na proporção de 1:1. Havia ocorrido mudanças na alimentação, as áreas de pastejo tinham sido reduzidas em decorrência de chuvas ocorridas na região e o concentrado fornecido passou a ser composto só pelo farelo de milho devido a indisponibilidade momentânea deste último no comércio local.

No exame físico foram identificados sinais como apatia, anorexia, dificuldade para permanecer em estação, mucosas congestas, desidratação, taquicardia, dispnéia mista e atonia ruminal. As fezes estavam escuras, liquefeitas e com odor fétido. Na análise do suco ruminal observou-se que este apresentava aspecto leitoso turvo e odor ácido e pútrido. Não foram observados infusórios vivos e não houve redução do azul de metileno. Quatro cabras apresentavam pH em torno de 5,0 e em três o pH estava entre 4,5 – 5,0. O pH inferior a 5,0 foi utilizado como critério para decidir quais animais seriam encaminhados a rumenotomia.

Os animais que foram submetidos à rumenotomia vieram a óbito em um período de 12 a 24 horas. As cabras que foram tratadas com bicarbonato de Na e reposição de conteúdo ruminal se recuperaram e receberam alta após três dias.

Em todos os animais que foram submetidos à necropsia observou-se que o rúmen estava avermelhado com intensidade leve a acentuada. Uma cabra (2) estava com a mucosa do retículo, omaso e abomaso também avermelhada e outra (4) apresentava úlceras multifocais na mucosa do abomaso. Na microscopia todos os animais apresentavam o rúmen com vacuolização no citoplasma das células epiteliais da mucosa, com formação de vesículas e pústulas. Na superfície epitelial havia áreas basofílicas, correspondentes a bactérias. Em algumas áreas observava-se desprendimento do epitélio. Nas cabras nº 4 e 5 as alterações citadas no rúmen também foram observadas no retículo. Todos os animais apresentaram no citoplasma dos hepatócitos uma vacuolização difusa e de intensidade leve.

DISCUSSÃO

Este trabalho aparentemente descreve o primeiro surto de acidose ruminal em caprinos na Paraíba. O diagnóstico definitivo de acidose ruminal aguda foi realizado de acordo com as os fatores epidemiológicos, os sinais clínicos, análise do conteúdo ruminal e alterações patológicas. Os aspectos clínicos e patológicos relatadas são semelhantes a casos espontâneos e experimentais nos caprinos (BRAUN et al., 1992; NETO et al., 2005).

Após avaliação dos dados da anamnese ficou estabelecido que os casos de acidose ocorreram devido a um desequilíbrio entre a proporção de volumoso e concentrado devido a restrição na oferta de volumoso. Um outro aspecto que foi determinante no desencadeamento do surto foi a substituição do farelo de trigo pelo farelo de milho, pois este último possui maior quantidade de carboidratos. O pH do suco ruminal entre 4,5 e 5,0 e a alta mortalidade observada caracteriza a acidose ruminal aguda com grave prognóstico. A ruminite visualizada no estudo histológico demonstrou que houve elevadas concentrações de ácido láctico no

rúmen que causou destruição do epitélio do rúmen. A lesão do epitélio ruminal também pode ser explicada pelo aumento da osmolaridade do suco ruminal que causa influxo de água extracelular através do epitélio (SMITH, 2006).

O uso de bicarbonato de Na por via oral e a reposição de suco ruminal de animais sadios se mostrou satisfatório no tratamento. A rumenotomia de emergência não se mostrou eficiente no tratamento de acidose aguda em caprinos, provavelmente devido ao severo desequilíbrio hidroeletrolítico e ácido básico, característico desta enfermidade, que não pode ser corrigido a tempo quando os animais foram submetidos a intervenção.

CONCLUSÃO

O fornecimento de farelo de milho e a restrição de volumoso desencadearam grave acidose láctica em caprinos com alta mortalidade.

Uma vez instalada grave acidose ruminal os caprinos apresentam alta mortalidade mesmo se submetidos à rumenotomia de emergência.

REFERÊNCIAS

AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças dos ruminantes e eqüinos**. 3.ed. Santa Maria: Palloti, p.313-319. 2007.

BRAUN, U.; RIHS, T.; SCHEFER, U. Ruminal lactic acidosis in sheep and goats. **Veterinary Record**, London, v. 130, p. 343-349, 1992.

DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger. Exame Clínico dos Bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,. p. 166-228. 1993.

DUNLOP, R. H. Pathogenesis of ruminant lactic acidosis. **Advances in Veterinary Science & Comparative Medicine**, New Jersey, v. 16, p. 259-302, 1972.

GARAY, E. B.; GARCÍA, J. A. Acidosis ruminal y sus consecuencias. Disponível em: <http://www.fmvz.unam.mx/bovinotecnia/BtRgClig013.pdf>. Acesso em: jun. 2009.

MURRAY, M. J.; SMITH, B. P. Enfermidades do trato alimentar. In: SMITH B.P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, p. 593-789. 2006.

NETO, E. G. M.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Estudo clínico e características do suco ruminal de caprinos com acidose láctica induzida experimentalmente. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.25, n. 2, p. 73-78, 2005.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária. um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728p.

TOXEMIA DA PRENHEZ EM CAPRINOS: RELATO DE SURTO

Diego Barreto de Melo¹, Tatiane Rodrigues Silva², Josemar M. Medeiros³, Fabíola C. de Almeida¹, Elaine Silva Dantas¹, Clarice R. M. Pessoa², Sara Vilar D. Simões⁴

1. Alunos do Programa de Aperfeiçoamento em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000, Patos, PB, Brasil
E. mail:diego_catole@hotmail.com(autor correspondente).
2. Alunos do Curso de Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande,
3. Médico Veterinário, MSc, Universidade Federal de Campina Grande
4. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande

PALAVRAS-CHAVE: Doenças metabólicas, doenças da produção, ruminantes.

ABSTRACT

AN OUTBREAK OF PREGNANCY TOXEMIA IN GOATS

It is crucial to learn about the diseases that can affect domestic animals in different Brazilian regions in order to adopt the necessary control and preventive measures. Therefore, this study investigates an outbreak of pregnancy toxemia in a herd of pregnant goats. The animals had been recently acquired and were submitted to changes as regards feeding and rearing systems, which changed from extensive to semi-intensive. Evidence showed that the goats had normal nutritional levels, so they were not to be associated with the disease. Results revealed high prolificacy of native breeds and changes in both rearing and feeding systems greatly influenced the development of the disease.

KEYWORDS: Metabolic diseases, production diseases, ruminants.

INTRODUÇÃO

O conhecimento das doenças dos animais domésticos nas diferentes regiões do Brasil é importante para determinar formas eficientes de profilaxia e controle (GUEDES et al., 2007). A toxemia da prenhez acomete caprinos e ovinos nas últimas seis semanas de gestação. A ocorrência da mesma se dá tanto em animais bem alimentados, gordos, como em animais com baixos níveis nutricionais (cetose da desnutrição). Na toxemia por desnutrição o animal não teve acesso a uma quantidade suficiente de nutrientes, especialmente energia, para atender as suas demandas e a dos fetos, geralmente múltiplos. Nos casos em que a enfermidade ocorre devido a superalimentação, o espaço ocupado pelas reservas internas de

gordura mais o volume do útero na cavidade abdominal leva a redução da ingestão de matéria seca, no momento em que um incremento no consumo de energia é requerido (SMITH & SHERMAN, 1994).

Mudanças climáticas, além de fatores que gerem estresse, como tratamento com anti-helmínticos, transporte, mudanças no ambiente e confinamento de animais não acostumados podem induzir ao aparecimento da enfermidade (RIET-CORREA et al., 2007).

Os sinais clínicos da toxemia da prenhez se originam da diminuição da utilização de glicose pelo cérebro da mãe. Bruxismo e fraqueza generalizada progridem para anormalidades neurológicas mais aparentes com cegueira, perda do reflexo de ameaça, olhar para estrelas, nistagmo, ataxia, tremores e coma (SMITH & SHERMAN, 1994). Nas fases iniciais da toxemia da prenhez corpos cetônicos são facilmente detectados na urina. Os níveis sangüíneos são variáveis, severa hipoglicemia ou marcada hiperglicemia terminal são ambas possíveis (REID, 1968). Sem tratamento, a taxa de mortalidade aproxima-se de 100% e em rebanhos específicos a doença pode alcançar uma taxa de incidência suficiente para ser classificada como um surto (RADOSTITS et. al, 2002). Em decorrência da importância econômica desta enfermidade, relata-se um surto de toxemia da prenhez em caprinos, enfatizando a epidemiologia e sinais clínicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados epidemiológicos e clínicos do caso foram obtidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina, localizado no Município de Patos- PB, no qual deu entrada uma cabra sem raça definida, de dois anos de idade, pesando 50kg, proveniente da cidade de Passagem – PB, com a queixa de que há dois dias foi encontrada afastada do rebanho e sem querer se alimentar. Após a identificação do animal procedeu-se a anamnese e o exame físico geral, estabeleceu-se um diagnóstico presuntivo de toxemia da prenhez, foi instituído um tratamento, mas o animal veio a óbito. Durante realização de necropsia foram coletados fragmentos de todos os órgãos que foram fixados e processados por métodos convencionais para exames histológicos e corados pela hematoxilina-eosina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na anamnese foi relatado que o proprietário há 15 dias havia adquirido 40 cabras prenhes, no terço final de gestação (quatro meses, aproximadamente) sendo transportadas do interior do Pernambuco (Garanhuns, que apresenta um clima frio) para o interior da Paraíba (Passagem - clima quente) e após duas semanas da aquisição desses animais, realizou-se

vacinação e vermifugação dos mesmos. Os animais sofreram uma mudança no sistema de criação, passando de um manejo extensivo para um semi-intensivo, recebendo suplementação com farelo de trigo, milho e soja. O proprietário relatou também que outras três cabras prenhes havia apresentado os mesmos sinais clínicos que a cabra atendida e que todas vieram a óbito.

Durante realização do exame físico geral, observou-se que o animal tinha depressão, hiporexia, taquicardia, congestão de mucosas, atonia ruminal, torcicolo e permanecia em decúbito esterno-abdominal. Exames complementares foram realizados e revelaram hipoglicemia, cetonúria e leucocitose. Com base nos achados clínico-laboratoriais, suspeitou-se de toxemia da prenhez e optou-se pela realização da cesariana, na qual removeu-se três fetos viáveis.

Durante o pós-operatório notou-se uma melhora clínica do animal, sendo realizada uma terapia com antibióticos, anti-inflamatórios, precursores de glicose, cálcio, fluidoterapia oral (suco de rúmen), prostaglandina e complexos vitamínicos (vitaminas do complexo B). Realizou-se nova dosagem de glicemia, constatando-se normoglicemia, porém o animal veio à óbito, dois dias após o procedimento cirúrgico.

Os sinais nervosos observados, principalmente a depressão, são sugestivos de alterações no córtex e segundo ORTOLANI (1989) elas ocorrem de acordo com a área cerebral afetada pela falta de glicose. Quanto maior a exigência de glicose, mais rápido e com maior intensidade ele é afetado, assim sendo, o córtex cerebral é o primeiro a ser acometido, sendo este o principal responsável pela sintomatologia nervosa de depressão da consciência, ausência de reação ao meio ambiente.

Apesar da conduta terapêutica ter sido instituída precocemente e conforme sugerida por ORTOLANI (1994) e PUGH (2005) que indicam o combate a hipoglicemia e a interrupção da drenagem de glicose através da retirada dos fetos, ocorreu o óbito da mãe e fetos 48 horas após a intervenção cirúrgica, demonstrando a alta letalidade desta enfermidade o que está de acordo com SMITH & SHERMAN (1994) ao afirmarem que mesmo com cirurgia e fluidoterapia intensiva, o prognóstico é ruim para a sobrevivência das cabras nos estágios finais da toxemia da prenhez e os cabritos são retirados mortos ou morrem poucas horas após a cirurgia.

Na necropsia, macroscopicamente, observou-se ferida cirúrgica com pontos preservados, gordura com aspecto de pó de giz na cavidade abdominal e fígado amarelado. Microscopicamente, no tecido hepático visualizou-se vacuolização maciça dos hepatócitos,

moderada na região periportal e acentuada na região centro lobular associada à congestão dos sinusóides.

De acordo com o exame clínico, achados laboratoriais e de necropsia confirmou-se o diagnóstico de toxemia da prenhez. A ocorrência de mais três óbitos de cabras no mesmo período gestacional sugere que a enfermidade ocorreu em forma de surto, atingindo 10% do rebanho (quatro animais, de um total de 40). RIET- CORREA et. al. (2007) relataram surtos de toxemia da prenhez no semi-árido quando os animais, após o início da seca, eram confinados para serem suplementados.

Informações já registradas e as obtidas neste surto sugerem que as mudanças na ambiente e confinamento de animais não adaptados, realizados no final da gestação, são fatores predisponentes importantes na epidemiologia da enfermidade no semi-árido. A troca de alimentação no final da gestação, mesmo que de boa quantidade e qualidade pode também desencadear surtos, porque os animais deixam de se alimentar em conseqüências da falta de costume com o novo tipo de alimento.

No surto estudado a enfermidade não esteve ligada a subalimentação ou a superalimentação, tendo em vista que o animal apresentava um estado nutricional normal. Aparentemente a mudança no sistema de criação, manejo alimentar, mudanças no ambiente e as práticas sanitárias utilizadas ocasionaram estresse nos animais e desencadearam a enfermidade.

As cabras consideradas nativas apresentam alta prolificidade, característica que surgiu após o processo de seleção natural ao qual estes animais foram submetidos ao serem introduzidos no Brasil. Houve redução da produção de leite e carne e exacerbação de características reprodutivas com o intuito de assegurar a preservação da espécie. Segundo SMITH & SHERMAN (1994) a toxemia da prenhez ocorre predominantemente em raças com alta prolificidade.

CONCLUSÃO

Por tratar-se de uma enfermidade relacionada aos sistemas de produção e causar elevados índices de letalidade é necessário relatar as formas de ocorrência da doença e conhecer as diversas situações em que a doença pode ocorrer, e desenvolver pesquisas relacionadas ao controle e profilaxia da mesma no semi-árido paraibano.

REFERÊNCIAS

GUEDES, K. M. R.; CORREA, F. R.; DANTAS, A. F. M.; SIMÕES, S. V. D.; MIRANDA NETO, E.G.; NOBRE, V. M. T.; MEDEIROS, R. M. T. Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n.1, p. 29-38, 2007.

ORTOLANI E. L. Doenças carênciais e metabólicas em caprinos: urolitíase e toxemia da prenhez. In: ENCONTRO NACIONAL PARA O DESENVOLVIMENTO DA ESPÉCIE CAPRINA, 3., 1994, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 1994, 197p.

ORTOLANI, E. L.; BENESI, F. J. Ocorrência da toxemia da prenhez em cabras (*Capra hircus*, L) e ovelhas (*Ovis aries*, L) criadas no estado de São Paulo, Brasil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 229-234, 1989.

PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: ROCA, 2005, 513p.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 1737p.

REID, R. L. The physiopathology of undernourishment in pregnant sheep with particular reference to pregnancy toxemia. **Advances in Veterinary Science**, New York, v. 12, p 163-238, 1968.

RIET-CORREA, F.; SCHILD A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3.ed., Santa Maria: Paloti, 2007, p.281-286.

SMITH M.C.; SHERMAN D. M. **Goat medicine**. Pennsylvania: Lea & Febiger, 1994, 620p.

UTILIZAÇÃO DA MONENSINA SÓDICA NA PREVENÇÃO DA ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL INDUZIDA EM CAPRINOS (Resultados Preliminares)

Eldinê Gomes de Miranda Neto^{1,2}, José Augusto Bastos Afonso³, Saulo de Tarso Gusmão da Silva⁴ Carla Lopes de Mendonça³

1. Médico Veterinário, MSc, professor do Curso de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Cep 58708110, Patos, PB, Brasil.
E-mail: eldinemneto@hotmail.com (Autor correspondente)
2. Médico Veterinário, Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Cep 52171900, Recife, PE, Brasil.
3. Médico(a) Veterinário(a), Dr.(a), Clínica de Bovinos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Campus Garanhuns, Cx. Postal 152, Cep 55292901, Garanhuns, PE.
4. Médico Veterinário, Graduado, Programa de Residência em Medicina Veterinária, Clínica de Bovinos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Campus Garanhuns, Cx. Postal 152, Cep 55292901, Garanhuns, PE.

PALAVRAS-CHAVE: Ácido láctico, fluido ruminal, ionóforos.

ABSTRACT

USE OF MONENSIN SODIUM IN THE PREVENTION OF RUMINAL LACTIC ACIDOSIS IN GOATS

This study evaluates the effect of monensin on diet digestibility and its efficacy in the prevention of ruminal lactic acidosis experimentally induced in sheep. Permanent rumen cannulae were implanted in 10 clinically healthy, castrated, mixed-breed male goats with a mean weight of 30 kg. Ruminal acidosis was induced by adding 10g of sucrose per 1kg live weight at 8 am, prior to the morning meal. Clinical observations and ruminal fluid analysis were carried out at 4, 8, 12, 24, 32, 48, and 72 hours post-induction (PI). Alterations were first registered at 4 hours PI in both groups of goats; pH values dropped close to 5 and the solution turned milky green, slightly aqueous and acidic in odor. The time of sedimentation activity was reduced by 12h PI in both groups. There was a reduction in microorganism count, lack of density and motility, and increase in chloride concentration. By 8h PI, some animals from both groups had regained appetite and rumination activity. In some goats, full reestablishment of the variables had not occurred by 72h PI.

KEY WORDS: Ionophores, lactic acid, ruminal fluid.

INTRODUÇÃO

O incremento na exploração de caprinos e a intensificação dos sistemas de criação têm aumentado a incidência de distúrbios nutricionais e metabólicos, o que está intimamente ligado à falhas no manejo nutricional, tanto com relação à alimentação inadequada como a administração de forma excessiva. Em razão disto, a adoção de novas práticas de manejo têm levado a modificação de hábitos alimentares, que podem acarretar no surgimento de distúrbios fermentativos dos pré-estômagos, como a acidose láctica ruminal, doença esta que tem sido cada vez mais incriminada nos processos patológicos que acometem os ruminantes criados intensivamente (AFONSO, 2005).

Este trabalho tem por finalidade estudar o comportamento clínico e laboratorial de caprinos submetidos à incorporação da monensina na alimentação e avaliar os seus efeitos na prevenção da acidose láctica ruminal induzida experimentalmente nestes animais.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Clínica de Bovinos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Campus Garanhuns - PE, no aprisco de experimentação de pequenos ruminantes. Foram utilizados 10 caprinos, machos, castrados, mestiços (meio sangue) Anglo Nubiana x Saanen, com peso médio de 30 Kg, clinicamente sadios.

Em todos os animais foram implantadas cânulas ruminais permanentes, segundo a técnica descrita por REICHERT NETO (1996). Foi instituído um intervalo pós-operatório de quatro semanas para recuperação dos animais, adaptação ao novo ambiente e manejo, antes que se procedesse a indução da acidose ruminal. Neste período e durante toda a fase experimental, os caprinos receberam uma dieta diária à base de farelo de soja (150 g por animal), oferecida duas vezes ao dia, às 8:00h e 16:00 h; além dos capins tifton (*Cynodon sp.*), elefante (*Pennisetum purpureum*), brachiaria (*Brachiaria decumbens*), sal mineral e água *ad libitum*.

Os caprinos foram divididos em dois grupos de cinco animais, um grupo controle (GC) e o (GM) da monensina sódica (Rumensin 100 - Elanco Química), administrada diretamente no rúmen, pela fistula, na dose diária de 33 mg/kg da dieta, por animal, no decorrer de 40 dias (BROWN & HOGUE, 1985).

Após a recuperação cirúrgica dos animais, uma semana antes da indução foram avaliadas as características clínicas e laboratoriais, por meio do exame do fluido ruminal observando cor, odor, consistência, pH, tempo de sedimentação e flotação (TAS), prova de redução do azul de metileno (PRAM) e dinâmica da fauna ruminal segundo DIRKSEN (1993) e MIRANDA NETO et al. (2005). A contagem do número de protozoários foi realizada empregando a metodologia recomendada por DEHORITY (1977).

O exame físico e a colheita das amostras para os exames laboratoriais foram realizados por três dias, com a finalidade de se estabelecer os valores médios do padrão fisiológico (momento controle – 0h) para as variáveis estudadas. Após o período inicial de adaptação, a aplicação do antibiótico foi mantida e, a acidose foi induzida nos caprinos fornecendo como substrato 10 g de sacarose/kg de peso corpóreo através da fistula ruminal, às oito horas da manhã, antes da alimentação matinal (CAO et al., 1987; MIRANDA NETO et al., 2005). As observações clínicas no decorrer do experimento e a colheita das amostras de sangue e fluido ruminal foram efetuadas em intervalos de 4h, 8h, 12h, 24h, 32h, 48h e 72h pós-indução (PI), a fim de que fosse observado o surgimento das alterações clínicas e laboratoriais indicativas de acidose láctica, de acordo com as recomendações de KEZAR & CHURCH (1979). O exame clínico dos animais foi realizado segundo SMITH & SHERMAN (1994), observando-se as características de comportamento, apetite, frequência cardíaca e respiratória, motilidade retículo-ruminal (frequência e amplitude), temperatura retal e o aspecto das fezes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A administração de sacarose diretamente no rúmen dos animais estudados desencadeou a acidose láctica ruminal de forma aguda simulando um processo fermentativo semelhante, por exemplo, a ocorrência natural de casos em caprinos associados ao consumo não intencional de quantidades elevadas de grãos, tubérculos, frutas ou subprodutos da indústria ricos em amido ou açúcares; como também, induzida pelo rápido aumento na quantidade de concentrado na dieta no início da lactação para se obter uma máxima produção de leite (CAO et al., 1987; BASAK et al., 1993; VIEIRA et al., 2006).

As alterações das características do fluido ruminal causadas pela acidose láctica ruminal manifestaram-se, com intensidade variável, já a partir das quatro horas PI nos caprinos de ambos os grupos estudados. A partir das oito horas PI se observou o retorno do apetite e da ruminação já em alguns animais dos dois grupos. O pH caiu para valores

próximos a cinco, GC = 5,1 (12 h PI) e GM = 5,35 (8 h PI), a cor tornou-se verde leitosa, o odor levemente ácido e a consistência levemente aquosa. O TAS reduziu seus valores a partir de 12 h PI (GC = 3 minutos e GM = 2 minutos) e o tempo de realização da PRAM foi superior a 15 minutos nos dois grupos. Os infusórios apresentaram uma redução na contagem (GC = 12500 células e GM = 25000 células) e começaram a se restabelecer a partir das 32 h PI no GC e 12 h PI no GM. Houve decréscimo até a ausência na densidade e na motilidade da fauna. O teor de cloretos se elevou a partir das 32 h PI em ambos os grupos (GC = 35,99 e GM = 34,53). Os animais do GM ganharam peso no período pré-indução, porém, junto com os animais do GC, perderam em média 1,5 kg do peso vivo após o término do período de observação. Constatou-se que em alguns caprinos, de ambos os grupos, não ocorreu o restabelecimento pleno das variáveis analisadas no final das 72 h PI.

Observou-se que o processo fermentativo induzido nos caprinos foi brando, principalmente no GM, porém causou alterações nas principais variáveis estudadas por diminuir os valores do pH interferindo diretamente na fauna e flora ruminal corroborando com outros autores, que estudando o mesmo distúrbio em outras espécies ruminantes, relatam que em poucas horas o distúrbio desencadeia modificações na flora microbiana ruminal, alterando o seu perfil, onde ocorre à rápida proliferação de bactérias Gram-positivas, produtoras de ácido láctico no rúmen, resultando na elevação deste ácido nas formas D (-) e L (+) (AFONSO et al., 2000; NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007).

A produção e o acúmulo anormal de ácido láctico nas diferentes formas levam a uma acidose ruminal, produzindo não somente alterações na característica do conteúdo do rúmen como também um quadro de acidose metabólica e de vários processos secundários que são potencialmente comprometedores a produção animal (ORTOLANI, 1995; MIRANDA NETO et al., 2005). Esta afirmação ratifica o que foi constatado neste estudo, pois os animais apresentaram anorexia, sobrecarga líquida no rúmen, ausência da ruminação, desidratação e perda de peso devido a diminuição e ausência de ingestão de volumoso e água.

CONCLUSÃO

A utilização da monensina na dieta dos caprinos minimizou a severidade do quadro clínico da acidose láctica ruminal, porém para que se possa comprovar em definitivo os achados iniciais aguardamos o término do referido estudo.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro (Edital Universal Processo nº 470961/2007-4).

REFERÊNCIAS

- AFONSO, J. A. B. Doenças carenciais e metabólicas e sua influência na exploração de caprinos e ovinos. In: SEMINÁRIO NORTE-RIO GRANDENSE DE CAPRINOCULTURA E OVINOCULTURA, 1., 2005, Mossoró. **Anais ... Mossoró: [s.n.], 2005.**
- AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.; FIORAVANTI, M. C. S.; KUCHEMBUCK, M. R. G. Características e indicações clínicas dos ionóforos para ruminantes. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, v. 6, n. 20, p. 29-36, 2000.
- BASAK, D.N.; SPAN, S.; CHAKRABARTI, A. Physicochemical and microbial changes in rumen liquor of experimentally induced lactic acidosis in goats. **Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v. 63, p. 263-67, 1993.
- BROWN, D. L.; HOGUE, D. E. Effects of feeding monensin sodium to lactating goats: Milk composition and ruminal volatile fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, p. 1141-1147, 1985.
- CAO, G. R.; ENGLISH, P. B.; FILIPPICH, L. J.; INGLIS, S. Experimentally induced lactic acidosis in the goat. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 64, p. 367-70, 1987.
- DEHORITY, B.A. **Classification and morphology of rumen protozoa**. Ohio: Department of Animal Science, 1977. 81 p.
- DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G, GRÜNDER, H.D., STÖBER, M. **Rosenberger exame clínico dos bovinos**. 3.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 166-228.
- KEZAR, W. W.; CHURCH, D. C. Ruminal changes during the onset and recovery of induced lactic acidosis in sheep. **Journal Animal Science**, New Delhi, v. 49, p. 1161-1167, 1979.
- MIRANDA NETO, E. G.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.; ALMEIDA, M. Z. P. R. B. Avaliação do comportamento clínico e das características do suco ruminal em caprinos

com acidose láctica induzida experimentalmente. **Pesquisa Veterinária Brasileiro**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 73-78, 2005.

NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Acidosis in feedlot cattle. **Veterinary Clinical Fooding Animal Practice**, Orlando, v. 23, p. 333-350, 2007.

ORTOLANI, E. L. Induction of lactic acidosis in cattle with sucrose: relationship between dose, rumen fluid pH and animal size. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 37, p. 462-64, 1995.

REICHERT NETO, N. C. Fistulação ruminal em ovinos. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: [s.n.], 1996.

SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. **Goat medicine**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 620 p.

VIEIRA, A. C. S.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L.; COSTA N. A.; SOUZA, M. I. Estudo retrospectivo da acidose láctica em caprinos e ovinos atendidos na Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/UFRPE. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 1, n. 1, p. 97-101, 2006.

SURTO DE ATAXIA ENZOÓTICA EM OVINOS EM MOSSORÓ – RN

Isadora Karolina Freitas de Sousa¹; Antonio Humberto Hamad Minervino²; Isabella de Oliveira Barros²; Rejane dos Santos Sousa¹; Dowglish Ferreira Chaves¹; Carolina Akiko Sato Cabral de Araujo²; Raimundo Alves Barrêto Júnior¹; Enrico Lippi Ortolani²

¹ Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA. Rodovia BR 110, Km 47, S/N, Costa e Silva, 59625-900, Mossoró, RN. E-mail: barreto@ufersa.edu.br (autor correspondente)

² Departamento de Clínica Médica. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ - USP

PALAVRAS-CHAVE: Cobre, deficiência, ferro, minerais.

ABSTRACT

ENZOOTIC ATAXIA OUTBREAK IN SHEEP FROM MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE

This report describes an outbreak of enzootic ataxia (EA) in sheep raised in the municipality of Mossoró, Rio Grande do Norte. A total of 5 sheep from a herd of 56 animals were clinically evaluated and diagnosed as having enzootic ataxia (EA) due to difficulty in walking, limb ataxia, and tremors which led to falls. The symptoms occurred after 30 days of birth. All affected animals were submitted to liver biopsy to determine copper and hepatic iron concentrations. Four months after diagnosis and use of mineral supplements, another sheep started to show EA symptoms. This animal and other four healthy ones of the same age were also subjected to liver biopsy. During the first and second visits to the farm, plasma samples were collected from healthy and sick animals in order to determine copper levels in the blood. All mineral analyses were performed by plasma optical emission spectrophotometry. Evidence of low Cu levels indicated copper deficiency in the diet, and high iron levels further decreased Cu availability. After Cu supplementation, the incidence of EA was reduced, although it failed to increase liver Cu stores or prevent new cases of the disease. Therefore, our research data reflects the need to increase serum Cu levels for the effective prevention of new cases.

KEYWORDS: Copper, deficiency, iron, minerals.

INTRODUÇÃO

A deficiência de cobre acontece quando a dieta contém quantidade anormalmente baixa do mineral (deficiência primária de cobre) ou quando a sua absorção ou metabolismo são adversamente acometidos (deficiência secundária de cobre) (MASS & SMITH, 2006). A carência de Cu é uma das mais importantes no Brasil e valores baixos desse elemento são encontrados em forrageiras e em fígados de ruminantes das diversas regiões (TOKARNIA et al., 1999; MCDOWELL, 1999). Além disso, diversas formas clínicas da carência de Cu têm sido diagnosticadas em bovinos, ovinos e caprinos de todas as regiões, incluindo a Nordeste (RIET-CORREA, 2004).

No Brasil, as únicas carências diagnosticadas na região semi-árida são a de cobre em ovinos e caprinos sob pastejo e a de selênio em ovinos confinados (RIET-CORREA, 2004). A carência de Cu em ovinos ocorre geralmente pela ingestão de pastagens com baixa concentração de Cu ou pela ingestão de dietas com cobre normal e ricas em elementos antagonistas como molibdênio e ferro (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999; RADOSTITS et al., 2002).

A ataxia enzootica é a expressão máxima da carência de cobre em cordeiros com até 180 dias de vida, sendo caracterizada pela desmielinização do sistema nervoso central e pelos sintomas de cambaleio dos membros posteriores, e em menor grau dos anteriores, paralisia flácida ou espástica, incapacidade total de locomoção e morte. (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999). Deste modo, relata-se no presente trabalho um surto de AE ocorrido em propriedade rural no município de Mossoró – RN.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em uma propriedade localizada no município de Mossoró, região oeste do Estado do Rio Grande do Norte. O surto de ataxia enzootica ocorreu em dezembro de 2008.

No atendimento realizado ao rebanho foram diagnosticados cinco casos de AE em animais jovens. Foram realizadas biópsias hepáticas nos animais clinicamente acometidos, todos com idade superior a 45 dias, para determinação da concentração hepática de cobre (Cu) e ferro (Fe).

Quatro meses após o diagnóstico e recomendação da suplementação mineral adequada, em Abril de 2009, foi realizada nova visita a propriedade, onde um animal foi diagnosticado com AE. Neste ovino e em outros quatro animais hígidos e de mesma faixa etária foi realizada biópsia hepática.

As cirurgias de biópsia hepática foram realizadas por laparotomia, com retirada de cerca de 1 g do órgão (MINERVINO et al., 2009). As amostras de fígado foram acondicionadas em coletores universais e congeladas a 20°C negativos para posterior análise. Para determinação da concentração de elementos minerais no fígado as amostras foram digeridas em sistema aberto com ácido nítrico-perclórico.

Foram coletadas amostras sanguíneas para realização de hemograma e bioquímica sérica, e determinação da concentração de Cu, Fe plasmáticos. Todas as análises minerais foram realizadas por espectrofotometria óptica por emissão de plasma.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o atendimento inicial o proprietário relatou que alguns borregos, após o primeiro mês de nascimento, iniciavam um quadro de dificuldade em se locomover, quedas e tremores. Após o início dos sintomas, ocorria o agravamento do quadro com apatia e perda de peso e morte.

No momento da visita cinco animais apresentavam os seguintes sintomas clínicos: incoordenação, dificuldade em se levantar e se locomover, quedas freqüentes, ataxia nos membros posteriores e com menos severidade nos membros anteriores, dificuldade para mamar, pêlos ásperos e sem brilho, além de menor desenvolvimento corpóreo que os animais hígidos da mesma faixa etária. Tal quadro clínico é semelhante ao descrito na literatura para ataxia enzoótica tardia em cordeiros (RADOSTITS et al., 2002; SANTOS et al., 2006).

No decorrer da evolução do quadro clínico os animais apresentaram perda de peso, lesões por decúbito e pelas freqüentes quedas e apatia progressiva. Dos quatro animais com sinais clínicos, três morreram entre sete e 20 dias após o diagnóstico inicial. O animal que sobreviveu permaneceu com seqüelas, tais quais dificuldade de locomoção e inferior crescimento. A alta taxa de letalidade observada nos ovinos deste estudo (75 %) foi semelhante ao relatado em outros trabalhos (SANTOS et al.; 2006).

Como medida profilática, foi recomendado ao proprietário a suplementação do rebanho com uso de mistura mineral múltipla (590 mg Cu/kg suplemento).

Após quatro meses do primeiro atendimento, foi realizada nova visita a propriedade. Constatou-se que um animal apresentava sinais clínicos de AE, similares aos anteriormente citados. Segundo o proprietário a suplementação foi realizada como recomendada.

Não foram observadas alterações marcantes nos parâmetros hematológicos, considerando os animais doentes em relação aos hígidos na mesma faixa etária. Em casos de AE não é incomum a presença de anemia (RADOSTITS et al., 2002; MASS & SMITH,

2006), entretanto este achado não foi observado nos animais deste estudo. Alterações marcantes nas variáveis do perfil bioquímico não foram observadas nos animais desse estudo, inclusive dentre os animais clinicamente afetados. Verificou-se neste estudo que a bioquímica sérica não apresenta relevância para o diagnóstico clínico da ataxia enzoótica em cordeiros.

Os valores médios de cobre no plasma foram de 6,0 $\mu\text{Mol/L}$, não diferindo entre animais com e sem sintomas clínico de AE. Tai valores são inferiores ao considerados normais, que variam de 11 a 20 $\mu\text{Mol/L}$ (RADOSTITS et al., 2002). Como todos os animais avaliados tiveram baixas concentrações plasmáticas de Cu supõem-se que o rebanho em questão apresenta grave carência deste elemento, o que corrobora com o estudo de TOKARNIA et al. (1999) que também descreve tal problema em rebanhos brasileiros e da região Nordeste.

Em relação ao cobre hepático, os valores considerados normais são acima de 101 ppm (UNDERWOOD, 1977), sendo que teores de cobre entre 0-50 ppm indicam deficiência. A concentração de cobre hepático confirmou o diagnóstico clínico de ataxia enzoótica, sendo que tanto os animais clinicamente afetados quando os normais apresentaram baixíssimos valores de Cu no fígado, com média geral de 6,8 ppm. Os valores hepáticos de Cu obtidos no trabalho de SANTOS et al. (2006), onde a incidência da AE foi alta, foram superiores (45,8 ppm) quando comparado aos encontrados nesse estudo. Segundo os referidos autores, o limiar mínimo de Cu necessário para o surgimento de quadro clínico de AE apresenta certa variabilidade, sendo que alguns animais podem apresentar o quadro clínico com níveis não tão baixos de Cu.

TOKARNIA et al. (1999) descrevem baixos teores de cobre nas pastagens e no fígado de ruminantes do semi-árido, necessitando de suplemento mineral adequado para que os animais ingiram a quantidade adequada de cobre por dia, que é de cerca de 8 mg/kg de MS da dieta (McDOWEL, 1999), para tal, no Nordeste, indica-se uma suplementação mineral com 0,01 % de cobre para suprir as exigências dessa espécie (RIET- CORREA, 2004). Com base nas informações do rótulo da mistura mineral utilizado na propriedade, verificou-se que o suplemento utilizado continha baixíssimos teores de cobre (15,8 mg de cobre por kg de suplemento), cerca de 0,0016 % de cobre, dez vezes inferior a quantidade recomendada por RIET-CORREA (2004).

O valor médio da concentração hepática de ferro foi de 1530 ppm (MS). Baseando-se nos dados encontrados em UNDERWOOD & SUTTLE (1977) e também seguidos por outros pesquisadores brasileiros (TOKARNIA, et al., 1999) os valores hepáticos de ferro deveriam permanecer entre 181-380. Deste modo verificou-se altíssimo acúmulo hepático deste

elemento mineral, o que deve ter contribuído significativamente para a ocorrência da carência de cobre, devido ao antagonismo provocado pelo ferro, que diminui a disponibilidade de cobre para os ruminantes.

No trabalho de SANTOS et al. (2006) verificou-se que a AE era causada pelo excessivo consumo de Fe. Neste estudo, além da provável elevada concentração de Fe na dieta, verificou-se ainda baixíssimos níveis de cobre fornecidos aos animais.

CONCLUSÃO

A ataxia enzoótica acometeu ovinos, em idade superior a 30 dias de nascimento, sendo assim, é caracterizada como a forma tardia da doença. Os sinais clínicos encontrados nesse estudo são semelhantes ao quadro clássico da enfermidade.

Não houveram alterações bioquímicas e hematológicas significante nos animais com AE desse estudo.

Os níveis orgânicos de cobre estavam abaixo no normal para a espécie ovina, o que confirma o diagnostico de AE.

A suplementação com níveis normais de Cu não foi suficiente capaz de prevenir totalmente a ocorrência de AE provavelmente devido ao antagonismo do ferro.

REFERÊNCIAS

- McDOWELL, L. R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. 3.ed. Gainesville: Universidade da Flórida, 1999, 292 p.
- MASS, J; SMITH, B. P. Deficiência de cobre em ruminantes. In: SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. Barueri: Manole, 2006.
- MINERVINO, A. H. H. et al. Biópsia hepática por laparotomia paracostal em bovinos e búfalos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 798-802, 2009.
- RADOSTITIS, O. M. et al. **Clínica veterinária**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 737p.
- RIET-CORREA, F. Suplementação mineral em pequenos ruminantes no Semi-Árido. **Ciência Veterinária Tropical**, Recife, v. 7, n. 2/3, p. 112-130, 2004.

SANTOS, N. V. M. et al. Avaliação epidemiológica, clínica, anatomopatológica e etiológica de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1207-1213, 2006.

TOKARNIA, C. H. et al. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos- revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.19, n.2, p.47-62, 1999.

UNDERWOOD, E. J. **Copper:** in trace elements in human and animal nutrition, 4.ed. New York: Academic Press, 1977.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. Wallingford: Cabi Publishing, 1999. 614 p.

USO DE PROPILENOGLICOL, COBALTO E VITAMINA B₁₂ EM OVELHAS E SEUS REFLEXOS SOBRE O PERFIL ELETROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS SÉRICAS DOS BORREGOS

Anne Grace Silva Siqueira Campos¹, José Augusto Bastos Afonso², Rogério Adriano dos Santos¹,
Carla Lopes de Mendonça²

1. Médico Veterinário, Aluno do PPGCV, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

2. Médico Veterinário, Clínica de Bovinos - Campus Garanhuns (UFRPE). Av. Bom Pastor, s/n. Cx. Postal 152, Garanhuns, PE, Brasil. CEP: 55.292 – 901. E-mail: cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Ovinos, perfil metabólico, proteinograma, suplementos

ABSTRACT

PROPYLENE GLYCOL, COBALT AND VITAMIN B12 ADMINISTRATION IN EWES AND ITS EFFECT ON THE ELECTROPHORETIC PROFILE OF SERUM PROTEINS OF LAMBS

This study evaluates the influence of propylene glycol, cobalt, and vitamin B12 on the electrophoretic profile of serum proteins of sheep and their offspring. A total of 18 pregnant ewes were randomly divided into three groups 30 days before the scheduled delivery date: Group 1 – control group (G1/n=6); Group 2 – cobalt and vitamin B12 administration (G2/n=6); Group 3 – propylene glycol administration (G3/n=6). Animals were given a daily oral dose with 1mg of cobalt chloride, a weekly dose with 2mg of vitamin B12 through intramuscular injections, and a daily oral dose with 30mL of propylene glycol. Results revealed that changes in various protein fractions, particularly total serum protein, albumin, beta- and gamma-globulin occur with age and are determined by colostrum intake. In our study, the ingestion of supplementary components did not influence the metabolic profiles of lambs.

KEYWORDS: Ovine, metabolic profile, nutritional supplements, proteinogram.

INTRODUÇÃO

Apesar do reconhecido potencial do Estado de Pernambuco na exploração de ovinos para a produção de carne na região e a crescente necessidade em atender a demanda exigida

pelo mercado, ainda existem alguns fatores que são considerados limitantes para a produção de boas matrizes. Dentre estes fatores destaca-se a sanidade, o manejo e a nutrição, visto que tanto os excessos quanto a sua carência, constituem um entrave ao desenvolvimento desta atividade, em função dos distúrbios metabólicos que são gerados, principalmente os observados em animais em estado gestacional avançados (AFONSO, 2006).

Nesta fase, um dos mais importantes distúrbios citados é exemplificado pela toxemia da prenhez, a qual se deve a um balanço energético negativo durante o período de transição próximo ao parto (SCHLUMBOHM & HARMEYER, 2003) e que se caracteriza por hipoglicemia, cetose e acidose metabólica, com sintomas nervosos e digestivos que culminam freqüentemente com a morte do animal, particularmente das fêmeas portadoras de dois ou mais feto (AFONSO, 2006).

Uma vez instalado o distúrbio, como forma de auxiliar a recuperação das pacientes, a administração de cobalto e vitaminas do complexo B têm ajudado a evitar maiores complicações (AFONSO, 2006). Por outro lado, o propilenoglicol, precursor de glicose, tem sido amplamente utilizado como tratamento único nos casos leves ou pode ser utilizado como suplemento para terapia mais agressiva nas pacientes severamente doentes (FONSECA et al., 2003; NIELSEN & INGVARTSEN, 2004).

Diante disto, acredita-se que o desequilíbrio nutricional, que acarreta o surgimento de transtornos metabólicos como a toxemia da prenhez, possa interferir na quantidade e qualidade do colostro das ovelhas acometidas e com isso possa alterar o proteinograma dos cordeiros. Todavia, por não se ter conhecimento de relatos científicos a cerca da utilização do propilenoglicol, cobalto e vitamina B₁₂ em ovelhas da raça Santa Inês no terço final da gestação, com o intuito de prevenir a toxemia da prenhez, este estudo se propõe a avaliar o emprego destes componentes e seus reflexos sobre o proteinograma das respectivas crias.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi efetuado empregando-se 18 ovelhas prenhes da raça Santa Inês, oriundas da Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns – Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Aproximadamente 30 dias antes da data prevista para o parto as ovelhas foram separadas de maneira aleatória em três grupos e administradas as drogas conforme a seguir: Grupo 1 (G1/n=6): Grupo controle; Grupo 2 (G2/n=6): 1mg de cobalto via oral diariamente e 2mg de vitamina B₁₂ (Monovin B₁₂ – Bravet) via intramuscular semanalmente e Grupo 3 (G3/n=6): 30 mL de propilenoglicol (Propileno Glicol PA - Vetec) via oral diariamente. Foram utilizados 23 borregos obtidos dos respectivos grupos das ovelhas, G1/ n= 8, G2/n= 7 e

G3/n= 8, entre machos e fêmeas, acompanhados do nascimento até os 90 dias de idade, sendo esses animais separados das mães, logo após o nascimento e criados sob manejo intensivo, em baias coletivas.

Com relação às amostras, nos borregos foram colhidas imediatamente após o nascimento às 0h (antes da ingestão do colostro), 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 7 dias, 15 dias, 30 dias, 60 dias e 90 dias. Após a coleta foram determinados nos borregos, a proteína total sérica (através da reação de biureto, segundo GORNALL et al., 1949) e o perfil eletroforético das proteínas séricas (gel de agarose).

A análise estatística utilizada foi a de variância para as variáveis que apresentaram a média como tendência central. No caso da estatística resultar significativa ($P < 0,05$), foram efetuados os contrastes entre médias pelo método de Tukey. Para as variáveis não paramétricas foi realizada a Prova de Kruskal-Wallis para amostras independentes e a de Friedman para as amostras dependentes (CURI, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas proteínas totais séricas (g/dL) obtidas dos borregos, não foi encontrada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os três grupos experimentais antes da ingestão do colostro, porém, após este período foi observada uma elevação significativa ($P < 0,05$) nos índices das proteínas totais para todos os grupos analisados, G1, G2 e G3, que alcançou os valores mais elevados de $6,71\text{g/dL} \pm 1,51$, $5,84\text{g/dL} \pm 0,95$ e $6,96\text{g/dL} \pm 1,19$, respectivamente às 12 horas de vida quando comparado ao momento que antecedeu a ingestão do colostro.

Segundo KANEKO et al. (1997), logo após o nascimento dos ruminantes, os valores da proteína apresentam-se baixos, em decorrência da quantidade mínima de globulina e baixos níveis da albumina, porém quando o animal ingere o colostro, observa-se um aumento das proteínas, como consequência da absorção dessas imunoglobulinas.

Ao serem avaliados os valores de mediana da fração albumina (g/dL) obtidos dos borregos antes da ingestão do colostro, nos diferentes grupos experimentais G1, G2 e G3, verificou-se que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os grupos e nem ao longo dos momentos, porém após a ingestão do colostro, foi observada uma elevação significativa ($P < 0,05$) nos grupos analisados, G1, G2 e G3, onde neste último grupo, o aumento foi mais expressivo às 12 horas de vida ($3,68\text{g/dL}$), enquanto nos grupos G1 e G2, alcançaram os níveis de $3,44\text{g/dL}$ e $3,82\text{g/dL}$, respectivamente, aos 90 dias ($P < 0,05$).

A elevação da fração albumina do soro observada nos três grupos dos cordeiros, é justificada por KANEKO et al. (1997) que afirmam que esta elevação se deve ao aumento da

ingestão de compostos nitrogenados da dieta, uma vez que houve a introdução de uma dieta a base de concentrado e volumoso (feno de tifton) a partir do 10º dia de vida.

Os valores encontrados para a fração alfa-globulina obtidas dos borregos, não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) entre os grupos. Após este período, foi observada uma elevação não significativa ($P>0,05$) nos grupos analisados, G1 e G2, que se manteve estável até os últimos momentos. Entretanto, no grupo G3 este aumento ($0,54\text{g/dL} \pm 0,12$) foi mais expressivo e significativo ($P<0,05$) às 12 horas de vida. Comparada a todas as frações obtidas, a alfa-globulina foi a variável em que se notaram menores alterações após a ingestão do colostro, sendo esta estabilidade explicada pelo fato de que algumas proteínas de fase aguda, as quais fazem parte da fração alfa-globulina, eleva-se apenas nos casos de infecções agudas (KANEKO et al., 1997; COSTA et al., 2007).

Ao serem analisados os valores médios da fração beta 1 globulina (g/dL) obtidas dos borregos, não foi encontrada diferença significativa ($P>0,05$) antes da ingestão do colostro, nos diferentes grupos experimentais G1, G2 e G3 dos borregos. Em contrapartida, após este período foi observada uma elevação nos valores desta variável, que foi significativa ($P<0,05$) aos 15 dias no grupo G2 ($0,97\text{g/dL} \pm 0,11$), enquanto nos grupos G1 e G3, esta foi identificada aos 30 dias alcançando valores de $0,94\text{g/dL} \pm 0,07$ e $0,99\text{g/dL} \pm 0,20$, respectivamente. Com isto, ao analisar o comportamento entre os grupos, foi verificado que existiu diferença significativa ($P<0,05$) dos grupos G2 e G3 com o G1 às 6h após a ingestão do colostro, onde este apresentou um índice inferior ($0,70\text{g/dL} \pm 0,13$).

Após a elevação dos índices verificados após a ingestão do colostro, KEAY & DOXEY (1984) observaram em cordeiros com idade de 1 a 3 semanas ($5,2\text{g/dL} \pm 1,94$) valores mais baixos do que o referido nesta pesquisa. Esta afirmativa é justificada por LEAL et al. (2003) quando menciona haver discretas oscilações com o desenvolvimento etário, provando assim, a migração de algumas imunoglobulinas também nesta fração.

Com relação aos valores médios da fração beta 2 globulina (g/dL) foi observado uma elevação significativa ($P<0,05$) nos índices desta fração nos grupos analisados, G1, G2 e G3, quando comparado ao M0h. Este aumento foi mais expressivo aos 15 dias de vida no grupo G2 ($0,29 \pm 0,14$), enquanto que aos 30 dias de vida nos grupos G1 ($0,27\text{g/dL} \pm 0,05$) e G3 ($0,28\text{g/dL} \pm 0,12$). Quanto à elevação dos índices, após a ingestão do colostro, estes valores permaneceram estáveis até os últimos dias de observação, estando estes dados de acordo com a afirmação de KANEKO et al. (1997), que cita que as betas globulinas atingem um valor de concentração sérica elevada após a ingestão de colostro, sofrendo discretas variações com o desenvolvimento etário.

Os valores médios da fração gama-globulina obtidas nos borregos após a ingestão do colostro elevaram-se de forma significativa ($P < 0,05$), que foi expressiva às 12 horas de vida nos grupos G2 e G3 ($1,04\text{g/dL} \pm 0,84$ e $1,77\text{g/dL} \pm 1,10$, respectivamente), enquanto que no grupo G1 ($2,32\text{g/dL} \pm 1,41$) só foi observado este aumento às 24h. Ao analisar o efeito de momento entre os grupos, foi observado que existiu diferença significativa ($P < 0,05$) entre o G2, que apresentou um valor de $0,79\text{g/dL} \pm 0,64$ inferior aos grupos G1 e G3 ($2,01\text{g/dL}$ e $1,17\text{g/dL}$) às 48h, após a ingestão do colostro.

Diante desta afirmativa, HALLIDAY (1978), relata que o valor baixo desta fração, antes da ingestão do colostro, se deve ao tipo de placenta presente nas ovelhas, denominada sindesmocorial, que não permite a passagem de imunoglobulinas (macromoléculas) da circulação materna para a fetal. Somente após o nascimento, com a ingestão do colostro, o borrego vai receber a proteção necessária aos primeiros momentos de vida (imunização passiva), até que o organismo adquira a capacidade de produzir, por si só, os anticorpos (TIZARD, 2000; NOWAK & POIDRON, 2006).

CONCLUSÃO

As frações protéicas em sua maioria sofrem variações com o desenvolvimento etário, em especial as proteínas totais séricas, albumina, beta-globulina e gama-globulina. Os fatores determinantes para estas variações foram a ingestão do colostro. Além disso, não houve influência da ingestão dos componentes estudados pelas ovelhas, sobre o perfil destas variáveis nos borregos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, J. A.B. Toxemia da prenhez. **Jornal do Conselho Regional de Medicina Veterinária de Pernambuco: Veterinária e Zootecnia**, Recife, v. 26. p. 7, 2006.
- CURI, P. R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas**. Botucatu: Tipomic, 1997. 263p.

COSTA, J. N.; PEIXOTO, A.P.C.; KOHAYAGAWA, A.; SOUZA, T. S. Proteinograma sérico de bezerras da raça Holandesa do nascimento aos 150 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 8, n.4, p. 267-275, 2007.

FONSECA, L. F. L.; RODRIGUES, P. H. M.; LIMA, A. P.; LUCCHI, C. S.; SANTOS, V. Suplementação de propilenoglicol para vacas no período peri-parto: efeitos sobre incidência de cetose, produção leiteira, score corporal e primeiro estro pós-parto. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 177-183, 2003.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum protein by means of biuret reaction. **Biological Chemistry**, Berlin, v. 177, pp 751-766. 1949.

HALLIDAY, R. Immunity and health in young lambs. **Veterinary Record**, London, v. 103, p. 489-92, 1978.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J.: W. BRUSS, M: L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 932p, 1997.

KEAY, G.; DOXEY, D. L. Serum protein values from healthy ewes and lambs of various ages determined by agarose gel electrophoresis. **British Veterinary Journal**, London, v. 140. p. 85-88, 1984.

LEAL, M. L. R.; BENESI, F. J.; LISBÔA, J. A. N.; COELHO, C. S.; MIRANDOLA, R. M. S. Proteinograma sérico de bezerras sadias, da raça holandesa, no primeiro mês pós-nascimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p.138-145, 2003.

NIELSEN, N. I.; INGVARTSEN, K. L. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 115, p. 191-213, 2004.

NOWAK, R.; POINDRON, P. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 46, n. 4, p. 431-46, 2006.

SCHLUMBOHM, C.; HARMEYER, J. Hypocalcemia reduces endogenous glucose production in hyperketonemic sheep. **Journal of Dairy Science Association**. v. 86, p. 1953-1962, 2003.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology**. 6.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2000. 482p.

INFLUÊNCIA DA ADMINISTRAÇÃO DE PROPILENOGLICOL, COBALTO E VITAMINA B₁₂ SOBRE O PERFIL ENZIMÁTICO E METABÓLICO DE OVELHAS SANTA INÊS

Rogério Adriano dos Santos¹, Anne Grace Silva Siqueira Campos¹, José Augusto Bastos Afonso²,
Carla Lopes de Mendonça²

1. Médico Veterinário, Aluno do PPGCV, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

2. Médico Veterinário, Clínica de Bovinos - Campus Garanhuns/UFRPE. Av. Bom Pastor, s/n. C. P. 152, Garanhuns, PE, Brasil. CEP: 55.292 – 901. E-mail: cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bioquímica clínica, ovinos, periparto, suplementos.

ABSTRACT

INFLUENCE OF ADMINISTRATION OF PROPYLENE GLYCOL, COBALT AND VITAMIN B12 ON THE ENZYMATIC AND METABOLIC PROFILES OF SANTA INÊS EWES

This study evaluates the influence of administration of propylene glycol, cobalt, and vitamin B12 on the enzymatic and metabolic profiles of sheep. A total of 17 pregnant ewes were randomly divided into three groups 30 days before the date scheduled for delivery: Group 1 (G1/n=6) – propylene glycol (daily oral dose with 30mL of propylene glycol); Group 2 (G2/n=5) – cobalt and vitamin B12 (daily oral dose with 1mg of cobalt and weekly intramuscular injections with 2mg of vitamin B12); Group 3 (G3/n=6) – control group. Results revealed that the administration of these components does not influence enzymatic or metabolic profiles, which were monitored before, during and after parturition, although hyperglycemia could be observed during this process.

KEY WORDS: clinical biochemistry, ovine, peripartum, supplements.

INTRODUÇÃO

Em países onde o sistema de criação de ovinos é intensivo, mais de 20% das ovelhas no estágio final da gestação desenvolvem a toxemia da prenhez, que pode se manifestar sob a forma clínica ou subclínica. Acomete tanto ovelhas quanto cabras e está associada com

subnutrição e particularmente condição de obesidade destas espécies a partir da sua segunda e subsequentes gestações de dois ou mais fetos (NRC, 1985; SARGISON et al., 1994; ROOK, 2000; LACETERA et al., 2001).

Este distúrbio se caracteriza por hipoglicemia, cetose e acidose metabólica, com sintomas nervosos e digestivos, que culminam freqüentemente com a morte do animal. (AFONSO, 2006; SCHLUMBOHM & HARMEYER, 2008). As atividades das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT) estarão elevadas e superiores a 600 e 80 U/L, respectivamente. Além disto, teores séricos altos de uréia e creatinina poderão indicar um quadro de insuficiência renal terminal (WASTNEY et al. 1983; ORTOLANI, 2008).

Uma vez instalado o distúrbio, como forma de auxiliar a recuperação das pacientes, a administração de cobalto e vitaminas do complexo B têm ajudado a evitar maiores complicações (AFONSO, 2006). Por outro lado, o propilenoglicol, precursor de glicose, tem sido amplamente utilizado como tratamento único nos casos leves ou pode ser utilizado como suplemento para terapia mais agressiva nas pacientes severamente doentes (FONSECA et al., 2003; NIELSEN & INGVARTSEN, 2004). Vacas e novilhas recebendo este composto apresentam uma proporção significativamente mais elevada de propionato (e com isto uma diminuição no pH ruminal), indicando uma metabolização substancial deste precursor de glicose intra-ruminal (NIELSEN & INGVARTSEN, 2004).

Acredita-se que o desequilíbrio nutricional, que acarreta o surgimento de transtornos metabólicos como a toxemia da prenhez, possa interferir no perfil enzimático e metabólico das ovelhas. Diante do exposto e da escassez de relatos científicos a cerca da utilização do propilenoglicol, cobalto e vitamina B₁₂ em ovelhas no terço final da gestação, como terapia preventiva deste distúrbio, este estudo teve como propósito avaliar o emprego destes suplementos, nesta fase da gestação, sobre o perfil enzimático e metabólico de ovelhas Santa Inês no período do periparto.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi efetuado empregando-se 17 ovelhas prenhes da raça Santa Inês, mantidas no aprisco de experimentação para pequenos ruminantes da Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/ UFRPE. A alimentação foi constituída de capim elefante (*Pennisetum purpureum*), tifton (*Cynodom sp*), concentrado (aproximadamente 400g/animal/dia), sal mineral e água *ad libitum*. Todas as ovelhas foram vermifugadas e vacinadas contra clostridioses. Aproximadamente 30 dias antes da data prevista para o parto as ovelhas foram

separadas de maneira aleatória em três grupos e administrados os suplementos conforme a seguir: Grupo 1 (G1/n=6): 30 mL de propilenoglicol (Propileno Glicol PA - Vetec) via oral diariamente; Grupo 2 (G2/n=5): 1mg de cobalto via oral diariamente e 2mg de vitamina B₁₂ (Monovin B₁₂ – Bravet) via intramuscular semanalmente e Grupo 3 (G3/n=6): Grupo controle. As amostras de sangue foram colhidas da jugular em tubos a vácuo sem anticoagulante, para obtenção do soro e com fluoreto de sódio para o plasma. Foram estabelecidos sete momentos experimentais: 30 dias antes da data prevista para o parto, momento do parto, às 24h, 72h, 5 dias, 15 dias e 30 dias após o parto. Determinou-se as atividades séricas das gama glutamiltransferase (GGT liquiform), aspartato aminotransferase (AST liquiform), fosfatase alcalina (FA liquiform) e creatino quinase (CK liquiform); proteína total, albumina, uréia (Uréia CE), creatinina e glicose (Glicose PAP), seguindo as recomendações do fabricante (Labtest Diagnóstica S.A. MG/ Brasil), conforme recomendado pela *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC). A leitura foi efetuada em analisador bioquímico semi-automático (Labquest – Labtest Diagnóstica).

Na análise estatística dos dados foi empregada análise de variância para as variáveis, que apresentaram a média como medida de tendência central. No caso da estatística resultar significativa ($P < 0,05$), foi efetuado os contrastes entre médias pelo método de Tukey. Para as variáveis não paramétricas foi realizada a Prova de Kruskal-Wallis para amostras independentes e Friedman para as amostras dependentes (CURI, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação do perfil enzimático da AST, GGT, FA e CK, verificou-se não haver diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os grupos estudados nos diferentes momentos experimentais, assim como não ocorreu efeito de momento ao longo dos momentos de observação, permanecendo as atividades séricas destas enzimas situadas dentro dos valores de normalidade para a espécie ovina (KANEKO et al. 1997; MEYER & HARVEY, 1998).

Na análise do perfil protéico foi observado que os valores da proteína total, albumina e globulina mantiveram-se estáveis nos períodos de observação ($P > 0,05$), não sendo também constatada diferença significativa entre os grupos ($P > 0,05$), conforme também relatado por BRITO (2006), acompanhando ovelhas da raça Lacaune durante os períodos de gestação e lactação. Os valores destas variáveis permaneceram dentro da normalidade para a espécie (KANEKO et al., 1997). Apesar de não ter sido evidenciado diferença significativa entre os grupos, foi observado que os valores da proteína total do G2 foram superiores aos demais,

sugerindo que o fornecimento de cobalto na dieta aumenta a disponibilidade de proteínas, conforme relatado por KADIN et al. (2003).

Ao analisar os valores da uréia, verificou-se não haver diferença significativa ($P>0,05$) entre os grupos nos diferentes momentos, como também não haver efeito de momento ($P>0,05$), estando estes índices situados na faixa de normalidade para a espécie estudada (KANEKO et al., 1997).

Na avaliação da creatinina verificou-se não haver diferença ($P>0,05$) entre os grupos durante a fase experimental, no entanto no momento do parto notou-se elevação ($P<0,05$) desta variável no grupo G2 (0.90mg/dL), que mesmo assim permaneceu situada dentro dos valores de normalidade (MANGUEIRA, 2008). Não ocorreu efeito de momento nos grupos G1 e G3, no entanto observou-se diminuição nos valores desta variável no G2 a partir de 72h até 30 dias após o parto, não caracterizando qualquer alteração na funcionalidade renal.

Quanto aos valores da glicose sanguínea foi verificado que os grupos se comportaram de forma semelhante ao longo do experimento, não havendo diferença significativa ($P>0,05$). Os valores médios de glicose 30 dias antes do parto estavam situados no limiar inferior, considerado como de normalidade por KANEKO et al. (1997), sendo observado valores de 49,35mg/dL, 53,0mg/dL, 51,5mg/dL nos G1, G2 e G3, respectivamente. Este achado é justificado por ser o requerimento de glicose obrigatório, uma vez que é transferida da mãe ao feto, afim de atender a demanda energética fetal a partir da sua dieta e quando necessário retirando do próprio corpo reservas para manter este equilíbrio (HAY et al., 1983). Foi verificado efeito de momento no momento do parto, em que os valores desta variável atingiram níveis máximos no G1 (126,64mg/dL), G2 (183,0mg/dL) e G3 (155,38mg/dL), caracterizando um quadro de hiperglicemia, em decorrência do estresse do momento do parto, justificado pela liberação de hormônios glicocorticóides (OLIVEIRA et al. 2003). Os valores desta variável nos outros momentos experimentais estavam situados na faixa considerada de normalidade para ovinos (KANEKO et al., 1997).

CONCLUSÃO

A administração dos suplementos não influenciou no perfil enzimático e metabólico nos momentos de avaliação (antes, durante e após o parto), sendo somente observado, dentre as variáveis estudadas, a hiperglicemia no momento do parto.

AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, J. A. B. Toxemia da prenhez. **Jornal do Conselho Regional de Medicina Veterinária de Pernambuco: Veterinária e Zootecnia**, Recife, v. 26. p. 7, 2006.
- BRITO, M. A. **Variação dos perfis metabólico, hematológico e lácteo em ovinos leiteiros na Serra Gaúcha**. 59p. 2004. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- CURI, P. R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas**. Botucatu: Tipomic, 1997. 263p.
- FONSECA, L. F. L.; RODRIGUES, P. H. M.; LIMA, A. P.; LUCCI, C. S.; SANTOS, V. Suplementação de propilenoglicol para vacas no período peri-parto: efeitos sobre incidência de cetose, produção leiteira, score corporal e primeiro estro pós-parto. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 177-183, 2003.
- HAY, W. W.; SPARKS, J. J. W.; WILKENING, R. B.; BATTAGLIA, F. C.; MESCHIA, G. Partition of maternal glucose production between conceptus and maternal tissues in sheep. **American Journal of Physiology. Endocrinology, Metabolism and Gastrointestinal Physiology**, Bethesda, v. 245, E 347-350, 1983.
- KADIM, I. T.; JOHNSON, E. H.; MAHGOUB, O.; SRIKANDAKUMAR, A.; AL-AJMI, D.; RITCHIE, A.; ANNAMALAI, K.; AL-HALHALI, A.S. Effect of low levels of dietary cobalt on apparent nutrient digestibility in Omani goats. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 109, p. 209-216, 2003.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 932p, 1997.
- LACETERA, N.; BERNABUCCI, U.; RONCHI, B.; NARDONE, A. Effects of subclinical pregnancy toxemia on immune responses in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, Chigaco, v. 62, n. 7, p. 1020-1024, 2001.
- MANGUEIRA, J. M. **Perfil metabólico de ovinos Santa Inês submetidos a dietas contendo níveis de feno de jurema preta (*Mimosa tenuiflora* Wild.) e faveleira**

(*Nidoscopus phyllacanthus* Pax e K. Hoffm.) no semiárido paraibano. 29p. 2008. Monografia, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis.** Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. 373p.

NIELSEN, N. I.; INGVARTSEN, K. L. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 115, p. 191-213, 2004.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of sheep.** 6.ed. Washington D.C: National Academy Press, 99p., 1985.

OLIVEIRA, C. M. C.; BARBOSA, J. D.; PFEIFER, I. B.; ____ Parâmetros sanguíneos e urinários, no pré e pós-parto, de búfalas criadas em sistema exclusivo de pastejo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, p. 87-92, 2003.

ORTOLANI, E. L. **Toxemia da prenhez em pequenos ruminantes: como reconhecê-la e evitá-la.** 2008. Disponível em: <<http://br.monografias.com/trabalhos901/toxemia-prenhez-ruminantes>>. Acesso em: 01 ago. 2008.

ROOK, J. S. Pregnancy toxemia of ewes, does and beef cows. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 16, n. 2, p. 293-317, 2000.

SARGISON, N. D.; SCOTT, P. R.; PENNY, C. D.; PIRIE, R. S.; KELLY, J. M. Plasma enzymes and metabolites as potential prognostic indices of ovine pregnancy toxemia – a preliminary study. **British Veterinary Journal**, London, v. 150, p.271-277, 1994.

SCHLUMBOHM, C.; HARMEYER, J. Twin-pregnancy increases susceptibility of ewes to hypoglycaemic stress and pregnancy toxemia. **Research in Veterinary Science**, London, v. 84, p. 286-299, 2008.

WASTNEY, M. E.; WOLFF, J. E.; BICKERSTAFFE, R. Glucose turnover and hepatocyte glucose production of starved and toxemic pregnant sheep. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 36, p. 271-284, 1983.

SÍNDROME DO ABSCESSO PITUITÁRIO EM OVINOS: RELATO DE CASOS

Eduardo Levi de Sousa Guaraná¹, Pedro Leopoldo Jerônimo de Monteiro Júnior¹, Rafael Otaviano do Rego², José Augusto Bastos Afonso³, Carla Lopes de Mendonça³, Franklin Riet-Correa⁴, Antonio Flávio Medeiros Dantas⁴ José Claudio de Almeida Souza⁵

1. Médico Veterinário, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
2. Médico Veterinário, Residente da Clínica de Bovinos - Campus Garanhuns, UFRPE
3. Médico (a) Veterinário (a), doutor, Clínica de Bovinos - Campus Garanhuns, UFRPE, 55292-901, Garanhuns, C.P. 152, Pernambuco, Brasil – E-mail:cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)
4. Médico Veterinário, professor, CSTR - Campus Patos, Universidade Federal de Campina Grande
5. Médico Veterinário, professor, Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG/UFRPE)

PALAVRAS-CHAVE: Infecção bacteriana, pequenos ruminantes, *rete mirabile*, sistema nervoso central.

ABSTRACT

PITUITARY ABSCESS SYNDROME IN SHEEP: CASE REPORTS

This study reports the clinical, laboratory, microbiological, and pathological findings of four adult male sheep with pituitary abscess, which were raised in confinement. The most evident clinical signs were depression, persistent decubitus ulcers, hypothermia, anorexia, and ruminal hypomotility. Blood tests revealed an inversion of the lymphocyte-neutrophil ratio and hyperfibrinogenemia. Necropsy findings included abscesses within the third ventricle, hypophysis, and thalamus. Histopathological analysis showed acute multifocal suppurative meningoencephalitis. Two abscess cultures were positive for *Corynebacterium* sp. and *Staphylococcus aureus*.

KEYWORDS: Bacterial infection, Central Nervous System, *rete mirabile*, small ruminants.

INTRODUÇÃO

Abscessos do sistema nervoso geralmente originam-se de focos de bactérias piogênicas que se instalam a partir de infecções localizada (descorna) e de focos de infecção (linfadenite caseosa) (MACHEN et al., 2004). Abscessos da pituitária ocorrem mais em ruminantes do que em outras espécies e podem ser secundários à disseminação hematogênica de processos supurativos, especialmente da cabeça como sinusites, rinites e lesões dentárias ou por extensão direta de lesões purulentas localizadas na cabeça como otite interna ou, ainda,

em eqüinos, como resultado da inflamação das bolsas guturais (FERNANDES & SCHILD, 2007). Os abscessos cerebrais podem acometer variadas espécies animais, sendo relatados em bovinos (SILVA et al., 1973), ovinos (AMAND et al., 1973), caprinos (GLASS et al., 1993), búfalos (OLIVEIRA FILHO et al., 2004) e eqüinos (RAPHEL, 1982).

Os abscessos hipofisários são focais ou multifocais, em caprinos e ovinos são muitas vezes causados por *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Fusobacterium necrophorum* e *Actinomyces pyogenes*. Há relatos de que o agente *Corynebacterium pseudotuberculosis* que causam a formação de abscessos cerebrais em ovinos (GLASS et al., 1993).

Os sinais clínicos variam em função da localização neuroanatômica do abscesso cerebral, sendo observado inicialmente depressão, vômitos, hemiparesia, hemianopsia e pressão na cabeça que podem ser sutis e freqüentemente não serem detectados pelo proprietário. Os sinais neurológicos agravam-se e tornam mais numerosos à medida que o(s) abscesso(s) aumenta(m). A bradicardia, junto com depressão e uma atitude de fitamento no infinito, é descrita como indicativa de um abscesso hipofisário (REBHUN, 2000), outros sinais apresentados são: opistótono, nistagmo, andar em circulo e tremores (GLASS et al., 1993; SANTA ROSA & SANTA ROSA, 1998; FERNANDES & SCHILD, 2007).

Neste trabalho o objetivo foi relatar os achados clínicos, laboratoriais, microbiológicos e patológicos de quatro ovinos acometidos de Síndrome do Abscesso Pituitário atendidos na Clínica de Bovinos (CBG) – Campus Garanhuns/UFRPE.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados os dados das fichas clínicas em quatro ovinos que demonstravam sinais nervosos, atendidos na CBG nos anos de 2008 e 2009, onde se resgatou as informações relacionadas aos dados epizootiológicos, achados clínicos, laboratoriais e patológicos. Dos quatro animais que deram entrada, dois chegaram mortos, enquanto que os outros dois se submeteram à exame clínico seguindo as recomendações de DIFFAY et al. (2004). Em dois animais foram colhidas amostras de sangue, em tubo com anticoagulante, para realização de hemograma seguindo a metodologia proposta por JAIN (1993). Amostras de soro sanguíneo foram coletadas de dois animais, em tubo sem anticoagulante, para realização da bioquímica sérica em kits comerciais. Todos os animais foram necropsiados e amostras teciduais fixadas em formol a 10% foram enviadas para análise histopatológica de rotina. Duas amostras dos materiais caseosos encontrado na região pituitária foram submetidos à exames microbiológicos segundo QUINN et al. (1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho todos os animais vieram a óbito, com evolução clínica que variou de poucas horas a quatro dias, refletindo provavelmente a progressão da doença e a sua gravidade como afirma FERNANDES & SCHILD (2007).

Os ovinos na sua maioria tinham idade variando entre um e oito anos, semelhante à faixa etária descrita por GUEDES et al. (2007). Eram criados em sistema intensivo, corroborando estes achados com RIET-CORREA (2007) que relatou que animais usados em manejo reprodutivo gera um fator de estresse e o surgimento de diversas doenças, como também na disseminação da linfadenite caseosa. Em três casos, os animais eram do sexo masculino, corroborando com PERDRIZET & DINSMORE (1986) onde comenta haver mais ocorrência para o sexo masculino, e assinala os relatos envolvendo bovinos e ovinos, em que o comportamento agressivo pode causar danos com sinusite ou sepse secundária intracraniana e ser um fator contribuinte.

Os animais que chegaram vivos na CBG apresentavam como sinais clínicos: a posição de decúbito, depressão, hipotermia, mucosas oculares hipercoradas, disfunção pupilar, anorexia e hipomotilidade ruminal que demonstram uma condição clínica desfavorável, sinais estes também descritos por FERNANDES & SCHILD (2007).

As análises laboratoriais em dois animais doentes, os valores do leucograma encontravam-se normais para a espécie, porém com predomínio de neutrófilos segmentados, presença de bastonetes, eosinofilia absoluta e hiperfibrinogenemia. Entretanto na literatura, o hemograma pode revelar valores normais ou leucocitose (MACHEN et al., 2004). Nos casos citados as análises bioquímicas revelaram hipoglicemia e azotemia, caracterizando a gravidade da condição clínica dos animais acometidos.

Na necropsia, observou-se na maioria dos animais: a vascularização dos anéis traqueais ingurgitada; coração na região epicárdica e endocárdica apresentando hemorragias petequiais; pulmões com presença de edema e congestão, porém em dois animais evidenciou-se a presença de nódulo firme de diâmetro variando entre dois e três centímetros, que ao corte deixou fluir conteúdo purulento denso e hiperemia da mucosa abomasal. Na abertura do terceiro ventrículo dos quatro animais, havia a presença de conteúdo abscedativo de coloração esbranquiçada e aspecto caseoso; localizado próximo à hipófise e do osso baso-esfenóide envolvendo a complexa vascular (*rete mirabile*) e estruturas adjacentes, principalmente os nervos óptico e trigêmeo. Os achados necroscópicos do trabalho estão de acordo com o citado por MACHEN et al. (2004) relatando que a partir do foco de infecção a bactéria pode se disseminar e causar septicemia.

Os achados histopatológicos revelaram uma meningoencefalite supurativa aguda, multifocal, moderada, associada à formação de abscessos e colônias bacteriana na hipófise e em um caso também no tálamo. No presente estudo foi realizada cultura de dois abscessos com isolamento de *Corynebacterium* sp. e *Staphylococcus aureus*, estando este último agente de acordo com citações de PERDRIZET & DINSMORE (1986) e GLASS et al. (2003). Segundo relatos de SANTA ROSA & SANTA ROSA (1999) houve o isolamento de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em abscessos e lesões supurativas no sistema nervoso central.

CONCLUSÃO

Tendo em vista a ocorrência da Síndrome do Abscesso Pituitário nos casos que foram observados nódulos abscedativos em outros órgãos (bronicopneumonia abscedativa), sugere-se a origem a partir da linfadenite caseosa. Deve-se conscientizar os criadores de pequenos ruminantes da necessidade em implementar medidas higiênico-sanitárias na propriedade, para diminuir a ocorrência das enfermidades, como a linfadenite caseosa. Para os veterinários, recomenda-se observar a importância que deve ser dada ao exame da cavidade cefalorraquidiana dos animais que vieram a óbito com sintomatologia nervosa, onde macroscopicamente a lesão pode ser diagnosticada e coletar fragmentos para diagnóstico diferencial com outras enfermidades.

REFERÊNCIAS

- AMAND, W.; deLAHUNTA, A.; ANSLEY, J.; JOHNSON, J. Brain abscess in a Barbados sheep. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 163, p. 562-564, 1973.
- DIFFAY, B. C.; MCKENZIE, D.; WOLF, C.; PUGH, D. G. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, p. 1-19, 2004.
- FERNANDES, C. G; SCHILD, A. L. Abscessos do sistema nervoso central. In: RIET-CORREA, F. (Ed.) et al. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3.ed. Santa Maria: Pallotti, p. 202-207, 2007.
- GLASS, E. N.; LAHUNTA, A.; JACKSON, C. Brain abscess in a goat. **Cornell Veterinary**, Ithaca, v. 83, p. 275-282, 1993.

GUEDES, K. M. R.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, A. F. M.; SIMÕES, S. V. D.; MIRANDA NETO, E. G.; NOBRE, V. M. T.; MEDEIROS, R. M. T. Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 1, p. 29-38, 2007.

JAIN, N. C. **Essential of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

MACHEN, M. R.; WALDRIDGE, B. M.; CEBRA, C.; CEBRA, M.; BELKNAP, E. B.; WILLIAMSON, L. H.; PUGH, D. G. Enfermidades do sistema nervoso. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, p.311-352, 2004.

OLIVEIRA FILHO, J. P.; BORGES, A. S.; AMORIM, R. M.; GONÇALVES, R. C.; CHIACCHIO, S. B.; ROCHA, N. S.; TAKAHIRA, R. K. Cegueira por abscesso pituitário em búfala. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, Recife, v. 7, n. 1, p. 57-62, 2004.

PERDRIZET, J. A.; DINSMORE, P. Pituitary abscess syndrome. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Princeton, v. 8, sup., p. 311-317, 1986.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. **Clinical veterinary microbiology**. Mosby: London, 1994. 648p.

RAPHEL, C. F. Brain abscesses in three horses. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.180, p. 874-877, 1982.

REBHUN, W. C. **Doenças do gado leiteiro**. São Paulo: Roca, p. 501-544, 2000.

RIET-CORREA, F. Linfadenite caseosa. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L. LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. Santa Maria: Pallotti, 3ª ed., p. 347-352, 2007.

SANTA ROSA, J.; SANTA ROSA, M. G. Inflamações supuradas e granulomatosas no sistema nervoso de caprinos. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, Recife, v. 2, n. 2, p. 108-111, 1999.

SILVA, J. M. L.; DE PAULA, I. R.; LUCIO, W. F.; COUTO, E. S. Abscesso cerebral em bovinos. **Arquivos da Escola Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 25, p. 27-32, 1973.

FALHA DA TRANSFERÊNCIA DA IMUNIDADE PASSIVA EM CORDEIROS MISTIÇOS (SANTA INÊS X DORPER): EFEITO NO PROTEINOGRAMA E TAXA DE MORTALIDADE DO NASCIMENTO ATÉ O DESMAME.

Débora de Fátima Matias da Silva; Joselito Nunes Costa²; Alexandre Lôpo Araújo³; Vitor Santiago de Carvalho⁴; Ana Paula Cardoso Peixoto⁵, Lilian Oliveira Alves⁶ e Margareth Moura Ferreira⁷

¹Médica Veterinária, mestre em Ciência Animal nos Trópicos, Escola de Medicina Veterinária – UFBA.
E-mail: deboramatias@yahoo.com.br (autor correspondente).

²Médico Veterinário, Dr., Prof. Departamento de Patologia e Clínicas, Escola de Medicina Veterinária – UFBA.

³Médico Veterinário, autônomo.

⁴Médico Veterinário, mestrando em Ciência Animal nos Trópicos – Escola de Medicina Veterinária – UFBA.

⁵Médica Veterinária, Dr.^a, Prof.^a do curso de Medicina Veterinária da União Metropolitana de Educação e Cultura – UNIME.

⁶Médica Veterinária, Agência de Defesa Agropecuária da Bahia – ADAB.

⁷Médica Veterinária, Centro de Desenvolvimento da Pecuária – UFBA.

PALAVRAS-CHAVE: Eletroforese, gamaglobulinas, neonatos, ovinos, proteínas séricas.

ABSTRACT

PASSIVE IMMUNITY TRANSFER FAILURE IN CROSSBRED LAMBS (SANTA INÊS X DORPER) AND ITS EFFECTS ON PROTEINOGRAM AND MORTALITY RATES FROM BIRTH TO 90 DAYS OLD

This study analyzes failure of passive immunity transfer (FTP) in 45 lambs born from healthy and pluriparous ewes. The animals were observed and examined in 6 different periods: 24-72 hours after birth and when they were 7, 15, 30, 60, and 90 days of age (weaning time). Clinical evaluations determined levels of total serum protein and eletrophoretic protein fractions. It was established that values below 4,5g/dL indicated FTP, which occurred in 11 cases (24,4%). Lambs with FTP showed lower concentrations of serum proteins, albumin, alpha globulins, beta-1 and beta-2 globulins, and gamma-globulins ($p<0,05$). However, there were no significant differences between the groups from 7th to 90th day, indicating a compensation process. The mortality rate reached 11,1%. Deaths were caused by starvation or hypothermia (40%), malformations (20%), and bronchopneumonia (20%). There were also reports of sudden deaths (20%).

KEYWORDS: Eletrophoresis, gammaglobulins, neonates, serum proteins, sheep.

INTRODUÇÃO

Os ruminantes têm placenta do tipo sindesmocorial, pela qual não há uma passagem adequada de imunoglobulinas para o feto devido à existência de um maior número de estratos tissulares que separam a circulação materna da fetal. Isso faz com que os neonatos destas espécies sejam hipogamaglobulinêmicos e dependam dos anticorpos absorvidos do colostro. Logo, uma transferência bem sucedida de imunoglobulinas colostrais da ovelha para o cordeiro é de importância primordial para a sobrevivência do recém-nascido (GILBERT et al. 1998; TIZARD, 2004).

A falha da transferência passiva imune (FTP) é a ausência de adequada concentração das imunoglobulinas plasmáticas, diagnosticada entre 24 e 48 horas após o nascimento (HALLIDAY, 1978; COSTA, 2001). A condição de FTP é responsável por um aumento na incidência e severidade de casos de septicemia neonatal, pneumonia e diarreia entre outras afecções, elevando significativamente a taxa de mortalidade de ruminantes recém-nascidos e também comprometendo o desempenho produtivo em idades posteriores (DONOVAN et al., 1998; LA RAGIONE et al., 2006). BEKELE et al. (1992) verificaram que 1,8% e 15,3% de 628 cordeiros tiveram falha total ou parcial de transferência de imunoglobulinas maternas e 54,5% dos cordeiros com falha total de transferência de imunidade passiva vieram a óbito.

O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência da falha da transferência da imunidade passiva numa propriedade com um determinado sistema de manejo de ovinocultura, verificando a sua influência no proteinograma e na taxa de mortalidade do nascimento até o desmame (90 dias).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 45 cordeiros, machos e fêmeas, com graus de sangue variados, (1/2 sangue a 3/4 dorper) nascidos de mães pluríparas com idade média de três anos. Os cordeiros nasciam no piquete ou no curral maternidade, de parto natural e permaneciam com as matrizes ingerindo o colostro *ad libitum*. Estes foram acompanhados em seis momentos: às 24-72 horas após o nascimento (M1), aos sete dias de idade (M2), 15 dias (M3), 30 dias (M4), 60 dias (M5) e 90 dias de idade (M6). Nestes momentos realizava-se avaliação clínica completa segundo PUGH (2004) e colheita de amostras de sangue para obtenção de soro sanguíneo. Estas amostras foram mantidas sob temperatura -20°C.

Realizou-se dosagem de proteína sérica total pelo método colorimétrico por reação com o biureto utilizando-se kit comercial (Doles), segundo metodologia proposta por GORNALL et al. (1949) modificado por STRUFALDI (1987). A leitura foi realizada em

espectrofotômetro utilizando-se comprimento de onda de 550nm. A separação das frações protéicas foi realizada por eletroforese em gel de agarose (Celmigel), utilizando-se tampão Tris pH $9,5 \pm 0,2$. As placas de gel de agarose foram coradas em negro de amido a 0,2% e descoradas em ácido acético a 5%, de acordo com metodologia descrita por FRIEDMAN (1961). A leitura e o cálculo do fracionamento eletroforético foram realizados em densitômetro a 520 nm segundo CANAVESSI (1997), com separação manual das várias frações protéicas (albumina, alfa, beta e gama globulinas).

A análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio do programa Statistica versão 6.0 (STATISTICA, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Adotando o critério proposto por FEITOSA et al. (2001), no qual em condições de ausência de desidratação, concentrações de proteína sérica acima de 5g/dL indicam transferência passiva bem sucedida enquanto que valores abaixo de 4,5g/dL são considerados FTP: dos 45 animais utilizados, 11 (24,4%) tiveram proteinemia às 24-72 horas de vida menor ou igual a 4,5g/dL (G1), e 34 tiveram teores de proteínas séricas totais superiores a 4,5g/dL (G2). No entanto há enorme discordância de opiniões entre autores quanto à definição de um valor ideal de proteína total e também nos outros métodos diagnósticos da FTP. Adotando os critérios de NAYLOR et al. (1977), que observaram FTP em bezerros que possuíam concentração de proteína sérica total menor ou igual a 6,0g/dL nós teríamos nesta 66,6% dos animais acometidos. No caso dos valores de referência utilizados por HEATH (1992), que adotou proteína sérica mínima de 5,5g/dL, 46,6% dos cordeiros não teriam um aporte adequado de imunoglobulinas maternas. COSTA (2001) utilizou valor de proteína sérica total de 5,0g/dL, com este parâmetro os índices de FTP nesta pesquisa seriam 37,8%.

As concentrações de proteínas séricas totais apresentaram valores significativamente superiores ($p < 0,05$) no G2 ($6,12 \pm 0,44$) quando comparados com os valores de G1 ($3,94 \pm 0,36$) no M1. As frações eletroforéticas tiveram comportamento semelhante neste momento. Nos demais momentos as frações protéicas não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Neste estudo, as modificações observadas no perfil eletroforético durante desenvolvimento etário foram basicamente, em consequência das frações albumina e gamaglobulina. Isto está de acordo com as observações de KANEKO (1997), verificando que logo após o nascimento as proteínas se apresentam com valores mínimos devido aos baixos teores de globulinas e de albumina. No entanto, após a ingestão de colostro, há um rápido

aumento da fração gamaglobulina como resultado da absorção das imunoglobulinas colostrais.

As proteínas séricas totais, no M4, apresentaram concentração discretamente superior no G1 ($5,03 \pm 0,37$) em relação ao G2 ($4,88 \pm 0,39$). Também notou-se que no G1 o valor mais baixo da concentração desta ocorre aos 15 dias de idade ($4,84 \pm 0,54$), enquanto que no G2 o valor mínimo desta concentração ocorre aos 30 dias ($4,88 \pm 0,39$).

A fração gamaglobulina apresentou concentrações superiores ($p < 0,05$) no G2 ($1,98 \pm 0,98$) em relação ao G1 ($1,25 \pm 0,57$) às 24-72h após o nascimento, porém esta diferença não ocorreu nos demais momentos de análise. Nota-se que aos 15 dias as concentrações de gamaglobulinas de G1 ($0,98 \pm 0,45$) apresentam-se discretamente superiores às de G2 ($0,97 \pm 0,36$). Esse comportamento se mantém até os 90 dias de idade.

PAULETTI et al. (2003) verificaram que nos animais com baixa aquisição inicial de anticorpos houve uma produção de imunoglobulinas mais precoce. Já nos animais com concentrações adequadas de anticorpos, verificou-se uma fase de catabolismo prolongada das imunoglobulinas e um início mais tardio da síntese endógena de anticorpos. De acordo com FEITOSA et al. (2003), a produção de imunoglobulinas endógenas parece ser mais acelerada em animais hipogamaglobulinêmicos, verificando a interferência de elevadas concentrações séricas de imunoglobulinas obtidas passivamente, retardando o momento do início da produção ativa das mesmas. Estas observações também foram realizadas por BORGES et al. (2001) que verificaram o comportamento do proteinograma de 32 bezerros holandeses subdivididos em cinco grupos com diferentes métodos de ingestão de colostro e observaram que o grupo de bezerros privados de colostro (hipogamaglobulinêmicos) chegou aos 90 dias com a fração gamaglobulina maior (porém não significativa) do que os bezerros que ingeriram colostro diretamente das vacas.

A mortalidade de cordeiros neste experimento foi de 11,1% (5 animais), taxa esta equivalente às taxas obtidas por outros autores no Brasil (GIRÃO et al., 1998; RIET-CORREA & MÉNDEZ, 2001). No entanto nossos índices foram inferiores aos obtidos por NÓBREGA JR. et al. (2005). Há uma ampla variação nas taxas de mortalidade e se devem provavelmente ao nível de tecnificação da propriedade ovinocultora, a aspectos de higiene, sistema de criação, etc.

As causas de mortalidade dos cordeiros neste trabalho foram complexo inanição/hipotermia (40%), má-formação (20%), broncopneumonia (20%), e morte súbita (20%). Outros autores também observaram que a causa mais freqüente de óbito de cordeiros no período neonatal é o complexo inanição/hipotermia (CHAARANI et al., 1991; RIET-

CORREA & MÉNDEZ, 2001; NÓBREGA JR. et al., 2005) seguida por outras causas que incluem distocia, infecção neonatal, malformação e predação.

CONCLUSÕES

Verificou-se que a ocorrência de FTP em rebanhos ovinos é um fator econômico preocupante no sistema de produção, podendo acometer 24,4% dos cordeiros. Observou-se também que os animais hipogamaglobulinêmicos apresentam baixos teores de proteínas séricas e de todas as suas frações eletroforéticas às 24-72 horas após o nascimento. No entanto, há uma rápida recuperação, e após os sete dias de idade não se verificou diferenças significativas entre estas até os 90 dias. Isto provavelmente ocorreu devido maior estímulo antigênico neste grupo animal por sua condição de hipogamaglobulinemia, o que ocasiona uma aceleração na síntese de imunoglobulinas endógenas. Verificou-se taxa de mortalidade neonatal de 11,1% cujas causas foram complexo inanição/hipotermia, má-formação, broncopneumonia e morte súbita.

REFERÊNCIAS

- BEKELE, T.; OTESILE, E.B.; KASALI, O.B. Influence of passively acquired colostral immunity on neonatal lamb mortality in Ethiopian highland sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 9, p. 209-215, 1992.
- CANAVESSI, A. M. M. O. **Valores do perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*) criados na região de Botucatu, São Paulo: Influência dos fatores etários e sexuais**. 1997. 180p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- CHAARANI, B.; ROBINSON, R. A.; JHONSON, D. W. Lamb mortality in Meknes province (Morocco), **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 10, p. 283-298, 1991.
- COSTA, J. N. **Leucograma, metabolismo oxidativo dos neutrófilos, proteinograma e imunoglobulinas de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*): influência da idade e da suplementação com vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol)**. 2001. 217p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu,
- DONOVAN, G. A.; DOHOO, I. R.; MONTGOMERY, D. M., et al. Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, U.S.A. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 34, n. 1, p. 31-46, 1998.
- FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; et al. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gama glutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 251-255, 2001.

FEITOSA, F. L. F.; BORGES, A. S.; BENESI, F. J. et al. Concentração de imunoglobulinas G e M no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa até os 90 dias de idade. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.40, sup. 1, p. 26-31, 2003.

FRIEDMAN, H. S. A standardized procedure for serum protein electrophoresis on cellulose acetate membrane strips. **Clínica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 6, p. 775-781, 1961.

GILBERT, R. P., GASKINS, C. T., HILLERS, J. K., PARKER, C. F.; MCGUIRE, C. T. Genetic and environmental factors affecting immunoglobulin G1 concentrations in ewe colostrums and lamb serum. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 66, p. 855-863, 1988.

GIRÃO, R. N.; MEDEIROS, L. P.; GIRÃO, E. S. Mortalidade de cordeiros da raça Santa Inês em um núcleo de melhoramento no estado do Piauí. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 641-645, 1998.

GORNALL, A. G.; BARDWAILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum protein by means of biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 177, p. 751-766, 1949.

HALLIDAY, R. Immunity and health in young lambs. **Vet. Rec.**, v. 103, p. 489-492, 1978.

HEATH, S.E. Neonatal diarrhea in calves: Investigation of herd management practices. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Princeton, v. 14, n. 3, p. 385-95, 1992.

KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, p. 703 – 739. 1997.

LA RAGIONE, M.M.; BEST, A.; CLIFFORD, D. et al. Influence of colostrum deprivation and concurrent *Cryptosporidium parvum* infection on the colonization and persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in young lambs. **Journal of Medical Microbiology**, Edinburgh, v. 55, p. 819-828, 2006.

NAYLOR, J. M.; KRONFELK, D. S.; BECH-NIELSEN, S., et al. Plasma total protein measurement for prediction of disease and mortality in calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 171, n. 7, p. 635-638, 1977.

NÓBREGA JR., J. E.; RIET-CORREA, R.; NÓBREGA, R. S. et al. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 171-178, 2005.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U. et al. Quality of colostrum passive immunity and pattern of serum protein fluctuation in newborn calves. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.3, p. 453-456, 2003.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C. Mortalidade perinatal em ovinos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L., MÉNDEZ, M.C. et al. **Doenças de ruminantes e equinos**, 2.ed. São Paulo: Varela, 2001.

STATISTICA version 6.0. **Data analysis software system**. Tulsa, StatSoft, Inc., 2001.

STRUFALDI, B. **Prática de bioquímica clínica**. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 1987. 399p.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 7.ed. London: Saunders Company. 2004. 494 p.

COMPRESSÃO E ESTENOSE ESOFÁGICA ASSOCIADAS À LINFADENITE CASEOSA EM OVINO

Leonardo de Rago Nery Alves¹, Marina Rios de Araújo², Luigi Francis Lima Cavalcanti¹, Márcio Gianordoli Teixeira Gomes³, Juliana Del Giúdice Paniago⁴, Rubens Antônio Carneiro⁵, Roselene Ecco⁶

1. Médico Veterinário

2. Mestranda em Medicina Veterinária, Escola de Veterinária - UFMG

3. Doutorando em Zootecnia, Escola de Veterinária - UFMG

4. Residente em Patologia Veterinária, Escola de Veterinária - UFMG

5. Professor Adjunto. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária-UFMG

6. Professora Adjunta. Setor de Patologia. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária. Escola de Veterinária - UFMG. Belo Horizonte, MG, Brasil, 30193-970. E-mail: ecco@vet.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Abscesso, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, regurgitação de alimento.

ABSTRAT

ESOPHAGEAL COMPRESSION AND STENOSIS ASSOCIATED WITH CASEOUS LYMPHADENITIS IN SHEEP

This paper describes the occurrence of esophageal compression and stenosis associated with caseous lymphadenitis in sheep from Minas Gerais, Brazil. Over a four-month period, clinical signs were progressive and included episodes of regurgitation, coughing, and dyspnea after eating. Thoracic radiography revealed esophageal dilatation and the presence of a round radiopaque mass in the mediastinum. In view of a poor prognosis, euthanasia was performed. Grossly, aortic and thoracic lymph nodes were enlarged in the mediastinal region due to abscess formation. Consequently, there was compression, local stenosis, and moderate cranial dilatation. The ulcer in the esophageal mucosa communicated with the abscess within the mediastinal lymph nodes and drained its exsudate into the lumen. Mammary and uterine abscesses were also found, all of which were assessed through morphological and biochemical examination. Microscopic analysis showed severe lymphadenitis and ulcerative esophagitis associated with chronic active inflammation of adventitial and muscular layers. *Corynebacterium pseudotuberculosis*, the causative agent of caseous lymphadenitis in sheep and goats, was isolated. These findings highlight the importance of considering caseous lymphadenitis as differential diagnosis of food regurgitation in small ruminants.

KEYWORDS: Abscess, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, food regurgitation.

INTRODUÇÃO

Linfadenite caseosa é uma doença crônica de ovinos e caprinos, causada pela bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*. É caracterizada pela formação de abscessos em linfonodos superficiais e/ou disseminação para linfonodos internos e outras vísceras (ECKERSALL et al., 2007). *Corynebacterium pseudotuberculosis* é uma bactéria gram positiva, intracelular facultativa, patogênica para várias espécies de mamíferos incluindo ovinos, caprinos, equinos, bovinos, suínos, búfalos e humanos. Em medicina veterinária, sua maior importância está relacionada à ocorrência da linfadenite caseosa em pequenos ruminantes, estando presente nos rebanhos de todo o mundo. Essa doença é responsável por perdas econômicas consideráveis, devido à redução na produção de lã, carne e leite, diminuição da eficiência reprodutiva, condenação de carcaças e de couro nos abatedouros (DORELLA et al., 2006). Uma vez presente no rebanho essa doença é de difícil erradicação, em virtude de a terapia antibiótica ser geralmente refratária, devido a habilidade desse microrganismo em sobreviver no ambiente por períodos prolongados e pela presença de animais com a doença subclínica (WILLIAMSON, 2001). Esse trabalho tem como objetivo relatar a ocorrência de compressão e estenose esofágica associadas à linfadenite caseosa em um ovino em Minas Gerais, e ressaltar a importância de se considerar a linfadenite caseosa no diagnóstico diferencial de regurgitação alimentar em pequenos ruminantes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Um ovino da raça Santa Inês, fêmea, com idade aproximada de seis anos, foi adquirido em janeiro de 2008 para participação em experimento, na Fazenda Experimental da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), localizada no município de Pedro Leopoldo, MG. Dados epidemiológicos foram obtidos junto ao veterinário responsável pelo animal. Exame clínico e radiografia torácica contrastada (sulfato de bário) foram realizados.

O ovino foi submetido à eutanásia em junho de 2009 devido à condição corporal ruim resultante da perda de peso progressiva e regurgitação constante de alimento. Foi encaminhado ao Setor de Patologia da Escola de Veterinária da UFMG onde foi realizada necropsia. Todos os órgãos foram avaliados macroscopicamente e amostras dos linfonodos aórtico-torácico, mediastínicos, mamário e do esôfago foram coletadas, fixadas em formol neutro a 10% e processadas rotineiramente para histopatologia. Amostras dos abscessos nos linfonodos mediastínicos e aórtico-torácico foram coletadas para isolamento bacteriano.

RESULTADOS

Segundo o médico veterinário, o ovino passou por um período de adaptação ambiental e nutricional na fazenda antes de ser utilizado em experimento. Todo o rebanho era alimentado em regime de pastagem (*Brachiaria spp.*) e recebia suplementação de concentrado à base de milho e soja. Após cerca de dois meses na fazenda o ovino iniciou um quadro de regurgitação, tosse e dispnéia após alimentação. Três meses após o início dos sinais clínicos, o animal apresentava anorexia, só se alimentando de concentrado, perda de peso progressiva e apatia discreta, resultando em escore corporal 1,0. Clinicamente detectou-se palidez leve das mucosas e redução dos movimentos ruminais tanto em amplitude como em frequência. No exame radiográfico, havia dilatação do esôfago na porção torácica e a presença de uma massa arredondada radiopaca na região mediastínica.

À necropsia, o estado nutricional era regular. Havia inúmeras aderências fibrosas entre a pleura visceral do lobo caudal e cranial direito e a pleura parietal e entre esta e o diafragma. Foi observado aumento de volume, com cerca de 5,0 cm de diâmetro, na região do linfonodo aórtico-torácico e, ao corte, observou-se material com aspecto caseoso, amarelo-esverdeado e encapsulado, caracterizando um abscesso. Na região dos linfonodos mediastínicos, havia uma massa alongada e flutuante, medindo 15 x 8 x 6 cm, a qual continha uma cápsula e ao corte grande quantidade de material viscoso amarelo-esverdeado. Essa reação inflamatória estava aderida e infiltrada na parede do esôfago. Em consequência, havia compressão e estenose local e dilatação moderada da porção cranial à estenose. Na parte caudal do abscesso distinguiram-se áreas da cortical do linfonodo mediastínico caudal. Na mucosa do esôfago na região da entrada do tórax havia múltiplas erosões lineares e úlceras com cerca de 1,0 a 2,0 cm de extensão. Nesse local, uma úlcera comunicava-se com o abscesso, drenando exsudato purulento para o lúmen. Abscessos também foram encontrados no linfonodo mamário e na serosa da cérvix uterina.

Histologicamente, no esôfago havia uma área de ulceração da mucosa e grande quantidade de neutrófilos, plasmócitos e macrófagos na camada muscular, associada à perda de fibras e fibrose moderada. Na adventícia, havia infiltrado inflamatório neutrofílico e histiocitário intenso e difuso, semelhante ao encontrado na camada muscular. Os linfonodos estavam com perda da arquitetura tecidual normal, e em um dos cortes observou-se pequena área de tecido cortical e da cápsula. O parênquima foi totalmente substituído por infiltrado neutrofílico acentuado associado a áreas extensas de necrose caseosa com focos de mineralização central, delimitadas por tecido conjuntivo fibroso. No cultivo bacteriológico foi isolada e identificada a bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

DISCUSSÃO

As alterações macroscópicas e histológicas foram compatíveis com linfadenite caseosa, confirmada pelo isolamento e identificação da bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*. A extensa linfadenite dos linfonodos mediastínicos com extensão para o esôfago determinou compressão e estenose esofágica levando à dilatação pré-estenótica e ao quadro clínico de regurgitação alimentar. Nos ovinos, infecção por *C. pseudotuberculosis* está associada à formação de piogranulomas, sendo a doença classicamente denominada linfadenite caseosa. As lesões ocorrem em duas formas principais: forma externa ou superficial e a forma interna ou visceral. A forma superficial é caracterizada pela abscedação de qualquer linfonodo externamente palpável, dependendo da porta de entrada do microrganismo. Lesões no tecido subcutâneo podem ocorrer sem haver associação direta com a presença de abscessos nos linfonodos, porém é menos comum. A forma visceral está associada a abscessos em linfonodos internos e outros órgãos (BAIRD & FONTAINE, 2007). No animal desse estudo, foi encontrado abscessos no linfonodo aórtico-torácico, nos linfonodos mediastínicos, mamário e na cérvix uterina, não sendo encontrado abscessos nos pulmões, que juntamente com os linfonodos mediastínicos, são os órgãos mais acometidos na forma visceral da linfadenite caseosa. Apesar disso, a presença de aderências fibrosas entre a pleura visceral e parietal e entre a pleura parietal e o diafragma é compatível com a fase de resolução de um processo inflamatório e infeccioso nos pulmões. Nos ovinos, abscessos no fígado, rins, coração, testículos, escroto, útero, articulações, cérebro ou medula espinhal ocorrem com menor frequência (BAIRD & FONTAINE, 2007).

A principal rota de entrada do *C. pseudotuberculosis* é a pele. A infecção é facilitada pela presença de ferimentos que aparecem durante procedimentos comuns de manejo como tosquia, castração ou outros eventos traumáticos. Outro importante fator de risco para a ocorrência de infecção é o banho para controle de ectoparasitos, pois o microrganismo pode persistir nos fluidos reutilizados ou reciclados. A realização desses banhos após tosquia pode aumentar o risco de linfadenite caseosa (RADOSTITIS et al., 2007). Segundo o veterinário, nessa fazenda, a doença é endêmica com vários animais apresentando sinais clínicos de linfadenite caseosa, especialmente a forma superficial da doença. Essa doença é de difícil controle, pois a bactéria sobrevive por períodos prolongados no ambiente, podendo ser recuperada de superfícies inanimadas 55 dias após contaminação. Solos experimentalmente contaminados podem conter bactérias viáveis após 8 meses. Os ácidos micólicos presentes na membrana celular dessa bactéria são fatores de virulência responsáveis por essa característica de resistência ambiental. Esses ácidos têm propriedades citotóxicas e são responsáveis pela

necrose tecidual, além de protegerem o agente das enzimas hidrolíticas presentes nos lisossomos. Dessa forma, essa bactéria resiste à fagocitose sendo considerada intracelular facultativa. Essa característica é essencial para a migração das bactérias do ponto inicial de entrada no organismo animal para os sítios de desenvolvimento das lesões. O *C. pseudotuberculosis* é pouco adaptado em estabelecer infecção persistente no sítio de infecção e, na maioria das vezes os microrganismos são drenados para linfonodos superficiais e/ou são carregados por macrófagos, por via hematogêna ou linfática até órgãos internos (BAIRD & FONTAINE, 2007). Outro fator de virulência importante na patogênese dessa doença é a fosfolipase D. Essa enzima, uma exotoxina codificada pelo gene *pld*, é responsável pelo aumento da permeabilidade vascular por promover hidrólise da esfingomielina, um lipídio componente da membrana celular. Além disso, prejudica a quimiotaxia de neutrófilos e, como consequência, diminui a probabilidade de fagocitose da bactéria no sítio inicial de infecção (DORELLA et al., 2006).

O ovino desse estudo apresentou abscessos na região do mediastino que levaram a obstrução esofágica extraluminal com consequente episódios clínicos de regurgitação de alimento. É importante ressaltar que outras patologias podem causar regurgitação alimentar e incluem todas as causas de obstrução esofágica extraluminal, como neoplasias na região do mediastino (linfoma ou timoma) ou na base do coração (RADOSTITS et al., 2007), abscessos causados por outros agentes como *Mycobacterium bovis* (RADOSTITS et al., 2007), *Arcobacterium pyogenes*, *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.* (UNANIAN et al., 1985). Ulcerações e perfurações na mucosa esofágica podem ser causadas por substâncias irritantes, pelo uso inadequado das pistolas dosificadoras (HUNGERFORD, 1990) ou pelo manuseio incorreto de sondas na tentativa de desobstrução (RADOSTITS et al., 2007). Nesse ovino, tentativa de desobstrução por sonda foi realizada, e possivelmente, originou as ulcerações observadas na necropsia.

CONCLUSÃO

A linfadenite caseosa deve ser considerada no diagnóstico diferencial de causas de estenose esofágica e regurgitação de alimento nos ovinos.

REFERÊNCIAS

- BAIRD, G. J.; FONTAINE, M. C. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. **Journal of Comparative Pathology**, Amsterdam, v. 137, n. 4, p. 179-210, 2007.
- DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G. C.; OLIVEIRA, S. C.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. **Veterinary Research**, Paris, v. 37, n. 2, p. 201-218, 2006.
- ECKERSALL, P. D.; LAWSON, F. P.; BENICE, L.; WATERSTON, M. M.; LANG, T. L.; DONACHIE, W.; FONTAINE, M. C. Acute phase protein response in an experimental model of ovine caseous lymphadenitis. **BMC Veterinary Research**, London, v. 3, n. 35, 2007.
- HUNGERFORD, T. G. **Diseases of livestock**. 9.ed., Sydney: McGraw Hill Book Company, 1990. 1942p.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 10.ed., New York: Elsevier Saunders, 2007. 2156p.
- UNANIAN, M. M.; FELICIANO SILVA, A. E.; PANT, K. P. Abscess and caseous lymphadenitis in goats in tropical semi-arid north-east Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, London, v. 17, n. 1, p. 57-62, 1985.
- WILLIAMSON, L. H. Caseous lymphadenitis in small ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 17, n. 2, p. 359-371, 2001.

OTITE INTERNA SECUNDÁRIA A BRONCOPNEUMONIA EM OVINO: RELATO DE CASO

Talita Maria Pimenta de Paoli¹, Graziela Barioni², Maria Aparecida da Silva³,

Marcus Alexandre Vaillant Beltrame⁴

1. Médica Veterinária Residente Clínica, Cirurgia e Anestesiologia de Equinos, Centro Universitário Vila Velha (UVV). CEP: 29102-690, Vila Velha- ES.
2. Médica veterinária, Dr.^a, Prof.^a do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha (UVV).
E-mail: gbarioni@uvv.br (autor correspondente)
3. Médica Veterinária Residente Patologia Animal, Centro Universitário Vila Velha (UVV).
4. Médico veterinário, especialista, Prof. do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha (UVV).

PALAVRAS-CHAVE: Infecção bacteriana, ouvido, pneumonia.

ABSTRACT

INTERNAL OTITIS AND CONCURRENT BRONCOPNEUMONIA IN SHEEP: CASE REPORT

This study reports a case of an internal ear infection associated with a concurrent respiratory disease in a 5-year-old Santa Inês sheep. Clinical signs included head tilt, drooped right ear and right side of the mouth, no menace response of the right eye, paresis in the right eye, accumulation of food on the right side of the mouth, abnormal breathing patterns, and hypophonesis in the respiratory auscultation. Results show the need for greater attention to the physical examination of patients with respiratory disorders due to the possibility of secondary ear infections; such an examination would avoid neurological impairment. Further research on this subject would also contribute to the development of effective treatment.

KEYWORDS: Bacterial infection, ear, pneumonia.

INTRODUÇÃO

A otite é definida como a inflamação das estruturas auditivas; é classificada de acordo com a região anatômica. A otite interna é o resultado do envolvimento do nervo vestibulo-coclear (PUGH et al., 2005), pode ser causada por bactérias, vírus ou fungos, infestação parasitária, neoplasias, lesões vasculares e disfunção imune (BLYTHE, 1997) e geralmente é acompanhada

por sintomas vestibulares periféricos, como desvio e rotação da cabeça e paralisia do nervo facial ipsilateral (PUGH et al., 2005). Os sinais neurológicos são decorrentes da diminuição da drenagem pelos condutos auditivos em razão do edema de mucosa e obstrução por exsudato, que podem ocasionar infecções persistentes e lesão dos nervos faciais (JENSEN et al., 1982).

Vários casos descritos em ovinos indicam que as otites média e interna podem ser decorrentes de infecções respiratórias pela migração das bactérias através dos condutos auditivos (PUGH et al., 2002). As principais bactérias isoladas de otite média são *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus* coagulase positiva hemolítico e *Streptococcus* hemolítico (MACLEOD et al., 1972; JENSEN et al., 1982).

Este trabalho relata o caso de uma ovelha apresentando sinais neurológicos em decorrência de otite interna secundária a infecção respiratória.

MATERIAL E MÉTODOS

No mês de abril de 2009, foi atendido no Hospital Veterinário (HV) “Prof. Ricardo Alexandre Hippler” do Centro Universitário Vila Velha (UVV) um ovino, fêmea, raça Santa Inês, 9 anos de idade, pesando 40 Kg, com histórico de acúmulo de conteúdo alimentar no vestíbulo oral direito, caquexia e apatia.

Ao exame clínico a ovelha apresentava-se alerta, cabeça inclinada para a direita, orelha direita pendulada e sem movimentação, mucosas ocular e vulvar pálidas e linfonodos submandibular direito e pré-escapular esquerdo aumentados. Ao exame da cavidade oral observou-se presença de restos vegetais e ração no vestíbulo oral direito, ausência do 1º e 2º incisivos e mobilidade dentária. Foi realizado exame neurológico, no qual se constatou assimetria facial com desvio do focinho para a direita devido atrofia dos músculos faciais ipsilaterais, estrabismo direito ventro-medial com rotação do globo ocular; tônus facial, reflexo palpebral e movimentação de orelha, pálpebra e lábio direito diminuídos, decorrentes da lesão em nervos troclear, vestíbulo-coclear e facial. Durante o exame otoscópico pode-se visualizar a hiperemia da membrana mucosa e discreta quantidade de exsudato purulento no conduto auditivo direito. Ao exame do sistema respiratório evidenciou-se tipo respiratório abdominal, ausência de alterações a percussão, entretanto à auscultação foi constatada intensa hipofonese.

Foram coletadas amostras de sangue e fezes e a avaliação laboratorial revelou que o animal apresentava-se anêmico (hematócrito 16%), com hiperfibrinogemia, neutrofilia e

linfopenia; exame parasitológico das fezes revelou um alto parasitismo (32.150 ovos e 150 oocistos) por grama de fezes. Coletou-se liquor para análise citológica e microbiológica, não sendo observadas alterações. No exame microbiológico de swab obtido do ouvido direito foi diagnosticada uma infecção mista por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella sp.* Realizou-se lavado traqueal e otológico e o material obtido foi enviado para cultura e antibiograma, sendo observado crescimento de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (lavado otológico) e *Escherichia coli* no lavado traqueal.

Inicialmente a ovelha foi tratada com ceftiofur (14 dias), flunexim meglumine (3 dias), fluidoterapia enteral com solução eletrolítica (5 dias), mas não apresentou melhora. Após lavagem otológica do ouvido direito e baseando-se no resultado do antibiograma, uso de enrofloxacin (16 dias). O animal não respondeu bem ao tratamento sendo indicada a eutanásia e realização de necropsia.

À necropsia durante avaliação macroscópica, externamente era evidente estado nutricional ruim, caquexia, desidratação de 8%; região peitoral com ulceração avermelhada de aproximadamente 3 cm de diâmetro; ausência dos primeiros e segundos incisivos; orelha direita com secreção de aspecto gelatinoso. Internamente eram evidentes linfonodos retrofaríngeos aumentados de tamanho; presença leve de espuma na traquéia indicando edema; pulmão hipocreptante, edemaciado, levemente congesto, áreas de coloração avermelhada em lobo direito na porção crânio-ventral, indicativo de pneumonia; presença de hidropericárdio em pequena quantidade, atrofia serosa da gordura; presença moderada de hidroperitônio; presença de um nódulo calcificado de 1 cm de diâmetro em fígado; atrofia gordurosa bilateral de pelve renal; presença de *Haemonchus contortus* em abomaso; cérebro apresentando lipofuscinose e substância cinzenta pálida; conduto auditivo direito apresentando secreção purulenta. Foram coletados fragmentos de órgãos para confecção das lâminas histopatológicas conforme as técnicas de rotina para inclusão em parafina e coloração por hematoxilina e eosina e swabs de pulmão e conduto auditivo direito para exame microbiológico.

No exame microscópico foi possível observar no pulmão, alvéolos e brônquios preenchidos por acentuado infiltrado inflamatório (pneumonia), com áreas de rompimento alveolar (enfisema pulmonar); presença de *Sarcocystis neurona* no miocárdio; baço moderadamente congesto com leve atrofia de polpa branca; fígado com degeneração vesicular predominantemente em hepatócitos centro lobulares, processo inflamatório polimorfonuclear;

hiperemia moderada devido ao processo inflamatório e provavelmente associada à anemia; rim com presença de material amorfo eosinofílico no interior dos túbulos renais e no espaço de Bowman (proteínose).

Do material enviado para exame microbiológico foi isolado *Escherichia coli* nas amostras de pulmão e conduto auditivo direito, os microorganismos *Klebsiella ozaenae* e *Pseudomonas aeruginosa* foram isolados somente nas amostras de conduto auditivo direito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio dos sinais clínicos de ptose de orelha e lábio direito, com retenção de alimento no vestíbulo oral, paresia da pálpebra, rotação da cabeça para o lado direito e a presença de hiperemia e secreção auditiva foi realizado o diagnóstico de otite médio/interna com comprometimento dos nervos facial e vestíbulo-coclear. E os sinais de respiração abdominal e hipofonose a auscultação pulmonar são indicativos do comprometimento respiratório.

Segundo MAYHEW (1989) as causas mais frequentes de problemas do nervo vestibular são devidas a otites médias/internas e a traumatismos craneanos e o comprometimento do nervo facial em situações de otite deve-se ao fato deste nervo estar separado da bolha timpânica apenas por uma membrana muito fina.

A presença de sinais de comprometimento respiratório associado à otite, com o mesmo agente etiológico, *Escherichia coli*, está de acordo com os relatos de Jensen et al. (1982), MAYHEW (1989), PUGH et al. (2002) e DUARTE & HAMDEN (2004), os quais afirmam que os quadros de otite média/interna comumente estão associadas a pneumonias, devido a migração das bactérias através dos condutos auditivos.

Segundo YERUHAM & ELAD (1999) e PUGH et al. (2002), as otites normalmente têm um caráter de infecção mista, sendo, portanto isolados vários agentes concomitantemente, essa característica também pode ser observada neste caso onde na análise microbiológica do lavado otológico foi evidenciada a presença de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* e *Pseudomonas aeruginosa*. Entretanto, AL-FARWACHI & AL-HASSAM (2008) baseados nos resultados de um estudo clínico e bacteriológico de 200 ovelhas com otite externa, afirmam que as infecções por um único patógeno são mais comuns do que infecções mistas.

A ocorrência de otite clínica nesta ovelha está associada ao quadro de imunossupressão decorrente da idade avançada, caquexia, alta infestação parasitária e estar no pós-parto. Apesar

dos clínicos considerarem a otite uma infecção de doença de baixa ocorrência JENSEN et al. (1982) demonstrou por meio de necropsias realizadas em cordeiros que pode-se verificar uma alta incidência. O que pode indicar que a suposta baixa ocorrência deve-se mais à deficiência em diagnosticar a otite.

O insucesso na terapia neste caso clínico corrobora com os relatos da literatura que afirmam que as terapias instituídas para estes casos serem geralmente pouco eficazes. Em cerca de 50% dos casos há apenas melhorias temporárias (JENSEN et al., 1982).

CONCLUSÃO

O relato deste caso clínico demonstra que os clínicos necessitam de maior atenção no exame físico de pacientes com quadros respiratórios devido à ocorrência de otites secundárias, evitando assim o comprometimento neurológico. Destaca ainda a necessidade de pesquisas sobre o assunto e o estabelecimento de possibilidades de tratamento eficazes.

REFERÊNCIAS

AL-FARWACHI M. I., AL-HASSAN M. M. Clinical and microbiological study of otitis externa in sheep **Iraqi Journal of Veterinary Sciences**, Mosul, v. 22, n. 1, p. 43-48, 2008.

BLYTHE L.L. Otitis media and interna and temporohyoid osteoarthropathy. **Veterinary Clinics of North America . Equine Practice**, Philadelphia, v. 13, p. 31, 1997.

DUARTE, E.R.; HAMDAN, J.G. Otitis in cattle. An aetiology review. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, Berlin, v. 5, p. 1-7, 2004.

JENSEN, R.; PIERSON, R.E.; WEITHEL, J. L., TUCKER, J. O., SWIFT, B. L. Middle ear infection in feedlot lambs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 181, n. 8, p. 805-807, 1982.

MACLEOD, N. S. M.; WIENER, G.; BARLOW, R. M. Factors involved in middle ear infection (otitis media) in lambs. **Veterinary Record**, London, v. 91, p. 360, 1972.

MAYHEW, I. G. **Large animal neurology**, Lea & Febiger. 1989.

PUGH, D. G., MACHEN, M. R., WALDRIDGE, B. M., CEBRA, C., CEBRA, M., BELKNAP, E. B., WILLIAMSON, L. H. Enfermidades do sistema nervoso. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, p. 311-352, 2005.

YERUHAM, D., ELAD, M. L. Clinical and microbiological study of an otitis media outbreak in calves in a dairy herd. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, Berlin, v. 46, p. 145-150, 1999.

POTENCIAL ALCALINIZANTE DE SOLUÇÕES INTRAVENOSAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE LACTATO E DE BICARBONATO DE SÓDIO ADMINISTRADAS EM OVELHAS SADIAS

Karina Keller M. C. Flaiban¹; Fernanda Tamara N. M. A. Romão²; Ronaldo Souza e Silva²; Renata Caminha Gomes²; Evandro Doine Vettorato³; Mara Regina Stipp Balarin⁴; Júlio Augusto Naylor Lisboa⁵

1. Médica Veterinária, mestre, professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina
2. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Iniciação Científica, Universidade Estadual de Londrina
3. Médico Veterinário, residente de Patologia Animal, Universidade Estadual de Londrina
4. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina
5. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Clínicas Veterinárias (DCV), Universidade Estadual de Londrina (UEL)
E-mail: janlisboa@uel.br (autor para correspondência)

PALAVRAS-CHAVE: Acidose, equilíbrio ácido básico, ruminante.

ABSTRACT

ALKALINIZING EFFECTS OF SODIUM LACTATE AND BICARBONATE INFUSION IN HEALTHY EWES

This study investigates alkalinizing effects of solutions with different lactate and bicarbonate ratios in 6 healthy crossbred ewes. The nonpregnant and nonlactating sheep weighed approximately 40kg. Serum concentrations of 28, 56, and 84 mEq/L were developed with each respective solution, and 4L of each one were infused intravenously at a rate of 25mL/kg per hour during four consecutive hours. Venous blood samples were obtained before the infusion (0 hour) and after 2, 4, and 6 hours. Values of pH, pCO₂, HCO₃⁻ and BE were determined. More concentrated lactate solutions resulted in greater alkaline reserve when compared to bicarbonate ones with similar concentrations.

KEY WORDS: Acidosis, acid-base balance, ruminant.

INTRODUÇÃO

A solução de ringer com lactato é a única solução comercial capaz de promover a correção simultânea da acidose, da desidratação e de desequilíbrios eletrolíticos. O consumo médio anual no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina é de aproximadamente 7.000 litros contra 2.100 de solução de NaCl 0,9%. Entretanto, devido à reduzida concentração de lactato, sugere-se que tal solução possua potencial alcalinizante reduzido. Esse potencial pode, ainda, variar entre as espécies animais, pois depende de metabolização e da quantidade de lactato L presente. Acredita-se, portanto, que soluções com concentrações maiores de lactato podem corrigir a acidose e a desidratação mais rapidamente.

Nos bovinos, foi comprovado que soluções de lactato L são tão eficazes quanto soluções de mesma concentração de bicarbonato em animais sadios (LEAL et al., 2007a) e acidóticos (LEAL et al., 2007b). Entretanto, a absorção e a metabolização dos isômeros do lactato podem diferir de acordo com a raça, e, provavelmente, entre as espécies. A solução de Ringer com lactato possui os íons sódio, cloreto e potássio em composição iônica balanceada muito próxima à do plasma humano, e a presença do lactato lhe confere capacidade alcalinizante. Por este motivo, é considerado o fluido de eleição frente a estados de acidose. É, de fato, a única solução comercial capaz de promover a correção simultânea da acidose e da desidratação e, por isso, serviu como a solução padrão de comparação neste estudo. O seu potencial alcalinizante nunca foi comprovado em ovinos.

O objetivo foi investigar o potencial alcalinizante de soluções com diferentes concentrações de lactato e de bicarbonato em ovelhas, mantendo a associação com eletrólitos em solução. A comprovação científica da eficácia de soluções alternativas para a correção simultânea da acidose metabólica e do desequilíbrio hídrico tem grande interesse prático em virtude da possibilidade de aplicação comercial futura a um custo relativamente reduzido.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregadas soluções cristalóides poliônicas, tomando-se como base a composição da Solução de Ringer com lactato comercial (Solução 1) e respeitando-se a sua osmolaridade (ligeiramente hiposmolar) e o seu teor de sódio, com as seguintes concentrações de lactato: Solução 1: 28 mEq/L; Solução 2: 56 mEq/L; Solução 3: 84 mEq/L; e de bicarbonato: Solução 4: 28 mEq/L; Solução 5: 56 mEq/L e Solução 6: 84 mEq/L.

Foram utilizadas seis ovelhas mestiças aparentemente sadias, não gestantes e não lactantes, com aproximadamente 40 kg de peso vivo, pertencentes ao rebanho do Hospital

Veterinário da UEL. As soluções estudadas foram infundidas por via intravenosa em cada uma das ovelhas sadias a uma velocidade média de 25mL/kg/h totalizando 4L por ovelha em 4 horas de administração contínua. Cada ovelha recebeu todas as seis soluções propostas, uma a cada vez, com um intervalo de 4 a 5 dias entre as infusões. A administração foi realizada no período da manhã.

Amostras de sangue venoso foram coletadas imediatamente antes de iniciar a infusão e após 2h (metade do volume), 4h (término da infusão) e 6h. Os exames laboratoriais consistiram nas determinações sangüíneas de pH, pCO₂, HCO₃⁻, BE (Omni C; Roche; EUA).

A análise de variância de medidas repetidas foi empregada para testar o efeito de cada solução sobre o equilíbrio ácido-básico. Quando a estatística F resultou significativa, o teste de Tukey foi empregado para contraste entre as médias. Foi admitida uma probabilidade de erro de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de pH antes do início, na metade, ao término e duas horas após o término das seis soluções foram, respectivamente: Sol. 1: 7,381; 7,388; 7,403 e 7,398; Sol. 2: 7,408; 7,433; 7,461 e 7,416; Sol. 3: 7,408; 7,478; 7,504 e 7,479; Sol. 4 - 7,415; 7,381; 7,408 e 7,420; Sol. 5: 7,395; 7,400; 7,440 e 7,444 e Sol. 6: 7,384; 7,427; 7,465 e 7,450.

Os valores médios de pCO₂ antes do início, na metade, ao término e duas horas após o término das seis soluções foram, respectivamente: Sol. 1: 37,567; 40,867; 40,933 e 40,133; Sol. 2: 39,667; 40,917; 41,917 e 44,183; Sol. 3: 41,083; 41,967; 44,900 e 43,700; Sol. 4 - 38,467; 41,900; 39,683 e 38,883; Sol. 5: 38,783; 41,850; 41,850 e 39,267 e Sol. 6: 44,350; 44,567; 42,717 e 40,983, expressos em mmHg.

Os valores médios de HCO₃⁻ antes do início, na metade, ao término e duas horas após o término das seis soluções foram, respectivamente: Sol. 1: 21,933; 24,000; 25,017 e 24,167; Sol. 2: 24,467; 26,667; 29,250 e 27,783; Sol. 3: 25,267; 30,483; 34,533 e 31,750; Sol. 4: 24,117; 24,267; 24,550 e 24,633; Sol. 5: 23,167; 25,033; 27,800 e 26,400 e Sol. 6 - 25,633; 28,667; 30,050 e 27,883, expressos em mmol/L.

Os valores médios de BE antes do início, na metade, ao término e duas horas após o término das seis soluções foram, respectivamente: Sol. 1: -2,817; -0,90; 0,233 e -0,6; Sol. 2: -0,083; 2,233; 5,00 e 2,917; Sol. 3: 0,550; 6,333; 10,350 e 7,500; Sol. 4: -0,333; -0,817; -0,067 e 0,217; Sol. 5: -1,467; 0,217; 3,350 e 2,233 e Sol. 6: 0,467; 4,017; 6,000 e 3,783, expressos em mmol/L.

As soluções 1, 2, 3, 4, 5 e 6 provocaram um aumento médio, ao término da infusão, respectivamente, de 0,022, 0,053, 0,097, -0,006, 0,045 e 0,080 no pH; 3,08, 4,78, 9,27, 0,43, 4,63 e 4,42 mmol/L de HCO_3^- e 3,05, 5,08, 9,8, -0,26, 4,82 e 5,53 mmol/L de BE, considerando a administração de 4 litros de cada solução por ovelha, um volume correspondente a 10% do peso vivo do animal.

A variação dos valores de pH foi significativa nas soluções 2, 3, 5 e 6, apresentando, de maneira geral, aumento no término em relação ao início da infusão. As soluções contendo maiores concentrações de lactato ou de bicarbonato, ou seja, 84 mEq/L, se mostraram mais eficientes no incremento da reserva alcalina. Soluções com concentrações maiores de lactato de sódio (150 mEq/L) foram capazes de produzir efeitos alcalinizantes muito maiores e equivalentes aos de uma solução contendo bicarbonato de sódio, em bezerros saudáveis e diarreicos com acidose metabólica (NAYLOR & FORSYTH, 1986), e em garrotes saudáveis (LEAL, et al., 2007a) ou portadores de acidose láctica (LEAL, et al., 2007b).

Para valores de pCO_2 não foram evidenciadas diferenças entre as soluções e nos momentos avaliados. As soluções, nas concentrações administradas e nos momentos avaliados, não foram capazes de promover uma retenção sanguínea de CO_2 , mecanismo compensatório à alcalose metabólica iatrogênica (KANEKO, 1997; LEAL et al., 2007a).

A solução de Ringer com lactato (solução 1) foi pouco eficaz no incremento da reserva alcalina de ovelhas saudáveis. Houve apenas um pequeno aumento da concentração de HCO_3^- e do BE ao término da infusão. Isto comprova que a solução de RL possui potencial alcalinizante de pequena magnitude na espécie estudada. Esse fato reforça evidências anteriores em bezerros saudáveis (LISBÔA et al., 2007). Em situações de desequilíbrio, a solução de RL não produziu efeito alcalinizante muito intenso, seja em garrotes portadores de acidose láctica (MENDES NETTO & ORTOLANI, 2000), seja em cães desidratados (RIBEIRO FILHO et al., 2008). A solução 4, com concentração semelhante, porém contendo bicarbonato, também se mostrou ineficiente e não alterou significativamente nenhuma variável nos momentos estudados.

A solução mais concentrada de lactato provocou um aumento de maior magnitude nas concentrações de HCO_3^- e BE do que a solução correspondente de bicarbonato em ovelhas saudáveis, diferindo dos achados de LEAL et al. (2007a), em bovinos saudáveis, para soluções com concentrações de 150 mEq/L.

CONCLUSÃO

Soluções mais concentradas em lactato resultaram em um maior incremento da reserva alcalina, mesmo quando comparadas com soluções de bicarbonato em concentrações correspondentes.

REFERÊNCIAS

- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.
- LEAL, M. L. R.; MARUTA, C. A.; ORTOLANI, E. L. Uso de bicarbonato e lactato-L para correção da acidose metabólica sistêmica em bovinos com acidose láctica ruminal aguda. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 971-6, 2007.
- LEAL, M. L. R.; MORI, C. S.; ORTOLANI, E. L. Estudo da capacidade alcalinizante de tampões metabolizáveis em bovinos sadios. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 965-70, 2007.
- LISBÔA, J. A. N.; FLAIBAN, K. K. M. C.; LANDMAN, M. L. L.; ZECHETTO, L. S.; VETTORATO, E. D.; BALARIN, M. R. S.; BARBOSA, D. S. Potencial alcalinizante da solução de Ringer com lactato em bezerros sadios. **Archives of Veterinary Science**, Valdivia, v. 12, sup., p. 90-91, 2007.
- MENDES NETTO, D.; ORTOLANI, E. L. Evaluation of sodium bicarbonate or lactated Ringer's solution for the treatment of rumen lactic acidosis in steers. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 6, p. 31-39, 2000.
- NAYLOR, J. M.; FORSYTH, G. M. The alkalinizing effects os metabolizable bases in the healthy calf. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 50, n. 4, p. 509-16, 1986.
- RIBEIRO FILHO, J. D.; BALBINOT, P. Z.; VIANA, J. A.; DANTAS, W. M. F.; MONTEIRO, B. S. Hemogasometria em cães com desidratação experimental tratados com soluções eletrolíticas comerciais administradas por via intravenosa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, p. 1914-19, 2008.

TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE PASSIVA EM CORDEIROS CUJAS MÃES RECEBERAM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE ENERGIA OU PROTEÍNA NO TERÇO FINAL DA GESTAÇÃO

Karina Keller Marques da Costa Flaiban¹; Mara Regina Stipp Balarin²; Edson Luís de Azambuja Ribeiro³; Filipe Alexandre Boscaro de Castro⁴; Rinaldo Masato Mori⁵; Júlio Augusto Naylor Lisboa²

1. Médico Veterinário, mestre, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina

2. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Clínicas Veterinárias (DCV), Universidade Estadual de Londrina (UEL)
E-mail: janlisboa@uel.br (autor correspondente)

3. Zootecnista, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina

4. Zootecnista, doutorando em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina

5. Médico Veterinário, doutor em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina

PALAVRAS-CHAVE: IgG, imunoglobulinas, nutrição, ovinos.

ABSTRACT

PASSIVE IMMUNITY TRANSFER IN LAMBS FROM EWES WITH DIFFERENT PROTEIN OR ENERGY LEVELS DURING LATE PREGNANCY

This study assesses the passive immunity transfer in lambs from ewes that were fed diets with different energy or protein supplements during the last trimester of the gestational period. Blood samples were collected from 70 lambs born from 50 ewes to determine serum gamma-glutamyl transferase activity, total protein, gammaglobulin, and immunoglobulin G concentrations. Statistical analysis showed no differences related to the type of diet ingested by the ewe. Furthermore, findings from single and twin lambs were compared, revealing that the latter group presented lower levels for all variables.

KEYWORDS: IgG, immunoglobulins, nutrition, sheep.

INTRODUÇÃO

Em ovinos, a transferência de anticorpos de origem materna para o neonato ocorre essencialmente após o parto, por meio da absorção intestinal das imunoglobulinas presentes no colostro. A transferência de imunidade passiva (TIP) adequada depende de fatores ligados

à mãe, ao cordeiro e ao manejo dos animais. Dentre os fatores relacionados à ovelha, pode-se citar o estado nutricional ou a condição corporal, a habilidade materna e a conformação da glândula mamária. Uma nutrição adequada na fase final da gestação pode aumentar a produção do colostro, tanto em volume quanto em concentração de imunoglobulinas (MELLOR & MURRAY, 1985).

Fatores relacionados ao cordeiro incluem o tipo de parto, o tempo transcorrido entre o parto e o início das mamadas e a absorção intestinal das imunoglobulinas. Cordeiros que porventura não possuam níveis adequados de imunoglobulinas são mais susceptíveis a infecções. A mortalidade neonatal é frequentemente associada à falha na transferência de imunidade passiva (FTIP) (SAWYER et al., 1977).

Para reconhecer os animais que apresentam FTIP pode-se efetuar a mensuração da atividade da enzima GGT e as concentrações séricas de proteína total, beta e gamaglobulina, além da estimativa da imunoglobulina G por meio da turvação pelo sulfato de zinco, teste preciso, rápido e de baixo custo (FEITOSA et al., 2001).

O objetivo deste estudo foi verificar se diferentes níveis de energia e de proteína na dieta da ovelha no terço final da gestação seriam capazes de alterar a colostrogênese a ponto de interferir na transferência de imunidade passiva e comparar a TIP em cordeiros gêmeos e não gêmeos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de sangue de 70 cordeiros, filhos de 50 ovelhas, foram coletadas às 24 horas de vida para verificar a existência de FTIP em decorrência do tratamento nutricional oferecido à mãe durante o terço final de gestação. As ovelhas foram submetidas a seis tratamentos com diferentes níveis de proteína bruta e energia (baseado no NRC, 1985): grupo 1, 100% dos requerimentos de proteína bruta e de energia; grupo 2, 100% dos requerimentos de proteína bruta e 92,5 % dos requerimentos de energia; grupo 3, 100% dos requerimentos de proteína bruta e 85% dos requerimentos de energia; grupo 4, 70% dos requerimentos de proteína bruta e 100% dos requerimentos de energia; grupo 5, 85% dos requerimentos de proteína bruta e 100% dos requerimentos de energia; e, grupo 6, 115% dos requerimentos de proteína e 100% dos requerimentos de energia. A alimentação fornecida foi constituída de silagem de sorgo e concentrado - milho triturado e farelo de soja, em diferentes proporções para suprir as necessidades diferenciadas de proteína bruta e de energia.

Dos 70 cordeiros, 37 eram frutos de parto gemelar e 33 eram frutos de parto único. As amostras de sangue foram coletadas sem anticoagulante e o soro foi obtido por centrifugação após a retração do coágulo e congelado até a realização das análises.

A concentração de proteínas séricas (PT) foi determinada pelo método biureto e a atividade da enzima GGT, pelo método cinético, utilizando-se reagentes comerciais e leitura espectrofotométrica. As concentrações séricas das frações protéicas albumina, alfa 1, alfa 2, beta e gamaglobulinas foram determinadas por eletroforese em gel de agarose. A concentração sérica de IgG foi estimada pela técnica de turvação pelo sulfato de zinco com leitura espectrofotométrica, conforme método empregado por PFEIFER et al. (1977) com modificações (FEITOSA et al., 2001). Foi considerado FTIP quando o cordeiro teve concentração de gamaglobulina inferior a 1000 mg/dL.

Para avaliar os efeitos do tratamento nutricional da mãe sobre as variáveis mensuradas nos cordeiros foi empregada a análise de variância. Foram efetuadas comparações entre gêmeos e únicos por meio do Teste t. Em ambos os testes foi admitida uma probabilidade de erro de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi evidenciada diferença significativa na concentração de PT, gamaglobulina, IgG e atividade de GGT entre os grupos de tratamento nutricional que as ovelhas foram submetidas no terço final de gestação, evidenciando que estes níveis de proteína e energia na dieta materna durante o período estudado não influenciou na TIP.

Os resultados de PT, expressos em g/dL ($x \pm s$), obtidos em cordeiros filhos das ovelhas submetidas aos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, foram, respectivamente: $7,07 \pm 1,66$; $6,97 \pm 1,46$; $7,74 \pm 1,59$; $5,72 \pm 1,79$; $6,97 \pm 1,40$ e $5,99 \pm 1,79$. A concentração de PT reflete a quantidade de albumina e de globulinas, podendo ser utilizada com indicativo de TIP, sendo um teste simples, rápido e acessível, no entanto é pouco específico.

Os resultados de gamaglobulinas, expressos em g/dL ($x \pm s$), obtidos em cordeiros filhos das ovelhas submetidas aos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, foram, respectivamente: $2,67 \pm 1,49$; $1,82 \pm 1,31$; $2,97 \pm 1,72$; $1,76 \pm 1,39$; $2,67 \pm 1,26$ e $2,20 \pm 1,61$. A gamaglobulina é a fração eletroforética que concentra os principais anticorpos séricos.

Os resultados de IgG, expressos em g/dL ($x \pm s$), obtidos em cordeiros filhos das ovelhas submetidas aos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, foram, respectivamente: $2,42 \pm 1,01$; $1,81 \pm 0,88$; $2,78 \pm 0,93$; $1,99 \pm 1,06$; $2,67 \pm 1,05$ e $2,71 \pm 1,38$. A IgG, principal subclasse presente

no colostro ovino (SMITH et al., 1975), é importante na defesa do animal pela sua capacidade de opsonização, facilitando a fagocitose.

Os resultados da atividade da GGT, expressos em U/L ($x \pm s$), obtidos em cordeiros filhos das ovelhas submetidas aos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, foram respectivamente: $3.903,7 \pm 2.196,0$; $2.117,6 \pm 1.276,1$; $3.345,5 \pm 2.001,4$; $2.454,0 \pm 1.495,4$; $3.741,6 \pm 2.552,2$ e $3.657,1 \pm 2.459,8$. A GGT é considerada uma medida indireta da capacidade de absorção de imunoglobulinas presentes no colostro.

O tratamento nutricional ao qual as ovelhas foram submetidas no terço final de gestação não foi determinante para prejudicar a TIP. Embora tenham ocorrido FTIP em 21,42% (15/70) dos animais, estas se distribuíram entre todos os tratamentos, exceto o grupo 5. Possivelmente tais falhas estejam relacionadas a outros fatores inerentes ao cordeiro ou ao manejo. HASHEMI et al. (2008) estudaram o efeito de diferentes níveis nutricionais durante o final da gestação na produção de colostro e nos níveis séricos de imunoglobulinas na ovelha e no cordeiro e concluíram que, apesar de aumentar o volume de colostro produzido, a concentração de IgG no colostro, no soro das ovelhas e no soro dos cordeiros não se alterou.

A comparação entre cordeiros frutos de partos únicos e gemelares foi realizada para verificar a existência de diferença entre estes grupos nos animais estudados. Os resultados de média $\pm$ desvio padrão da atividade de GGT ($3.924,9 \pm 2.266,9$ U/L e $2.538,1 \pm 1.622,2$ U/L), PT ($7,08 \pm 1,77$ g/dL e $6,53 \pm 1,59$ g/dL), imunoglobulina G ($2,86 \pm 1,14$ g/dL e $1,87 \pm 0,74$ g/dL) e gamaglobulina ($2,83 \pm 1,57$ g/dL e $1,89 \pm 1,25$ g/dL) foram significativamente inferiores nos cordeiros gêmeos.

CONCLUSÕES

Pequenas restrições de energia e de proteína na dieta das ovelhas no terço final da gestação não foram suficientes para influenciar a TIP dos cordeiros. No entanto, a FTIP ocorreu mais nos cordeiros gêmeos provavelmente por nascerem menores e mais fracos e não mamarem colostro em quantidade e de forma adequada.

REFERÊNCIAS

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; PERRI, S. H. V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gama glutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p. 251-255, 2001.

HASHEMI, M.; ZAMIRI, M. J.; SAFDARIAN, M. Effects of nutritional level during late pregnancy on colostral production and blood immunoglobulin levels of Karakul ewes and their lambs. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 75, p. 204-209, 2008.

MELLOR, D. J.; MURRAY, L. Effects of maternal nutrition on udder development during late pregnancy and on colostrums production in Scottish Blackface ewes with twin lambs. **Research of Veterinary Science**, London, v. 39, p. 230-234, 1985.

PFEIFER, N. E.; MCGUIRE, T. C.; BENDEL, R. B.; WEIKEL, J. M. Quantitation of bovine immunoglobulins: comparison of single radial immunodiffusion, zinc sulfate turbidity, serum electrophoresis, and refractometer methods. **American Journal of Veterinary Research**, Chigaco, v. 38, n. 5, p. 693-8, 1977.

SAWYER, M.; WILLARDSSEN, C. H.; OSBURN, B. I.; MCGUIRE, T. C. Passive transfer of colostral immunoglobulins from ewe to lamb and its influence on neonatal lamb mortality. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 171, n. 12, p.1255-1259, 1977.

SMITH, W. D.; DAWSON, M.; WELLS, P. W., BURRELS, C. Immunoglobulin concentrations in ovine body fluids. **Research in Veterinary Science**, London, v. 19, p. 189, 1975.

ACHADOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS, ULTRASSONOGRÁFICOS E ANÁTOMO-PATOLÓGICOS EM UM CASO DE HEMATÚRIA ENZOÓTICA BOVINA

Antônio Carlos L. Câmara¹, José Renato J. Borges², Ceci Ribeiro Leite², Ana Lourdes A. A. Mota², Roberta F. de Godoy², Karla M. R. Guedes³, Vanessa S. Mustafa³, e Giane R. Paludo⁴

1. Hospital Veterinário de Grandes Animais, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Semi-Árido. E-mail: aclcamara@yahoo.com.br (autor para correspondência)
2. Hospital Escola de Grandes Animais da Granja do Torto, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV), Universidade de Brasília (UNB)
3. Laboratório de Patologia Veterinária, FAV, UNB
4. Laboratório de Patologia Clínica, FAV, UNB

PALAVRAS-CHAVES: Bovinos, plantas tóxicas, ptaquilosídeo, samambaia.

ABSTRACT

CLINICAL, LABORATORY, ULTRASONOGRAPHIC AND PATHOLOGIC FINDINGS IN A CASE OF BOVINE ENZOOTIC HEMATURIA

Pteridium aquilinum is a well-known toxic plant worldwide, responsible for three different clinical syndromes in cattle, including bovine enzootic hematuria (BEH). The present work describes a case study of BEH through clinical, laboratory, ultrasonographic, and pathological findings. A 10-year-old crossbreed was clinically examined. Pale mucous, progressive weight loss, tachycardia, ruminal hypomotility, hematuria, and dysuria were evidenced. Rectal ultrasonography showed a thickened urinary bladder wall, and hyperechoic areas in the lumen suggesting blood clots. Hematology revealed normocytic and hypochromic anemia, hypoproteinemia, and inversion in the lymphocyte/neutrophile ratio. Severe hematuria and proteinuria were observed in urinalysis. *Escherichia coli* was isolated from the urine culture in a microbiological analysis. Pathological findings in the bladder consisted of submucosa thickness, angiogenesis, and lesions typical of hemangiomas. Ultrasonography may be a helpful tool for providing epidemiological data and clinical signs in the diagnosis of BEH. However, histopathology remains the most reliable method to confirm toxicosis.

KEYS WORDS: Bracken fern, cattle, ptaquiloside, toxic plants.

INTRODUÇÃO

Pteridium aquilinum, a "samambaia-do-campo", é considerada uma das plantas tóxicas mais importantes, não só por ser cosmopolita e ter extensa distribuição, mas também pelos

diferentes tipos de intoxicação que provoca em diversas espécies animais (EVANS, 1964; TOKARNIA et al., 2000). No Brasil, *Pteridium aquilinum* subsp. *caudatum* var. *arachnoideum* é a única variedade identificada (TOKARNIA et al., 2000), sendo responsável por três diferentes quadros clínico-patológicos em bovinos, atribuídos a ação radiomimética da planta (FRANÇA et al., 2002). A ocorrência de síndrome hemorrágica aguda (SHA) (MARÇAL et al., 2002; ANJOS et al., 2008), carcinoma das vias digestivas superiores (SOUTO et al., 2006a) e hematúria enzoótica bovina (HEB) (CARVALHO et al., 2006; SOUTO et al. 2006b), varia de acordo com a quantidade de planta consumida e com o tempo de ingestão (FRANÇA et al., 2002).

P. aquilinum é a única planta conhecida capaz de causar naturalmente câncer em animais (EVANS, 1964) e possui considerável número de componentes tóxicos, dentre eles o ptaquilosídeo, um glicosídeo sesquiterpenóide capaz de induzir clastogênese em culturas celulares e com atividade mutagênica e carcinogênica (CARVALHO et al., 2006). O ptaquilosídeo é eliminado na urina, sendo capaz de induzir tumores de bexiga em bovinos (CARVALHO et al., 2006), e também no leite, com risco potencial para a saúde humana (ALONSO-AMELOT, 1997). Assim, devido à importância desta enfermidade em algumas regiões do Brasil, o objetivo do presente trabalho é descrever os achados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais, ultrassonográficos e anátomo-patológicos de um caso de HEB.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi encaminhada para o Hospital Escola de Grandes Animais da Universidade de Brasília, uma vaca mestiça de aproximadamente 10 anos de idade com histórico de hematúria intermitente há cinco meses e perda de peso progressiva, oriunda de uma propriedade na Região Administrativa do Gama, Distrito Federal. O proprietário relatava ainda que o animal foi comprado há seis meses junto com outros três bovinos de uma fazenda localizada no município de Santo Antônio do Descoberto, Goiás.

O animal foi examinado clinicamente seguindo as recomendações de DIRKSEN et al. (1993). Amostras sanguíneas foram colhidas em tubo a vácuo com anticoagulante EDTA (10%) para realização do hemograma, determinação da proteína plasmática total e fibrinogênio plasmático (JAIN, 1986), enquanto a urinálise seguiu a metodologia proposta por GARCIA-NAVARRO (1996). Utilizou-se equipamento de ultrassom GE Logiq Pro 100 (GE Medical Systems®, Wisconsin, USA) acoplado a um transdutor linear de 5MHz para o exame ultrassonográfico da bexiga. Devido ao prognóstico desfavorável e debilidade física do animal, optou-se pela eutanásia e necropsia, em que foi realizada a coleta asséptica de urina por meio de cistocentese para cultura microbiológica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ambas as propriedades foram visitadas, entretanto apenas na propriedade situada no município de Santo Antônio do Descoberto-GO foi observada grande quantidade de

“samambaia-do-campo” junto à pastagem, com indícios de pastoreio recente. Apesar de tipicamente múltiplos casos serem afetados pela HEB (MIESNER, 2009), nesta propriedade com um rebanho de 57 bovinos de diferentes categorias (vacas secas, vacas em lactação, bezerros e reprodutores), não havia histórico prévio da enfermidade.

Os sinais clínicos mais relevantes consistiram em estado corporal ruim, apatia, mucosas pálidas, vasos episclerais vazios, taquicardia (100 batimentos por minuto), rúmen moderadamente vazio, hipomotílico com estratificações ausentes, disúria e urina sanguinolenta com presença de coágulos. A sintomatologia foi sequela da anemia e perda de peso progressiva decorrentes do quadro de hematuria causados pela intoxicação, e, são semelhantes a relatos anteriores da doença (TOKARNIA et al., 2000; FRANÇA et al., 2002; SOUTO et al., 2006b). A avaliação ultrassonográfica por via retal permitiu a visualização da bexiga com parede espessada (0,58cm), presença de áreas hiperecóticas (coágulos) no interior da bexiga (4-7cm x 3-4 cm) contrastando com o lúmen anecóico, além de pequenos pontos hiperecóticos sugestivos de celularidade intensa. As alterações descritas associadas aos dados epidemiológicos e clínicos sugerem HEB, podendo em alguns casos ainda serem observados a protrusão no lúmen de massas intramurais (MIESNER, 2009).

A hematologia revelou na série vermelha, o marcante quadro de anemia normocítica hipocrômica (hematócrito: 10%) associado à severa hipoproteïnemia (4g/dL), enquanto o leucograma revelou inversão da relação neutrófilos: linfócitos, mas sem a presença de leucocitose relativa ou absoluta. Os demais parâmetros encontravam-se dentro dos limites fisiológicos para a espécie (KRAMER, 2000). A anemia normalmente é normocítica e normocrômica devido à diminuição do número de eritrócitos ocasionada pela perda sanguínea (WOSIACKI et al., 2002). O quadro de anemia arregenerativa e as coagulopatias (trombocitopenia) são decorrentes da rarefação de tecido hematopoiético na medula óssea e depressão da série megacariocítica e granulocítica (MARÇAL et al., 2002). O leucograma discorda de resultados anteriores que constatarem severa leucopenia em bovinos com HEB (FRANÇA et al., 2002) ou SHA (ANJOS et al., 2008), possivelmente devido ao presente caso possuir menor cronicidade. A urinálise revelou no exame físico: urina de coloração vermelha, odor fétido e aspecto turvo; enquanto o exame químico revelou proteinúria e hematuria. A sedimentoscopia apresentou moderada quantidade de células de descamação vesical, hemácias incontáveis, leucócitos raros e moderada quantidade de bactérias. Os resultados do exame físico e químico são citados em estudos anteriores (WOSIACKI et al., 2002), enquanto na literatura pesquisada não existe resultados de sedimentoscopia urinária. A cultura microbiológica isolou *Escherichia coli* comprovando que bovinos com HEB apresentam maior risco de desenvolver infecções ascendentes das vias urinárias (WOSIACKI et al., 2002; MIESNER, 2009).

Os principais achados de necropsia consistiram de mucosas e carcaça acentuadamente pálidas, sangue com aspecto aquoso, fígado moderadamente amarelado e pulmões com acentuado edema interlobular. A bexiga apresentava-se distendida com urina vermelho-

escura, grande quantidade de coágulos sanguíneos, espessamento acentuado da parede do órgão e múltiplas formações polipóides avermelhadas de aproximadamente 0,5cm na mucosa. Os achados microscópicos revelaram no fígado, áreas de discreta necrose de hepatócitos centrolobulares, enquanto na bexiga observou-se, em algumas áreas, espessamento da região submucosa devido à proliferação de tecido conjuntivo, com moderada neoformação vascular (angiogênese) e alguns focos discretos de infiltrado inflamatório linfocitário. Em outras áreas observaram-se pequenos nódulos de cerca de 5mm de diâmetro formados pela proliferação de pequenos vasos de endotélio simples, dilatados (ectasia vascular), preenchidos por sangue e com moderado estroma fracamente eosinofílico entre os vasos, característico de hemangiomas. As lesões responsáveis pela hematúria crônica e pela conseqüente anemia acentuada vistas na HEB (TOKARNIA et al., 2000) caracterizam-se por neoplasmas vesicais de histogênese variada (PEIXOTO et al., 2003), muitas vezes acompanhados por perda da integridade do epitélio de revestimento da mucosa vesical (SOUTO et al., 2006b), como vista neste bovino. Em estudo recente, a histopatologia dos tumores de bexiga associados à HEB revelou a coexistência de neoplasmas diversos, epiteliais ou mesenquimais, benignos ou malignos, porém raramente apresentando metástases, dentre os mais frequentes encontram-se os papilomas, carcinomas de células transicionais, adenocarcinoma, carcinomas de células escamosas e hemangiomas, sendo este último observado em 29,5% dos casos (CARVALHO et al., 2006). A degeneração hepática secundária à anemia é também um achado frequente na intoxicação (SOUTO et al., 2006b).

CONCLUSÕES

No presente trabalho, o diagnóstico definitivo de HEB foi realizado através da associação entre os achados epidemiológicos, clínicos, ultrassonográficos, laboratoriais e anátomo-patológicos, confirmando a ocorrência da intoxicação em bovinos no Centro-Oeste. A ultrassonografia pode ser uma útil ferramenta associada aos dados epidemiológicos e sinais clínicos no diagnóstico de HEB, entretanto a histopatologia permanece como a opção mais confiável para diagnóstico definitivo da intoxicação.

REFERÊNCIAS

- ALONSO-AMELOT, M. E. The link between bracken fern and stomach cancer: milk. **Nutrition**, New York, v. 13, n. 7-8, p. 694-696, 1997.
- ANJOS, B. L.; IRIGOYEN, L. F.; FIGHERA, R. A.; GOMES, A. D.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 10, p. 501-507, 2008.

CARVALHO, T.; PINTO, C.; PELETEIRO, M. C. Urinary bladder lesions in bovine enzootic haematuria. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 134, n. 4, p. 336-346, 2006.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger – Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 1993. 419p.

EVANS, W. C. Bracken poisoning of farm animals. **Veterinary Record**, London, v. 76, p. 365-372, 1964.

FRANÇA, T. N.; TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pteridium aquilinum* (Polypodiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 85-96, 2002.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de urinálise veterinária**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 95p.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.

KRAMER, J. W. Normal hematology of cattle, sheep and goats. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. cap. 166, p. 1075-1084. 2000.

MARÇAL, W. S.; GASTE, L.; REICHERT NETTO, N. C.; MONTEIRO, F. A. Intoxicação aguda pela samambaia (*Pteridium aquilinum*, l. Kuhn), em bovinos da raça Aberdeen Angus. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.7, n.1, p.77-81, 2002.

MIESNER, M. D. Bovine enzootic hematuria. In: ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M. **Current veterinary therapy: food animal practice**. v.5. St. Louis: Saunders Elsevier, p. 330, 2009.

SOUTO, M. A. M.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L.; PIAZER, J. V. M.; RECH, R. R.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n.2, p. 112-122, 2006a.

SOUTO, M. A. M.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L.; RECH, R. R.; PIAZER, J. V. M. Neoplasmas da bexiga associados à hematúria enzoótica bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p.1 647-1650, 2006b.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Plantas de ação radiomimética. In: _____. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. p. 178-187.

WOSIACKI, R. S.; REIS, A. C. F.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A. A. Papilomavírus bovino tipo 2 na etiologia da hematúria enzoótica bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 121-130, 2002.

ACIDOSE RUMINAL EM OVINOS, DIAGNOSTICADA PELA CENTRAL DE DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO (CEDIVET) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ, NO PERÍODO DE 2000 A 2008

Natália da Silva e Silva¹, José Alcides Sarmiento da Silveira², Karinny Ferreira Campos³, Melina Garcia Saraiva de Sousa³, Cinthia Távora de Albuquerque Lopes³, Carlos Magno Chaves Oliveira⁴, Marcos Dutra Duarte², José Diomedes Barbosa⁵

1. Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação Saúde Animal na Amazônia, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Pará (UFPA)

2. Médico Veterinário, MSc, Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)

3. Acadêmica da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)

4. Médico Veterinário, MSc, professor da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)

5. Médico Veterinário, doutor, professor da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)

Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva, nº 1000, 68740-080, Castanhal - PA, Brasil -

E-mail: nataliasilva@ufpa.br (autor correspondente)

PALAVRAS – CHAVE: Carboidratos, doenças metabólicas, intoxicação por grãos.

ABSTRACT

DIAGNOSIS OF RUMINAL ACIDOSIS IN SHEEP AT THE VETERINARY DIAGNOSTICS CENTER (CEDIVET) OF THE FEDERAL UNIVERSITY OF PARÁ FROM 2000 TO 2008

A total of 11 sheep from six farms located in Pará and Maranhão were diagnosed with acute ruminal acidosis at CEDIVET between 2000 and 2008. The disease was caused by the ingestion of large amounts of rapidly digestible carbohydrates. The main clinical signs were lethargy, anorexia, ocular mucosa, congested and engorged episcleral vessels, tachycardia, tachypnea, different degrees of dehydration, increased abdominal volume, ruminal atony, and lack of stratification of rumen contents. At necropsy, we observed detachment of the mucosa, hyperemia in the submucosal arterioles, and absence of ruminal papillae in some cases. Histopathological findings in the rumen included hydropic change and coagulative necrosis of epithelial cells followed by influx of neutrophils, areas of focal necrosis, and ulcerations.

KEYWORDS: Acidosis, carbohydrates, grain poisoning.

INTRODUÇÃO

A necessidade de um modelo de produção intensivo, com o intuito de se obter em curto prazo metas excessivas de ganho de peso, tem gerado erros na forma de alimentar os ruminantes, acarretando distúrbios digestivos e metabólicos relacionados às diferentes dietas empregadas. Na ovinocultura, a acidose láctica ruminal aguda, principalmente em sistemas de criação intensivo e semi-intensivo, tem causado perdas econômicas consideráveis (SIQUEIRA et al., 1993; BARROS et al., 1997). Esta enfermidade, resultante da ingestão rápida e excessiva de carboidratos de fácil digestibilidade, representa um sério problema na exploração pecuária, pois pode causar nos animais acometidos um quadro clínico que varia desde inapetência temporária até sintomas gastrointestinais graves com importante comprometimento do estado geral. Além disso, existe a acidose ruminal latente crônica ou subclínica, que ocorre devido uma produção intensiva de ácidos graxos voláteis com aumentos temporários de ácido láctico, neste caso, o pH oscila ao redor de 5,5, podendo haver mínimos breves de 5,2 dependendo da alimentação, e provocar alterações relacionadas ao aspecto produtivo dos animais acometidos, incluindo diminuição na produção de leite e episódios de laminite, abscessos hepáticos e polioencefalomalácia (DIRKSEN et al., 2005).

O objetivo do presente trabalho é relatar a ocorrência da acidose ruminal em ovinos, diagnosticada pela Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará (UFPA), no período de 2000 a 2008.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de 2000 a 2008, foram atendidos 11 ovinos, pertencentes a seis propriedades localizadas nos municípios de Castanhal, Santa Maria do Pará e Santo Antônio do Tauá, no estado do Pará e Açailândia, no estado do Maranhão.

O exame clínico dos animais foi realizado segundo PUGH (2004). O exame do fluido ruminal, efetuado segundo DIRKSEN et al. (1993), foi realizado em amostras obtidas por meio de sondagem orogástrica, ou durante a ruminotomia ou a necropsia (quando esta era realizada imediatamente após a morte do animal), sendo colhidos em frascos de vidro, aproximadamente 200 mL de líquido ruminal. No método da sondagem orogástrica, os primeiros jatos de fluido ruminal foram descartados para evitar uma possível contaminação da amostra por saliva. A aferição do pH dessas amostras foi realizada imediatamente após à coleta, utilizando fita de pH com escala de 5 a 9. Adicionalmente, em três animais, foram colhidas amostras de sangue por punção da veia jugular, para determinação do hematócrito e

da proteína plasmática total, exames realizados no Laboratório de Patologia Clínica da CEDIVET (UFPA).

Nos animais que morreram, realizou-se a necropsia e coleta de fragmentos de diversos órgãos, que foram fixados em formol a 10%, processados rotineiramente para a histopatologia e corados pelo método da hematoxilina/eosina no Setor de Anatomia Patológica do Projeto Sanidade Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na propriedade 1, os animais recebiam simultaneamente, no cocho, milho inteiro, milho triturado, ração comercial e feno triturado; na propriedade 2, recebiam milho triturado e ração comercial; na propriedade 3, recebiam raspa de mandioca e milho inteiro e na propriedade 4, somente milho triturado. Nestas propriedades, parte dos animais era mantida em sistema de criação intensiva, recebendo a alimentação acima descrita, e os demais animais permaneciam metade do dia a pasto e a outra metade estabulados em apriscos coletivos suspensos, onde recebiam uma suplementação alimentar à base de rações comerciais.

Nas propriedades 5 e 6, os animais eram mantidos em sistema de criação extensiva, em pastos de *Brachiaria brizantha* e recolhidos no final do dia aos apriscos. Na propriedade 5, a enfermidade foi causada pelo fornecimento aos animais de restos de pipoca, doados pela fábrica ao proprietário. Na propriedade 6, os animais tiveram acesso a uma área de cultura de milho, onde as espigas tinham sido colhidas manualmente e amontoadas em diversos locais da área, possibilitando a ingestão de grande quantidade desses grãos.

Dos 11 animais atendidos, seis vivos e cinco para necropsia, sete eram da raça Santa Inês, dois da raça Dorper e dois mestiços de Santa Inês, sendo quatro machos e sete fêmeas. Nove animais tinham acima de três anos de idade e dois em torno de quatro meses.

Os casos clínicos de acidose láctica aguda observados nas propriedades 1, 2, 3 e 4, que acometeram somente os animais criados de forma intensiva, provavelmente ocorreram devido a um aumento brusco nas quantidades de carboidratos de fácil digestibilidade ofertadas. Estes resultados estão de acordo com as observações feitas por PUGH (2004) e AFONSO & MENDONÇA (2007), que demonstraram que esses tipos de alimentos e a forma de alimentação podem ser a causa da queda do pH ruminal e do aumento dos níveis de ácido láctico, com conseqüente desequilíbrio da microbiota ruminal, desencadeando uma acidose ruminal aguda.

Nas propriedades 5 e 6, os quadros de acidose ruminal aguda ocorreram devido ao acesso dos animais a alimentos ricos em carboidratos de fácil digestibilidade (pipoca e milho,

respectivamente) em grande quantidade, sem um período prévio de adaptação, fator esse importante, pois de acordo com DIRKSEN (1981) são necessários 20 dias para que haja uma adaptação da microbiota ruminal a um alimento de fácil digestibilidade.

Ao exame clínico, três animais apresentavam-se em estação e três em decúbito lateral. Outros sinais clínicos observados, foram apatia, anorexia, mucosas oculares congestionadas e vasos episclerais ingurgitados, taquicardia, taquipnéia, diferentes graus de desidratação, aumento de volume abdominal, atonia ruminal e ausência de estratificações, presença de bastante líquido no rúmen ao balotamento, fezes de aspecto pastoso a aquoso, fétidas e com partículas de grãos. Esses achados são semelhantes aos observados por SMITH & SHERMAN (1994), AFONSO et al. (2002) e MIRANDA NETO (2003).

O exame do fluido ruminal revelou aspecto leitoso, odor ácido, tempo de sedimentação diminuído e ausência de flotação, pH em torno de 5 e ausência de protozoários vivos. Estes achados condizem com os encontrados por DUNLOP (1972), CAO et al. (1987) e AFONSO & MENDONÇA (2007), que relacionam a diminuição do pH no rúmen à elevação na concentração de ácido láctico, que aumenta a osmolaridade do meio, tornando-o hipertônico em relação ao plasma e provocando maior fluxo de água dos compartimentos intra e extracelulares para o interior do trato digestivo, principalmente o rúmen, o que causa a distensão abdominal e a desidratação evidenciadas neste trabalho.

Observou-se aumento do hematócrito e das proteínas plasmáticas totais o que é explicado pela desidratação instalada. Para WATSON (2000), a hemoconcentração é um achado comum em animais com acidose láctica ruminal.

Nos três animais que se encontravam em decúbito lateral no momento do exame foi estabelecido um prognóstico ruim, confirmado pelas mortes dos mesmos logo após o atendimento clínico. Nos outros três animais foi realizada laparotomia e ruminotomia, onde evidenciou-se em dois animais, mucosa do rúmen acentuadamente hiperêmica e com desprendimento do epitélio, estes animais morreram dois dias após a cirurgia. O animal que não apresentou alterações na mucosa ruminal, recuperou-se após o tratamento, que incluiu a retirada do conteúdo ruminal e transfaunação.

Dos seis animais atendidos vivos, apenas um recuperou-se. Na necropsia dos dez animais, evidenciou-se fluido ruminal de aspecto leitoso e de odor ácido. Em três, observou-se, hiperemia acentuada da mucosa com desprendimento do epitélio, ausência de papilas ruminais em algumas áreas e presença de grande quantidade de milho inteiro e/ ou triturado. Em dois animais o abomaso apresentava mucosa hiperêmica com presença de úlcera. Estes achados estão de acordo com as observações feitas por UNDERWOOD (1992), DIRKSEN et

al. (2005) e AFONSO & MENDONÇA (2007). Além disso, foi observada na maioria dos animais a presença de grande quantidade de tecido adiposo no subcutâneo e na cavidade abdominal, contribuindo para diminuição da capacidade ruminal.

Histologicamente observou-se vacuolização do citoplasma das células epiteliais, freqüentemente formando vesículas, discreto infiltrado inflamatório de neutrófilos na mucosa e áreas focais de erosão e ulceração, resultados esses descritos por McGAVIN et al. (2007) e AFONSO & MENDONÇA (2007).

CONCLUSÕES

No presente trabalho, pôde-se observar que o acesso a grandes quantidades de carboidratos altamente fermentáveis em um curto espaço de tempo, foi a condição determinante para o aparecimento da enfermidade.

A alta letalidade observada, deveu-se entre outros fatores, à demora no atendimento e tratamento dos animais enfermos, uma vez que estes foram solicitados quando os animais encontravam-se em estágio avançado da doença.

REFERÊNCIAS

AFONSO, J. A. B. et al. Efeito da monensina sódica sobre as características do suco ruminal na acidose láctica ruminal induzida experimentalmente em ovinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 24, p. 203-212, 2002.

AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Acidose láctica ruminal. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. (Ed.). **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3.ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 295-399.

BARROS, N. N.; SIMPLÍCIO A. A.; FERNANDES, F. D. **Terminação de borregos em confinamento no Nordeste do Brasil**. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 1997. 24 p. (Circular Técnica, 12).

CAO, G. R. et al. Experimentally induced lactic acidosis in the goat. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 64, p. 367-370, 1987.

DIRKSEN, G. **Indigestiones en el bovino**. Konstanz: Schnetztor – Verlag GmbH, 1981. 76 p. Tradução: Dr Enrique Renner, Ranchos, Argentina.

DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. (Ed.). **Rosenberger exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 166-228.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.; STÖBER, M. **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4.ed. Buenos Aires: Inter-médica, v. 1, 2005. 632p.

MIRANDA NETO, E. G. **Avaliação do comportamento clínico e das características do suco ruminal em caprinos com acidose láctica induzida experimentalmente**. 2003. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. 513p.

SIQUEIRA, E. R.; AMARANTE, A. F. T.; FERNANDES, S. Estudo comparativo da recria de cordeiros em confinamento e pastagens. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 5, p. 17-28, 1993.

WATSON, A. D. J. Erythrocytosis and polycythemia. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Shalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 216-221.

UNDERWOOD, W. J. Rumen lactic acidosis - Part II - Clinical signs, diagnosis, treatment and prevention. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**. Yardley, v. 14, p. 1265-1270, 1992.

MC GAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F.; MOSBY, E. (Ed). **Pathologic basis of veterinary Disease**. 4. ed. [S.l.], 2007.

**METABOLISMO DE INDICADORES PREDITIVOS DA TOXEMIA DA
PRENHEZ EM OVELHAS DORPER NO TERÇO FINAL DA GESTAÇÃO,
PARTO E PÓS-PARTO**

Filipe Aureliano Pedrosa Soares¹, Álvaro Veloso Borba Neto¹, Janaína Azevedo
Guimarães²,

Alexandre Cruz Dantas², Cleyton Charles Dantas Carvalho², Allan Vieira dos Santos
Marques², Pierre Castro Soares³

1. Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco

2. Médicos veterinários, mestrandos em Ciência Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária,
Universidade Federal Rural de Pernambuco

4. Médico veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N – Dois Irmãos, CEP 52171-900 Recife-PE/ Brasil.

E-mail: psoares@dmv.ufrpe.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bioquímica, energia, proteína, patologia clínica, ruminantes

ABSTRACT

**PREDICTIVE VALUES OF PREGNANCY TOXEMIA OF DORPER SHEEP
DURING THE THIRD TRIMESTER OF PREGNANCY, PARTURITION AND
POSTPARTUM**

This study evaluates the biochemical profile of Dorper sheep raised semi-intensively during the third trimester of pregnancy, parturition, and postpartum. Analyses of blood biochemical indicators and ketone bodies in the urine were carried out. The variables investigated included total protein, globulin, urea, creatinine, plasma glucose, total cholesterol, and triglycerides. Throughout the three periods, there were no differences between albumin and fructosamine levels. Ketone bodies were detected in the urine of 8,33% of animals, and 16,67% on the seventh and fourteenth week after birth. Relationships between fructosamine concentrations and blood components were varied ($p < 0,05$): total protein ($r = 0,30$); albumin ($r = 0,32$); cholesterol ($r = 0,25$); plasma glucose ($r = 0,23$); and urinary glucose ($r = 0,26$). Significant changes in biochemical indicators of energy and protein profiles were observed at the end of pregnancy and during parturition.

This indicates that such variation depends on the gestational period and that the final trimester of pregnancy requires increased attention as regards the occurrence of metabolic diseases.

KEYWORDS: Biochemistry, clinical pathology, energy, protein, ruminants.

INTRODUÇÃO

Como bem conhecido, a toxemia da prenhez (TP) tem sido frequentemente diagnosticada nos criatórios de caprinos e ovinos, particularmente nas criações de animais de alta genética, onde são oferecidas dietas ricas em energia e proteína, com a suplementação de farelo de soja, milho entre outros. Nesses animais, constantemente preparados para exposições e leilões, os distúrbios de ordem metabólica aparecem com maior frequência, como nos casos de acidose láctica ruminal, TP e urolitíase, enfermidades fortemente correlacionadas com a ingestão de dietas hiper-energéticas e hiper-protéicas. A TP é caracterizada por hipoglicemia, cetonemia, cetonúria, debilidade e cegueira, presente em gestações gemelares, uma vez que o aporte nutricional se torne insuficiente para o desenvolvimento dos fetos (ORTOLANI, 1989; SCHILD, 2007).

As exigências nutricionais de fêmeas gestantes apresentam-se bastante elevadas no terço final da gestação (situação agravada com gestações gemelares). Mediante inadequado manejo alimentar, estes animais apresentam balanço energético negativo (ingestão de energia abaixo do que elas necessitam para o desenvolvimento fetal). Fisiologicamente, o organismo tenta compensar esse déficit energético através de mobilização de reservas corporais (lipólise dos tecidos gordurosos). Entretanto, o fígado não consegue metabolizar todo ácido graxo (gordura) proveniente da lipólise, tendo como consequência a formação de corpos cetônicos (ORTOLANI, 1989). A etiologia da TP não está claramente definida, embora se saiba que não é de ordem infecciosa, nem devido à deficiência de alguma vitamina ou mesmo algum mineral em específico (WASTNEY et al., 1983).

O perfil metabólico pode ser definido como sendo um grupo ou combinações de constituintes sanguíneos analisados conjuntamente em um teste. As escolhas das variáveis a serem analisadas dependem da importância das mesmas no problema a ser investigado, do seu custo, da facilidade de análise e da estabilidade da amostra até o processamento no

laboratório (GONZÁLES & SCHEFFER, 2003). Segundo (SUCUPIRA, 2003), devido aos diferentes achados experimentais na literatura e aos conflitos de opiniões, muitas dúvidas ainda imperam sobre a real importância de uma série de provas laboratoriais no diagnóstico de distúrbios metabólicos. Embora os metabólitos sanguíneos estejam sujeitos a grande controle homeostático, a partir de alterações metabólicas e endócrinas que ocorrem no organismo animal, espera-se encontrar uma ou um conjunto de variáveis que possam auxiliar no diagnóstico de carência de nutrientes ou na avaliação do status energético protéico do animal (SUCUPIRA, 2003; SOARES et al., 2008). Objetivou-se, contudo, avaliar o perfil de indicadores bioquímicos sanguíneos e corpo cetônico na urina em ovelhas da raça Dorper durante o terço final da gestação, parto e pós-parto, e sua relação com o aparecimento de toxemia da prenhez.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 12 ovelhas da raça Dorper, oriundas de propriedade que com sistema de criação o regime semi-intensivo, com oferta de pasto, ração concentrada (farelo de soja e farelo de milho) e água *ad libitum*. As ovelhas foram monitoradas quando ao ciclo reprodutivo, verificando-se os critérios de sincronização de estro e inseminação artificial (AI), quando foram registrados, em protocolos por propriedade, datas de cio e IA, para o efetivo controle do período provável de parto e, por conseguinte, coleta de material biológico. Decorridos 30 dias da IA, todos os animais foram submetidos à avaliação ultrasonográfica para registro de positividade da prenhez, bem como do número de fetos. A partir do 90 dias de gestação, iniciou-se coleta de material biológico para análises laboratoriais, e estas foram efetivadas em diferentes tempos, constituindo-se, portanto, os seguintes momentos: M0 (-60), M1 (-60), M2 (-30), M3 (-21), M4 (-15), M5 (-7), M6 (Parto), M7 (7), M8 (14) e M9 (28).

Amostras de sangue foram coletadas por venopunção jugular, em tubos siliconizados vacutainer[®], sem anticoagulante e com anticoagulante (fluoreto), para obtenção de plasma e soro, respectivamente. A obtenção das amostras de urina foi feita por micção espontânea dos animais, utilizando-se bolsa plástica tipo colonostomia (Mark Med[®]) e foi aplicada na região peri-vulvar por adesão com cola adesiva. Imediatamente após a micção, a urina foi condicionada em recipiente coletor estéril de urina (Cral-Plast[®]).

Foi avaliada a presença de corpo cetônico com a utilização de tira reagente. As variáveis analisadas foram: glicose e colesterol total plasmáticas e no soro foram analisadas: frutossamina, creatinina, uréia, proteína total, albumina, globulina e triglicérides. As determinações bioquímicas sangüíneas foram realizadas em analisador bioquímico semi-automático BIOPLUS 2000.

Os dados foram processados utilizando-se o procedimento GLM do SAS (SAS, 2000). Na existência de significância no teste F as médias foram contrastadas pelo Teste de Duncan. Realizou análises de correlação para verificar a relação entre pares de variáveis (LITTLE & HILLS, 1978). Para todas as análises estatísticas realizadas foi adotado o nível de significância (P) de 5%.

RESULTADOS

Com base no conjunto de variáveis do perfil bioquímico energético e protéico, nos três períodos considerados, ou seja, terço final de gestação, parto e pos parto, foram registrados efeitos significativos para as respectivas variáveis: proteína total ($P < 0,0001$), globulina ($P < 0,0001$), uréia ($P < 0,0001$), creatinina ($P < 0,0001$), glicose plasmática ($P = 0,0180$), colesterol total ($P < 0,0001$), triglicerídeos ($P < 0,0001$) e glicose urinária ($P = 0,0408$). Com relação à albumina ($P = 0,2551$) e frutossamina ($P = 0,1603$), o perfil destas variáveis não diferiu diferentes períodos. Na análise do perfil da proteína total, observam-se maiores médias no período correspondente ao terço final de gestação em relação ao momento do parto, tendo uma recuperação destas médias até o tempo de 28 dias pós-parto. Perfil análogo foi observado em relação à globulina. Menor média da variável uréia foi registrada 60 dias anteriores ao parto (3,70 mmol/L), sendo que estas médias aumentaram até o momento do parto, apresentando diminuição discreta no pós-parto. Quanto à creatinina, observa-se um aumento gradual ao longo do término do período de gestação, quando foi registrada maior média no período do parto (87,44 μ mol/L), sendo que as médias foram diminuindo nas semanas subseqüentes, inclusive apresentando registrando-se menores médias 14 e 28 dias após o parto, respectivamente.

Menor média da glicose plasmática (0,85 mmol/L) foi registrada sete dias após o parto, porém estas médias evidenciaram-se maiores nas semanas seguintes e análogas aos momentos correspondentes ao terço final da gestação. Menores concentrações plasmáticas

de colesterol foram registradas no período decorrente de 21 dias antes do parto até 14 dias pós-parto, sendo que menor média foi registrada no período de parto (1,33 mmol/L). Já em relação às concentrações séricas de triglicerídeos, verifica-se uma diminuição desta concentração com o decorrer das semanas da gestação, registrando-se menor média no período do parto (0,20 mmol/L), sendo que os valores seguintes ao parto apresentam-se semelhantes a este.

Quanto à presença de corpo cetônico na urina, 8,33 % de animais apresentaram tal indicador, seguido de 16,67 apresentando tais corpos cetônicos na sétima e 14^a semanas após o parto. Procedeu-se com análise de relação entre o conjunto de variáveis em relação à concentração sanguínea de frutossamina, verificando-se que esta apresentou variados graus ($P < 0,05$) de relação com a proteína total ($r = 0,30$), albumina ($r = 0,32$), colesterol ($r = 0,25$), glicose plasmática ($r = 0,23$) e glicose urinária ($r = 0,26$).

DISCUSSÃO

Os resultados mostraram haver uma variação significativa de um maior conjunto de metabólitos do perfil energético e protéico nas ovelhas, nos três períodos do ciclo gestacional, ou seja, terço final da gestação, parto e pós-parto. Assim sendo, no momento do parto foi observado uma menor concentração de proteína total, globulinas, colesterol e triglicérides, e um aumento da uréia e creatinina. Importante considerar que em todos os casos, após o parto, no decurso do primeiro mês, tais metabólitos apresentaram suas médias próximas aos valores do momento inicial do experimento, ou seja, 60 dias antes do parto.

As concentrações sanguíneas de proteína total, albumina, globulina e uréia apresentaram-se dentro dos valores considerados de normalidade para a espécie (CONTRERAS et al., 2000), sendo estes indicadores importantes da interpretação do perfil protéico (SUCUPIRA, 2003). O perfil destes indicadores aqui presente está correlato aos observados por CONTRERAS et al. (2000). No decurso das semanas finais de gestação, observou-se diminuição da concentração sérica de proteína total nas ovelhas. Segundo GONZÁLES et al. (2003), a síntese das proteínas está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal. Já com relação às globulinas, as quais também diminuíram

significativamente, não tem sido encontrada na literatura uma explicação plausível para tal perfil.

Verificou-se que no momento do parto o valor médio da uréia estava acima do valor basal (7,19 mmol/L) e superior ao valor máximo de referência (2,5 – 6,7 mmol/L), segundo CONTRERAS et al. (2003). Na seqüência da avaliação, este valor diminuiu nas semanas seguintes ao parto. O aumento deste indicador nos animais avaliados pode ser relacionado com a quantidade de amônia convertida em uréia no organismo, sendo uma função da quantidade total de proteína degradada e a taxa de incorporação de amônia na proteína microbiana, uma vez que o alto consumo de proteína degradada no rumem resulta em maiores concentrações de uréia sérica (SUCUPIRA, 2003).

A identificação de corpo cetônico na urina foi considerada baixo no total dos animais acompanhados, na semana que antecedeu ao parto. Sabe-se que o organismo compensa déficits de energia com a mobilização de reservas corporais, e que o fígado não consegue metabolizar todo ácido graxo proveniente da lipólise, tendo como consequência a formação de corpos cetônicos (ORTOLANI, 1994; GONZÁLES e SCHEFFER, 2003). Mesmo tendo observado esse baixo percentual de corpo cetônico na urina, tal indicador é de extrema importância no monitoramento de animais no terço final de gestação, para que se possam tomar medidas de controle quando este está presente, inclusive muito aumentado. Não foram encontradas evidências de grave balanço energético negativo na avaliação dos metabólitos no terço final da gestação, relacionado com o aparecimento da TP.

CONCLUSÕES

Variação de indicadores bioquímicos do perfil energético e protéico em ovelhas Dorper, no final da gestação e no momento do parto, em regime de criação semi-intensivo, é significativo, indicando que tal variação ocorre em função do período gestacional, sendo o terço final de gestação considerado um período de maior atenção no que diz respeito a enfermidades de ordem metabólica.

REFERÊNCIAS

- CONTRERAS, P. A.; PHIL, M. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos, In: GONZÁLES, H.D. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: CENTERLAB, 2000, p. 23-30.
- GONZÁLES, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLES, F. H. D.; CAMPOS, R. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL 1, 2003, Porto Alegre: **Anais...** Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2003. p. 73-89.
- LITTLE, T. M.; HILLS, F. J. **Agricultural experimentation: design and analysis**. New York: John Wiley, 1978. 350 p.
- ORTOLANI, E. L.; BENESI, F. J. Ocorrência de toxemia da prenhez em cabras (*Capra hircus*, L) e ovelhas (*Ovis Aries*, L) criadas no estado de São Paulo, Brasil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 229-234, 1989.
- SCHILD, A. L. Cetose. In: RIET-CORREA F., SCHILD AL, LEMOS RAA , BORGES JR. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. Editora Pallotti: Santa Maria, v. 2, p. 269-274. 2007.
- SOARES, P. C.; MARTINELE, I.; D'AGOSTO, M.; MARUTA, C. A.; SUCUPIRA, M. C. A.; ANTONELLI, A. C.; MORI, C. S.; ORTOLANI, E. L. Effect of an energy-deficient diet on population of ciliate protozoans in bovine rumen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 148-155, 2008.
- STATISTICAL ANALYSES SISTEM INSTITUTE, Inc 1996. **SAS user's guide: Statics Version**, 1996. SAS, Cary, N. C.
- SUCUPIRA, M. C. A. **Estudo comparativo de exames clínico-laboratoriais no diagnóstico de carência energética prolongada em garrotes**. 2003, 173f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- WASTNEY, M. E.; WOLFF, J. E.; BICKERSTAFFE, R.; RAMBERG, C. F.; BERMAN, M. Kinetics of glucose metabolism in sheep. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 36, n. 5-6, p. 463-469, 1983.

INFLUÊNCIA DA SÍNDROME DIARRÉIA NO METABOLISMO OXIDATIVO DOS NEUTRÓFILOS DE BEZERROS DA RAÇA GIROLANDO

Nívea Caroline M. Silva¹; Tamires Soares Assis¹, Marcos Roberto A. Ferreira¹, Cecília Nunes Moreira²

1-Alunos (as) do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás – CAJ.

2 - Professora Adjunto do Curso de Medicina Veterinária, CAJ/UFG, Jataí, Goiás, Brasil, CEP:75800-000.

E-mail: cissanm@yahoo.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, diarreia, NBT.

ABSTRACT

INFLUENCE OF DIARRHEA SYNDROME IN NEUTROPHILS OXIDATIVE METABOLISM IN GIROLANDO CALVES

This study compares hemogram findings and neutrophils oxidative metabolism by the NBT reduction test of 14 Girolando calves with diarrhea. The animals were raised on a dairy farm in Santa Rosa, Universidade Federal de Goiás, Jataí Campus, located in the southwest of Goiás. Possible variations due to diarrhea complications evidenced at disease onset and at the end of treatment were evaluated and compared to results obtained from the examination of healthy animals (control group). Hemogram findings of sick and healthy calves were consistently different from those of bovine viral diarrhea infection. NBT test results revealed that neutrophils were less reactive at disease onset than at the end of treatment. Furthermore, their values were higher in healthy animals than in sick ones.

KEYWORDS: Bovine, diarrhea, NBT.

INTRODUÇÃO

Na pecuária leiteira, a diarreia em bezerros ainda causa grandes prejuízos econômicos para a atividade, sendo influenciadas por fatores relacionados ao manejo dos animais, à inadequação das defesas do hospedeiro e à contaminação ambiental (SCHUCH, 2001). O período neonatal na espécie bovina é marcado por rápidas mudanças do quadro

hematológico, sendo ainda caracterizado por uma maior susceptibilidade às doenças (RADOSTITS et al., 2000). Na diarreia, podem ser observadas alterações hematológicas, onde a análise do leucograma auxilia no diagnóstico e na evolução do quadro clínico e possibilita a diferenciação entre as possíveis causas, classificando-as em virais, bacterianas ou parasitárias (KERR, 2003; BENESI, 2006). A fagocitose realizada pelo neutrófilo é um importante mecanismo de defesa do hospedeiro contra a invasão de microorganismos. O aumento da produção de substâncias oxidativas no interior do neutrófilo é fundamental para a eficiência deste processo de defesa (TIZARD, 2000). O teste da redução do nitroblue tetrazolium (NBT) foi um método desenvolvido para a determinação desta atividade oxidativa dos neutrófilos (BAEHNER & NATHAN, 1968; COSTA et al., 2004).

Os objetivos desta pesquisa foram determinar e comparar o hemograma e o metabolismo oxidativo dos neutrófilos pelo teste de redução do NBT em bezerros girolando avaliando as possíveis variações devido ao complexo diarreia no início da enfermidade e ao final do tratamento, comparando os resultados obtidos com os de animais controle (hígidos).

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização do hemograma e do NBT foram coletadas amostras de sangue no início da enfermidade e sete dias após, período correspondente ao final do tratamento, sendo no total de duas amostras por animal enfermo. Nos animais testemunhas foram realizados o mesmos procedimentos de colheita das amostras nos mesmos dias e horários da colheita feita do animal doente. A colheita das amostras de sangue para a determinação do hemograma e NBT foi realizada por punção da veia jugular utilizando tubos *vacutainer* com anticoagulante EDTA a 10% obtendo 5mL de sangue. Foi determinado o volume globular (método do microhematócrito – COLES, 1984), proteína total por refratometria e o fibrinogênio plasmático pela técnica de precipitação no tubo de micro hematócrito a 56°C, além da contagem total de hemácias com utilização de câmara de newbauer e dosagem de hemoglobina pelo método de cianometahemoglobina por espectrofotometria (JAIN, 1993). Também realizou-se a contagem total de leucócitos, com utilização de câmara de newbauer segundo o método descrito por JAIN (1993). Para a determinação do teste NBT foram obtidos 500 µL de sangue em tubos ependorf contendo 2,0 µL de heparina (Liquemine® 5000UI/mL, Roche, São Paulo, Brasil), nos momentos iniciais e finais do tratamento de cada animal enfermo e controle participante do projeto. Os testes da redução espontânea e da redução estimulada foram realizados pelo método citoquímico descrito por PARK et al. (1968) com algumas modificações. Foram preparados três esfregaços em lâminas desengorduradas e

corados pelo método de Leishman conforme JAIN (1993). Por meio de microscopia, com aumento de 1000X, para cada amostra e para cada prova foram contados 100 neutrófilos, discriminando o percentual de células NBT positivas ou negativas, conforme apresentavam ou não o NBT reduzido no interior do citoplasma. A análise estatística foi realizada de forma descritiva, considerando os valores médios e os desvios padrões em cada momento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizados exames clínicos e laboratoriais em 14 bezerros com idades entre 0 dias a 180 dias. Foi observado que não houve distinção de sexo, sendo afetados machos e fêmeas igualmente. A diarreia é considerada uma síndrome caracterizada por alterações da função gastrointestinal, cujo sintoma principal é a diarreia, sendo causa de grandes prejuízos econômicos na atividade agropecuária, pela mortalidade provocada entre os animais afetados, pelos tratamentos frustrados e, particularmente, pela perda de peso e desenvolvimento retardado dos bezerros que a apresentam (BRANDÃO et al., 2002; RADOSTITS et al., 2002; BENESI, 2006). Segundo BENESI (2006), o diagnóstico presuntivo na síndrome diarreia pode ser estabelecido considerando o histórico e as manifestações clínicas dos animais acometidos no momento e pregressamente, evolução do quadro, forma de instalação e epidemiologia da enfermidade na propriedade em avaliação o que condiz com os métodos utilizados nesta pesquisa como diagnóstico.

Os principais sinais clínicos observados foram fezes aquosas, apatia, cansaço e falta de apetite. As frequências respiratórias, no início do tratamento foi em média de 30 mpm, a cardíaca de 97,5 bpm e a temperatura 38 °C, em contrapartida, no final do tratamento tivemos as médias de 36 mpm, 95 bpm e 38,7 °C. Comparando com os animais controles, podemos concluir que os animais não apresentaram nenhum distúrbio nestas funções vitais, já que os animais saudáveis apresentaram índices semelhantes, discordando de informações de RADOSTITS et al. (2002). Quanto ao eritrograma e leucograma, do início da doença, nenhum animal apresentou anemia, 14,2% (2/14) apresentaram hematócrito aumentado, 14,2% (2/14) leucocitose, 35,7% (4/14) linfocitose, 35,7% (4/14) neutrofilia, 35,7% (4/14) monocitose, 71,4% (10/14) eosinofilia e 35,7% (4/14) apresentou hiperproteïnemia. Esse aumento do hematócrito e a hiperproteïnemia é compensatório da desidratação que animal esta sofrendo devido a grande perda de líquidos com a diarreia segundo KERR (2003). Já no termino do tratamento obtivemos todos os animais com valores normais de hematócrito, 64,2% (9/14) leucocitose, 50% (7/14) linfocitose, 14,2% (2/14) linfopenia, 50% (7/14) neutrofilia, 35,7% (4/14) desvio regenerativo a esquerda, 71,4% (10/14) monocitose, 50%

(7/14) eosinofilia e 14,2% (2/14) hipoproteinemia. Em relação as plaquetas, somente no término do tratamento foi evidenciado alterações, sendo que 35,7% (4/14) dos animais apresentaram trombocitose. Foi possível observar que ao final do tratamento houve mais alterações hematológicas nos animais, isso se deve a agressividade do tratamento e ao estresse sofrido pelo animal que foi manuseado diariamente para aplicação dos medicamentos. O hematócrito normal e a normoproteinemia mostram que, ao término do tratamento, a maioria dos animais não apresentam mais desidratação segundo KERR (2003). Os índices normais dos animais controles nos mostram que tais alterações nos animais doentes são devido à enfermidade.

Os animais que apresentaram diarreia apresentaram neutrófilos menos reativos no início da doença sendo em média 56% positivos e no final da doença 60% positivos. Fazendo um parâmetro com os animais controles pode-se concluir que animais saudáveis possuem um maior poder de reação dos neutrófilos, tendo um índice de 70% de neutrófilos reativos. Provavelmente a maior fagocitose realizada pelos neutrófilos dos animais controles contra a invasão de microorganismos, aumentou a produção de substâncias oxidativas no interior destes animais protegendo-os contra os agentes da diarreia (TIZARD, 2000).

Nos animais acometidos por diarreia, os bastonetes tiveram uma redução significativa após o tratamento ($p < 0,05$), o fibrinogênio também apresentou uma redução significativa após o tratamento ($p < 0,1$) e os demais parâmetros não apresentaram diferença significativa com relação ao início ou ao fim do tratamento.

CONCLUSÃO

Foi possível concluir que na diarreia os animais apresentam diferença quanto ao início da doença e após o tratamento em suas funções vitais assim como em seus componentes sanguíneos, mostrando eficiência na resolução das enfermidades. Os valores de NBT nos animais com tristeza parasitária foram em menor quantidade no início da doença do que após o tratamento. Em todos os casos os animais saudáveis apresentaram maior valores de NBT, o que comprova que animais com maior metabolismo oxidativo dos neutrófilos apresentam maior resistência a agentes patogênicos variados.

REFERÊNCIAS

BAEHNER, R. L.; NATHAN, D. G. Chronic granulomatous disease. **New England of Journal of Medicine**, Massachusetts, v. 278, p. 1972-4, 1968.

BENESI, F. J. **Principais enfermidades de bezerros neonatos. Como diagnosticá-las e tratá-las?** [online]. 2006. Disponível em: <http://www.spmv.org.br/conpavet2004/palestras%20-20resumos/Neonatologia%20-%20Fernando%20Jose%20Benesi.doc>. Acesso em 15 set 2007.

BRANDÃO, P. E.; CORTEZ, A.; GREGORI, F.; HEINEMANN, M. B.; RICHTZENHAIN, L. J.; COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C.; KOHAYAGAWA, A.; FERREIRA, A. F. M. S. C.; CASSETARI, M. L.; CROCCI, A. J. Influência do desenvolvimento etário e da suplementação com vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol) no metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 5, p. 293-298, 2004.

ROSALES, C. A. R.; JEREZ, J. A. Ocorrência de anticorpos anti-rotavírus em bovinos no estado de São Paulo. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n.3, p. 115-116, 2002.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417p.

KERR, G. M. **Exames laboratoriais em medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca. 2003, 434p.

PARK, B. H.; FIKRIG, S. M.; SMITHWICK, E. M. Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils. **Lancet**; United Kingdom, v.2, p.532-534, 1968.

RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G. J.; HOUSTON, D. M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000, 590p.

SCHUCH, L. F. D. Diarréia dos bezerros. In: RIET-CORREA, F.; SHILD, A.D.; MÉNDEZ, M.D.C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**, São Paulo, v. 1, n. 6, p. 408-420, 2001.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 6.ed. London: Saunders Company, 2000, 482p.

EFEITOS DO PERÍODO PUERPERAL SOBRE O HEMOGRAMA E TESTE DE NBT EM VACAS GIROLANDO

Marcos Roberto A. Ferreira¹, Tamires Soares de Assis¹, Nívea Caroline M. Silva¹, Cecília Nunes Moreira²

1- Alunos (as) do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás – CAJ.

2- Professor Adjunto do Curso de Medicina Veterinária, CAJ/UFG, Jataí, Goiás, Brasil.

CEP:75800-000. E-mail: cissanm@yahoo.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Neutrófilos, metabolismo oxidativo, parto.

ABSTRACT

HEMOGRAM AND NBT TEST RESULTS OF PREGNANT GIROLANDA COWS

This study investigates the relationship between hematological parameters and neutrophil functional activity, evaluated by the NBT method, in pregnant Girolanda cows raised in Brazil. This work was carried out at the dairy farm Fazenda Santa Rosa at Universidade Federal de Goiás, Jataí Campus, southwest of Goiânia, Goiás State. Hemogram results revealed that the number of prepartum leukocytosis was higher than postpartum ones, although they were not characterized as leucopenia due to stress on leukocyte count during parturition. Assessment of neutrophils oxidative metabolism showed that reduction in the number of neutrophils in the postpartum period may be justified by stress.

KEYWORDS: Neutrophils, oxidative metabolism, parturition.

INTRODUÇÃO

A hematologia no meio semiológico vem acrescentar à Medicina Veterinária extraordinário auxílio para se estabelecer diagnósticos e acompanhar os tratamentos de inúmeras enfermidades que atingem os animais. Entretanto, é fundamental o conhecimento dos valores de referência do hemograma dos animais sadios. Os fatores ambientais exercem influência sobre o quadro hematológico desses, havendo uma concordância que animais criados sob diferentes condições ambientais podem apresentar variações no hemograma (SAUT & BIRGEL JUNIOR, 2006).

A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, pelo estresse, gera uma cascata hormonal que culmina com o aumento nas concentrações de cortisol plasmático. No final da

gestação o número de eritrócitos aumenta em consequência do efeito eritropoiético da somatotropina coriônica placentária e da progesterona (LONGO, 1983). As alterações no leucograma de bovinos durante o parto são típicas de uma resposta leucocitária a um quadro de estresse (ESIEVO & MOORE, 1979). O número de leucócitos totais encontra-se aumentado, principalmente devido ao aumento de neutrófilos, com ou sem desvio à esquerda.

O número de cada tipo de leucócito varia, dependendo do grau de estresse e da condição das membranas fetais. Estas alterações são evidentes entre as 12 e 24 horas após o parto e diminuem nos dias subseqüentes. O aumento da produção de substâncias oxidativas no interior do neutrófilo é fundamental para a eficiência deste processo de defesa (TIZARD, 2000). O teste da redução do nitroblue tetrazolium (NBT) foi um método desenvolvido para a determinação desta atividade oxidativa dos neutrófilos (BAEHNER & NATHAN, 1968; BIRGEL JUNIOR & SAUT, 2004).

O objetivo deste trabalho foi determinar os efeitos do período puerperal sobre o hemograma e o metabolismo oxidativo dos neutrófilos (NBT) de vacas da raça Girolando.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido na propriedade rural Fazenda Santa Rosa, da Universidade Federal de Goiás – Campus Jataí, situada na região Sudoeste do Estado de Goiás, no município de Jataí. Foram coletadas amostras de sangue de 11 vacas girolando, 7 dias antes do parto e 24hs após o parto. A colheita foi realizada por punção da veia jugular utilizando tubos *vacutainer* com anticoagulante EDTA a 10% obtendo 5mL de sangue, para a determinação do volume globular (COLES, 1984), proteína total por refratometria, fibrinogênio plasmático pela técnica de precipitação no tubo de micro hematócrito a 56°C, contagem total de hemácias e de leucócitos com utilização de câmara de Neubauer e dosagem de hemoglobina pelo método de cianometahemoglobina por espectrofotometria (JAIN, 1993).

Para a determinação do teste de redução do nitroblue tetrazolium (NBT), foram obtidos 500 µL de sangue em tubos eppendorf® contendo 2,0 µL de heparina (Roche, São Paulo, Brasil). A avaliação do metabolismo oxidativo dos neutrófilos foram utilizados os testes NBT pelo método estimulado e não estimulado. Os testes NBT foram realizados pelo método citotóxico descrito por PARK et al. (1968). Desta solução de NBT foram pipetados e transferidos 50µL para frascos plásticos de 1000 µL (Stimulant, USA). Após homogeneização foram pipetados 50µL de sangue heparinizado, misturando-se as amostras com os reagentes, foram incubados a 37°C por 15 minutos em banho-maria e depois mais 15 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, utilizando-se lâminas foram preparados

esfregaços que posteriormente foram corados pelo método de *Leishman* conforme JAIN (1993). Por meio de microscopia, com aumento de 1000X, para cada amostra foram contados 100 neutrófilos, discriminando o percentual de células NBT positivas ou negativas, no interior do citoplasma.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação hematológica antes do parto, obteve-se os seguintes valores na série vermelha: hematócrito ($32,4\% \pm 6,4\%$), hemácias ($6,2 \text{ mm}^3 \pm 0,61 \text{ mm}^3$), fibrinogênio ($525 \text{ g/dL} \pm 320 \text{ g/dL}$), proteínas plasmáticas ($8,7 \text{ g/dL} \pm 0,68 \text{ g/dL}$), VCM ($52,8 \text{ fl} \pm 5,9 \text{ fl}$), CHCM ($33,3 \text{ g}\% \pm 0,61 \text{ g}\%$) e , plaquetas, ($316.625 \text{ mm}^3 \pm 188.348 \text{ mm}^3$). Quanto ao eritrograma, no período pré-parto, 9,09% (1/11) das vacas apresentaram anemia, sendo que 100% foi do tipo normocítica e normocrômica, 45,45% (5/11) dos animais apresentaram trombocitopenia e 54,54% (6/11) contagem de plaquetas normais. Em relação às proteínas plasmáticas totais, 54,45% (6/11) apresentaram hiperproteinemia, enquanto 45,45% (5/11) tinham índices normais de proteínas.

Passando à análise da série branca, os valores médios obtidos foram: leucócitos totais ($15.675 \text{ mm}^3 \pm 5.715 \text{ mm}^3$). No leucograma diferencial, os linfócitos ($9.640 \text{ mm}^3 \pm 6.104 \text{ mm}^3$), segmentados ($10.238 \text{ mm}^3 \pm 11.620 \text{ mm}^3$), bastonetes ($402 \text{ mm}^3 \pm 727 \text{ mm}^3$). Com relação ao leucograma, no período pré-parto, 54,55% (6/11) dos animais apresentaram leucocitose e 45,45% (5/11) contagem de leucócitos normais; dos linfócitos, 45,45% (5/11) mostraram linfócitos normais e 54,55% (6/11) linfocitose. Em relação à contagem de neutrófilos totais, 54,55% (6/11) resultaram em contagem normal e 45,45% (5/11) neutrofilia. Na contagem dos monócitos, 36,36% (4/11) apresentaram monocitose e 63,64% (7/11) contagem de monócitos normais. Evidenciou-se que 63,64% (7/11) apresentaram eosinofilia e 36,36% (4/11) contagem normal de eosinófilos.

Na avaliação hematológica após o parto, obtiveram-se os seguintes valores na série vermelha: hematócrito ($33\% \pm 5,6\%$), hemácias ($6,2 \text{ mm}^3 \pm 0,60 \text{ mm}^3$), fibrinogênio ($2.188 \text{ g/dL} \pm 4.000 \text{ g/dL}$), proteínas plasmática ($8,3 \text{ g/dL} \pm 0,66 \text{ g/dL}$), VCM ($53,4 \text{ fl} \pm 4,16 \text{ fl}$), CHCM ($33,3 \text{ g}\% \pm 0,42 \text{ g}\%$) e , plaquetas, ($362.286 \text{ mm}^3 \pm 167.305 \text{ mm}^3$). Quanto ao eritrograma pós-parto, 100% (11/11) das vacas apresentaram-se sem alterações, 27,27% (2/11) apresentaram trombocitopenia e 72,73% (8/11) contagem de plaquetas normais. Em relação às proteínas plasmáticas totais, 45,45% (5/11) apresentaram hiperproteinemia, enquanto 54,55% (6/11) apresentaram índices normais de proteínas.

No que se refere à serie branca, leucócitos totais ($13.594 \text{ mm}^3 \pm 3.108 \text{ mm}^3$), no leucograma diferencial, os linfócitos ($8.051 \text{ mm}^3 \pm 3.360 \text{ mm}^3$), segmentados ($3.991 \text{ mm}^3 \pm 2.357 \text{ mm}^3$), bastonetes ($14 \text{ mm}^3 \pm 39 \text{ mm}^3$). Quanto ao leucograma pós-parto, 45,45% (5/11) dos animais apresentaram leucocitose, 54,55% (6/11) contagem de leucócitos normais. Quanto aos linfócitos, 36,36% (4/11) apresentaram linfopenia e 63,64% (7/11) contagem de linfócitos normais. Já na contagem de neutrófilos totais, 72,73% apresentaram contagem normal e 27,27% neutrofilia. Na contagem dos monócitos, 36,36% (4/11) apresentaram diminuição de monócitos e 63,64% (7/11) estavam normais. Evidenciou-se que 9,09% (1/11) apresentaram eosinofilia, enquanto 90,91% (10/11) apresentaram índice normal de eosinófilos.

Quanto ao NBT os valores médios antes do parto foram ($47\% \pm 0,17\%$), e depois do parto foram ($32\% \pm 0,17\%$); sendo que 54,55%(6/11) das vacas apresentaram significativo decréscimo na porcentagem do NBT pós-parto em relação à porcentagem do NBT pré-parto e 45,45% (5/11) das vacas tiveram um aumento na porcentagem.

Com estes resultados, verifica-se que a maioria dos animais demonstrou leucocitose pré-parto, concordando com EISIEVO & MOORE (1979). Já no pós-parto houve um decréscimo significativo nos valores leucocitários, porém dentro dos valores referenciais segundo (MEYER et al., 1995), não caracterizando uma leucopenia, justificado por um estresse puerperal, discordando com AIELLO E MAYS (2001).

Não foram encontradas fontes seguras que nos fornecesse informações sobre a atuação do teste de NBT em vacas no pré e pós-parto. Os resultados encontrados nesse trabalho foram um decréscimo na porcentagem de NBT nos testes realizados no pós-parto provavelmente justificado pelo estresse puerperal.

CONCLUSÕES

Foi observado neste estudo que as vacas Girolando no período peri-parto apresentam seu sistema imunológico deficiente, visto a redução na capacidade de oxidação dos neutrófilos nas primeiras 24 horas após o parto, o que significa, que neste período estes animais podem se tornar mais susceptíveis as diversas enfermidades infecciosas como mastite e metrite, sendo o manejo preventivo essencial para o sucesso da pecuária leiteira e o bem estar dos animais.

REFERÊNCIAS

- BAEHNER, R. L.; NATHAN, D. G. Chronic granulomatous disease. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 278, p.1972-4, 1968.
- BIRGEL JUNIOR, E. H.; SAUT, J. P. E. Influência do período pós-parto sobre o leucograma de fêmeas bovinas da raça holandesa. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 588-597, 2006.
- COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1984, 566p.
- ESIEVO, K. A.; MOORE, W. E. Effects of dietary protein and stage of lactation on the hematology and erythrocyte enzymes activities of high-producing dairy cattle. **Research in Veterinary Science**, London, v. 26, n. 1, p. 53-58, 1979.
- FRASER, C. M.; BERGERON, J. A.; MAYS, A.; AIELLO, S. E. **Manual Merk de veterinária**. 7.ed. São Paulo: Rocca, 1997. 2169 p.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417p.
- LONGO, L. D. Maternal blood volume and cardiac output during pregnancy: a hypothesis of endocrinologist control. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 245, n. 5, p. 720-729, 1983.
- MEYER, J. D.; COLES, H. E; RICH, J. L. **Medicina de laboratório veterinária interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995.
- NAVARRO, C. E. K. G.; PACHALY, J. R. **Manual de hematologia veterinária**. São Paulo: Varela, 1994. 169p.
- TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 6.ed. London: Saunders Company, 2000, 482p

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CÁLCIO, FÓSFORO, MAGNÉSIO, FERRO, SÓDIO E POTÁSSIO EM BEZERROS MISTIÇOS CANCHIM-NELORE E DA RAÇA HOLANDESA DO NASCIMENTO AOS 30 DIAS DE IDADE

Thaís Gomes Rocha¹, Camila Franciosi¹, Ricardo Perecin Nociti², Renata Lemos Nagib Jorge³, José Jurandir Fagliari⁴

1. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

4. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil.

E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Eletrólitos séricos, minerais séricos, neonatos bovinos

ABSTRACT

SERUM CONCENTRATIONS OF CALCIUM, PHOSPHORUS, MAGNESIUM, IRON, SODIUM, AND POTASSIUM IN CROSSBRED CANCHIM-NELORE AND HOLSTEIN CALVES FROM BIRTH TO 30 DAYS OF AGE

This study compares concentrations of calcium, phosphorus, magnesium, iron, sodium, and potassium in crossbred Canchim-Nelore and Holstein calves. Serum analysis were carried out 24-48 hours, 7, 15, and 30 days after birth. Levels of calcium and phosphorus in calves from pluriparous Holstein cows, and magnesium levels in calves from primiparous Canchim and Holstein cows tended to decrease with age. Iron, sodium, and potassium values were not influenced by age or breed.

KEYWORDS: Newborn calves, serum electrolytes, serum minerals.

INTRODUÇÃO

Doenças dos recém-nascidos e mortalidade neonatal constituem as mais importantes causas de perda econômica na produção de bovinos. Muitas vezes, estes eventos são consequências de inadequada transferência de imunidade passiva da vaca para o bezerro por meio do colostro (MOHRI et al., 2007).

Intervalos de referência específicos para valores hematológicos e bioquímicos de animais jovens podem contribuir para diagnósticos mais precisos. Além disso, é necessário um correto entendimento dos eventos fisiológicos que ocorrem durante o período de adaptação à vida extra-uterina para a interpretação de sinais clínicos e exames laboratoriais, com o intuito de controlar e tratar apropriadamente eventos mórbidos e, em consequência, minimizar as perdas econômicas (ADAMS et al., 1992; MOHRI et al, 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar comparativamente os teores séricos de cálcio total, cálcio ionizado, fósforo, magnésio, ferro, sódio e potássio de bezerros mestiços Canchim-Nelore e da raça Holandesa, do nascimento aos 30 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sangue de 16 bezerros recém-nascidos sadios, oito deles oriundos do cruzamento das raças Canchim e Nelore, sendo quatro filhos de vacas primíparas (Grupo 1) e quatro de vacas pluríparas (Grupo 2), e oito da raça Holandesa, sendo quatro filhos de vacas primíparas (Grupo 3) e quatro de vacas pluríparas (Grupo 4). Durante a fase experimental, os bezerros Canchim-Nelore eram mantidos junto às mães em pastagens de *Brachiaria brizantha* CV Marandu, mamando à vontade. Os bezerros da raça Holandesa recebiam colostro materno logo após o nascimento e, em seguida, eram mantidos em bezerreiros onde recebiam leite *in natura*, em volume correspondente a 10% do peso corporal, fracionado em duas vezes ao dia.

Para realização dos exames bioquímicos séricos, amostras de sangue foram obtidas por venopunção jugular em quatro momentos: 12-24h após o nascimento (M1) e aos 7 (M2), 15 (M3) e 30 (M4) dias de idade. Foram determinadas as concentrações séricas de cálcio total (método de CPC), fósforo (método de Daly y Ertinghausen modificado), magnésio (método Labtest) e ferro (método de Goodwin modificado), utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (Labquest, Labtest, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste. Adicionalmente foram determinados os teores de cálcio ionizado, sódio e potássio, em analisador de íons (Roche, São Paulo, Brasil), pela técnica de íons seletivos.

Para a análise estatística utilizou-se um delineamento com parcelas subdivididas (*split-plot*) com medidas repetidas no tempo. As estatísticas F calculadas foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os contrastes entre pares de médias foram determinados pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores séricos de minerais e eletrólitos dos bezerros mestiços Canchim-Nelore e dos bezerros da raça Holandesa são apresentados a seguir, na forma de média e desvio padrão.

Nos bezerros dos Grupos 1, 2 e 3 não se constatou diferença significativa nos teores séricos de cálcio total entre os momentos, com variações de $10,2 \pm 0,9$ a $11,3 \pm 0,3$ mg/dL, $10,8 \pm 0,1$ a $11,5 \pm 0,3$ mg/dL e $8,21 \pm 1,0$ a $9,2 \pm 0,8$ mg/dL, respectivamente. Nos animais do Grupo 4 constatou-se diferença significativa entre os momentos, com decréscimo gradual dos teores séricos de cálcio total desde o nascimento ($11,2 \pm 2,1$ mg/dL) até aos 30 dias de vida ($8,75 \pm 0,9$ mg/dL). Notou-se diferença significativa entre os grupos, com menores valores no Grupo 3 ($9,36 \pm 1,8$ mg/dL no M1; $9,7 \pm 0,8$ mg/dL no M2; $9,2 \pm 0,8$ mg/dL no M3; e $8,21 \pm 1,0$ mg/dL no M4), em todo o período de estudo, e no Grupo 4 aos 15 e 30 dias de idade ($9,4 \pm 0,6$ mg/dL aos 15 dias e $8,75 \pm 0,9$ mg/dL aos 30 dias). Os maiores valores foram verificados em bezerros do Grupo 2, do nascimento aos 30 dias de idade ($10,8 \pm 0,1$ mg/dL, no M1, a $11,5 \pm 0,3$ mg/dL no M2).

No presente estudo, as concentrações séricas de cálcio total de bezerros dos Grupos 1 e 2 permaneceram nos limites de referência relatados para bovinos adultos (KANEKO et al., 2008), em todos os momentos. No Grupo 3 foram constatados valores inferiores ao descrito para animais adultos em todos os momentos, ocorrendo o mesmo no Grupo 4, aos 15 e 30 dias de idade. FAGLIARI et al. (1998) constataram teores séricos de cálcio total semelhantes em bezerros das raças Holandesa e Nelore, do nascimento aos 45 dias de idade. Por outro lado, MOHRI et al. (2007) relataram influência significativa da idade nos teores séricos deste mineral nos primeiros meses de vida em bezerros da raça Holandesa, com teores significativamente superiores às 24-48 horas de vida, em comparação com os demais momentos.

Os teores séricos de cálcio ionizado não diferiram entre os momentos, nos Grupos 1, 2 e 3, nos quais foram observados valores que variaram de $0,95 \pm 0,2$ a $1,00 \pm 0,2$ mmol/L, $1,11 \pm 0,1$ a $1,22 \pm 0,1$ mmol/L e $1,08 \pm 0,2$ a $1,26 \pm 0,2$ mmol/L, respectivamente. No entanto, no Grupo 4, notou-se tendência de decréscimo no decorrer do estudo, com valor máximo em M1 ($1,27 \pm 0,1$ mmol/L) e valores mínimos em M2 e M3 ($0,91 \pm 0,1$ mmol/L e $0,98 \pm 0,1$ mmol/L, respectivamente). Constatou-se diferença entre os grupos somente no M1, com valor máximo ($1,27 \pm 0,1$ mmol/L) no Grupo 4, valores intermediários nos Grupos 2 e 3 ($1,15 \pm 0,1$ mmol/L e $1,17 \pm 0,1$ mmol/L, respectivamente) e menor valor ($0,95 \pm 0,2$ mmol/L) no Grupo 1. A forma

ionizada, biologicamente ativa, corresponde a 50% do teor de cálcio sérico total em bovinos (RUSSEL & ROUSSEL, 2007).

Com relação à concentração sérica de fósforo, não foram constatadas diferenças entre os momentos nos Grupos 1, 2 e 3 e os valores oscilaram entre $7,26 \pm 0,9$ mg/dL e $9,69 \pm 0,6$ mg/dL. No Grupo 4 observou-se decréscimo no teor de fósforo do nascimento ($9,20 \pm 2,2$ mg/dL) aos 30 dias de vida ($7,14 \pm 0,2$ mg/dL), mesma tendência notada para o teor sérico de cálcio total. Não foi constatada diferença significativa entre os grupos. MOHRI et al. (2007) verificaram aumento significativo nos teores séricos de fósforo, com valores significativamente menores às 24-48 horas de vida, em relação aos demais momentos. No presente estudo observou-se tendência inversa no Grupo 4, no qual os valores obtidos às 24 horas de vida foram significativamente superiores aos dos demais momentos. Em todos os grupos e momentos os teores séricos de fósforo foram superiores ao intervalo de referência relatado para a espécie bovina (KANEKO et al., 2008). Segundo ROSOL & CAPEN (1997), a maior concentração sérica de fósforo em bezerros, em comparação com bovinos adultos, se deve à ação do hormônio do crescimento, que possui alta atividade em animais jovens e que aumenta a reabsorção renal de fosfato.

Os teores séricos de magnésio não diferiram entre os momentos somente em bezerros filhos de vacas pluríparas (Grupo 2 e Grupo 4). No Grupo 2 os valores obtidos variaram de $1,91 \pm 0,1$ a $2,33 \pm 0,2$ mg/dL e no Grupo 4 oscilaram entre $1,70 \pm 0,5$ mg/dL e $2,14 \pm 0,3$ mg/dL. Nos bezerros de vacas primíparas (Grupo 1 e Grupo 3) foram verificados valores estatisticamente superiores ao nascimento ($2,42 \pm 0,3$ mg/dL, no Grupo 1, e $2,11 \pm 0,2$ mg/dL, no Grupo 3) e valores inferiores aos 30 dias de vida ($1,94 \pm 0,1$ mg/dL, no Grupo 1, e $1,66 \pm 0,4$ mg/dL, no Grupo 3). FAGLIARI et al. (1998) não verificaram diferença significativa nos teores séricos de magnésio em bezerros da raça Nelore, do nascimento aos 45 dias de idade, enquanto em bezerros da raça Holandesa notou-se discreta variação nas concentrações deste elemento, no mesmo período.

Em animais jovens, EGLI & BLUM (1998) constataram teores séricos de cálcio mais elevados do que o valor de referência para a espécie bovina; entretanto, o mesmo não foi observado para os teores de fósforo e magnésio. RIZZOLI et al. (2006) verificaram que o fornecimento de colostro em mamadeira ou diretamente da vaca não influenciou a calcemia, a fosfatemia e a magneemia nos primeiros 30 dias de vida.

O teor sérico de ferro diferiu significativamente entre os momentos somente no Grupo 2, com valor inferior ao nascimento ($108 \pm 46,2$ µg/dL), sem haver, no entanto, diferença entre os momentos 2, 3 e 4 (318 ± 161 µg/dL; 285 ± 127 µg/dL e 313 ± 95 µg/dL,

respectivamente). Já entre os grupos, foram constatados valores inferiores nos Grupos 3 e 4 aos 7 dias de vida ($122 \pm 49,4 \mu\text{g/dL}$ e $115 \pm 20,9 \mu\text{g/dL}$ respectivamente), no Grupo 3 aos 15 dias ($109 \pm 30,1 \mu\text{g/dL}$) e no Grupo 1 aos 30 dias de idade ($140 \pm 37,4 \mu\text{g/dL}$). Os valores verificados no presente estudo situam-se nos limites de referência relatados para bovinos (KANEKO et al., 2008). MOHRI et al. (2007) observaram teores séricos de ferro significativamente inferiores entre 24 e 48 horas após o nascimento, quando comparados aos demais momentos. Segundo observações de RIZZOLI et al. (2006), bezerros que receberam colostro diretamente das vacas apresentaram teor sérico de ferro significativamente superior àquele de bezerros alimentados em mamadeira, a partir de 24 horas de vida.

A concentração sérica de sódio não diferiu significativamente entre os Grupos 1, 2 e 3, com teores que variaram de $137 \pm 1,8$ a $143 \pm 1,2 \text{ mmol/L}$. No Grupo 4, verificou-se valor significativamente inferior ao dos demais grupos aos 7 dias de vida ($129 \pm 10,9 \text{ mmol/L}$). Este valor também foi significativamente inferior àqueles encontrados em animais deste grupo, nos demais momentos. Os teores de potássio não diferiram significativamente entre os grupos ou entre os momentos, e variaram de $4,88 \pm 0,4$ a $5,75 \pm 0,8 \text{ mmol/L}$. À exceção do teor sérico de sódio dos animais do Grupo 4, aos 7 dias de vida, as concentrações séricas de sódio e potássio verificadas no presente estudo permaneceram na faixa de referência para a espécie bovina (KANEKO et al., 2008). MOHRI et al. (2007), analisando amostras de sangue de bezerros da raça Holandesa, do nascimento aos 84 dias de vida, também não verificaram influência significativa das idade nos teores séricos de sódio e potássio.

CONCLUSÃO

Os teores séricos de cálcio total e de fósforo em bezerros da raça Holandesa filhos de vacas pluríparas e de magnésio em bezerros filhos de vacas primíparas das raças Canchim e Holandesa diminuíram com o avançar da idade. As demais variáveis analisadas não foram influenciadas pela idade, nos primeiros 30 dias de vida dos bezerros.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de auxílio financeiro para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.; GARRY, F. B.; ALDRIDGE, B. M.; HOLLAND, M. D.; ODDE, K. G. Hematologic values in newborn beef calves. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 53, n. 6, p. 944-950, 1992.

EGLI, C. P.; BLUM, J. W. Clinical, haematological, metabolic and endocrine traits during the first three months of life of suckling Simmental calves held in a cow-calf operation. **Journal of Veterinary Medicine A**, Berlin, v. 45, p. 99–118, 1998.

FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*), e holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 253-262, 1998.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic Animals**, 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008, 916p.

MOHRI, M.; SHARIFI, K.; EIDI, S. Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. **Research in Veterinary Science**, London, v. 83, p. 30-39, 2007.

RIZZOLI, F. W.; FAGLIARI, J. J.; SILVA, D. G.; SILVA, S. L.; JORGE, R. L. N. Proteinograma e teores séricos de cálcio, fósforo, magnésio e ferro em bezerros recém-nascidos que mamaram colostro diretamente na vaca ou em mamadeira. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 198-202, 2006.

ROSOL, T. J.; CAPEN, C. C. Calcium regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.), **Clinical biochemistry of domestic animals**, 5.ed. San Diego: Academic Press, p. 619–702, 1997.

RUSSEL, K. E.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 23, p. 403–426, 2007.

ELETROFORETOGRAMA DAS PROTEÍNAS DO SORO LÁCTEO DE VACAS CANCHIM PRIMÍPARAS E PLURÍPARAS

Thaís Gomes Rocha¹, Camila Franciosi¹, Ricardo Perecin Nociti², Paulo César da Silva³,
Alexandre Amstalden Moraes Sampaio⁴, José Jurandir Fagliari⁵

1. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal – SP

4. Docente do Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

5. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil
E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVES: Bovino, proteínas do colostro, proteínas do leite, SDS-PAGE.

ABSTRACT

ELECTROPHORETOGRAM OF WHEY PROTEINS FROM PRIMIPAROUS AND PLURIPAROUS CANCHIM COWS

In order to determine whey protein concentrations in healthy primiparous and pluriparous Canchim cows, colostrum and milk samples were collected just after parturition and after 1, 7, 15, and 30 days of lactation. SDS-PAGE electrophoresis was applied. Levels of serum IgA, albumin, IgG, lactoglobulin, and lactalbumin were influenced by lactation number. A marked decrease in protein concentrations were also noted from colostrum to mature milk.

KEYWORDS: Bovine, colostrum proteins, milk protein, SDS-PAGE.

INTRODUÇÃO

As imunoglobulinas e outros fatores presentes no colostro conferem ao bezerro neonato a proteção imunológica necessária para a sobrevivência nos primeiros meses de vida (GEORGIEV, 2008). Além do papel imunológico, as proteínas e peptídeos do leite têm grande importância para a indústria de laticínios, em razão de seu valor tecnológico e nutricional. Aproximadamente 80% das proteínas do leite de vaca consistem de caseína, o restante são proteínas do soro lácteo, proteínas séricas, enzimas, além de outras proteínas e peptídeos em menor concentração (FARRELL et al., 2004).

Alguns fatores podem influenciar a concentração de proteínas e peptídeos no leite, sendo os mais importantes a raça, o estado de saúde, o estágio da lactação, o sistema de alimentação, as mudanças de estação do ano e a frequência e o sistema de ordenha (GOPAL & GILL, 2000).

A eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS) é uma técnica importante para a separação de proteínas do leite, pois permite a identificação de várias frações protéicas, bem como sua quantificação (PATEL et al., 2007).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar comparativamente a cinética das proteínas do soro lácteo de vacas sadias primíparas ou pluríparas da raça Canchim, no primeiro mês de lactação, e verificar a influência do número de partos na dinâmica das alterações que ocorrem nesta fase da lactação, em vacas de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados 50 mL de secreções lácteas de 22 vacas da raça Canchim, 11 primíparas (Grupo 1) e 11 pluríparas (Grupo 2), logo após o parto (M0) e com 1 (M1), 7 (M2), 15 (M3) e 30 (M4) dias de lactação. Para obtenção do soro lácteo foi empregada a técnica descrita por SANT'ANA & BIRGEL (2003).

O fracionamento protéico em SDS-PAGE foi realizado pela técnica proposta por LAEMMLI (1970). As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão); como referências foram utilizadas solução marcadora com diversos pesos moleculares e as proteínas purificadas lactoferrina, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina bovinas (Sigma, St. Louis, MO, USA).

Para o estudo estatístico empregou-se teste com parcelas subdivididas (*split-plot*) com medidas repetidas no tempo. As estatísticas F calculadas foram consideradas significativas quando $P < 0,05$, e os contrastes entre pares de médias foram comparados pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises são apresentados na forma de médias e desvios padrão.

Notou-se redução gradativa no teor de proteína total ao longo do estudo, não havendo diferença entre os grupos em nenhum momento. Valores superiores foram observados no M0 (14.183 ± 3.863 mg/dL, no Grupo 1, e 13.055 ± 3.589 mg/dL, no Grupo 2), teores intermediários foram verificados no M1 (4.963 ± 3.733 mg/dL e 3.234 ± 2.323 mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente) e valores inferiores no M4 (997 ± 162 mg/dL, no Grupo 1, e 1.065 ± 122 mg/dL, no Grupo 2).

O teor de imunoglobulina A diferiu entre os grupos no dia do parto (545 ± 262 mg/dL, no Grupo 1, e 782 ± 388 mg/dL, no Grupo 2); ademais, não foram constatadas diferenças entre os grupos. Valores intermediários foram observados no M1 ($140 \pm 83,1$ mg/dl e 197 ± 306 mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente) e valores inferiores no M4 ($4,86 \pm 11,0$ mg/dL, no Grupo 1, e $2,92 \pm 4,05$ mg/dL, no Grupo 2). KEHOE et al. (2007), empregando a técnica de imunodifusão radial, verificaram no colostro de vacas Holandesas, teores de IgA muito inferiores aos verificados no presente estudo (166 mg/dL), e atribuíram este resultado às características particulares do colostro e à técnica utilizada.

A concentração de lactoferrina não diferiu entre os grupos; valores superiores foram verificados no M0 (335 ± 145 mg/dL, no Grupo 1, e 360 ± 150 mg/dL, no Grupo 2), teores intermediários no M1 ($92,5 \pm 125$ mg/dl e $64,7 \pm 87,3$ mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente) e valores inferiores no M4 ($14,9 \pm 17,3$ mg/dL, no Grupo 1, e $10,3 \pm 4,76$ mg/dL, no Grupo 2).

O teor de lactoferrina colostrar obtido foi muito superior ao verificado por KEHOE et al. (2007) no colostro de vacas da raça Holandesa (82 ± 54 mg/dL). Não foi verificada diferença significativa entre os valores de vacas primíparas e pluríparas, corroborando com os achados de TSUJI et al. (1990).

Notou-se diferença significativa no teor de albumina no M0 entre os grupos, com valores superiores no Grupo 2 (321 ± 128 mg/dL) e inferiores no Grupo 1 ($227 \pm 85,9$ mg/dL). Nos demais momentos, não houve diferença entre os grupos e, observou-se redução na concentração desta proteína no decorrer do estudo. Valores intermediários foram observados no M1 ($76,6 \pm 92,3$ mg/dL, no Grupo 1, e $74,7 \pm 64,1$ mg/dL, no Grupo 2) e teores inferiores no M3 ($9,76 \pm 11,9$ mg/dL e $16,3 \pm 7,47$ mg/dL, nos Grupos 1 e 2, respectivamente). SANT'ANA (2004) constatou menor teor de albumina de origem plasmática no soro lácteo de vacas de segunda e terceira lactações, em comparação com aquele de vacas com uma e com quatro ou mais lactações.

A concentração de imunoglobulina G de cadeia pesada foi significativamente superior no M0 (3.416 ± 1.244 mg/dL e 3.740 ± 1.066 mg/dl, nos Grupos 1 e 2, respectivamente). Nos momentos subsequentes foram observados valores intermediários no M1 (842 ± 486 mg/dL, no Grupo 1, e 760 ± 810 mg/dL, no Grupo 2) e valores inferiores no M4 ($6,86 \pm 11,1$ mg/dL, no Grupo 1, e $12,9 \pm 10,2$ mg/dL, no Grupo 2).

O teor de IgG de cadeia leve foi superior e diferiu significativamente entre os grupos no M0 (4.222 ± 1.490 mg/dL, no Grupo 1, e 3.669 ± 1.237 mg/dL, no Grupo 2). Nos Grupos 1 e 2 notaram-se valores intermediários no M1 (867 ± 886 mg/dL e 507 ± 671 mg/dL,

respectivamente) e valores inferiores no M4 ($11,8 \pm 22,2$ mg/dL e $6,07 \pm 10,1$ mg/dL, respectivamente). As concentrações da maioria dos componentes do leite, especialmente das imunoglobulinas, são superiores nas primeiras porções do colostro, diminuindo rapidamente até atingirem valores mínimos no leite maduro (GEORGIEV, 2008).

Os teores de IgG verificados em ambos os grupos são muito inferiores aos constatados por SOARES FILHO et al. (2001) no colostro de vacas mestiças holandesa-zebu, enquanto KEHOE et al., (2007) verificaram concentração de 3.490 ± 1.220 mg de IgG₁/dL no colostro de vacas da raça Holandesa, teor inferior ao observado no presente estudo. Em razão do maior vigor ao nascimento dos bezerros e do maior teor de imunoglobulinas no colostro de vacas de corte, a ingestão de menores volumes de colostro possibilita o fornecimento de quantidade adequada de imunoglobulinas requeridas para a transferência de imunidade passiva (SOARES FILHO et al., 1991).

A concentração de β -lactoglobulina foi superior no M0 (5.081 ± 2.535 mg/dL, no Grupo 1, e 3.643 ± 1.096 mg/dL, no Grupo 2) e M1 (2.626 ± 2.708 mg/dL, no Grupo 1, e 1.300 ± 363 mg/dL, no Grupo 2), diferindo significativamente entre os grupos; ademais, não se constatou diferença entre vacas primíparas e pluríparas. Nas vacas do Grupo 1 foram observados valores intermediários no M1 (2.626 ± 2.708 mg/dL) e valores inferiores no M4 (713 ± 238 mg/dL). No Grupo 2 não foi verificada diferença significativa entre os momentos a partir do M1; os teores desta proteína variaram de 1.300 ± 363 mg/dL (M1) a $796 \pm 98,2$ mg/dL (M4). SANT'ANA (2004) verificou maiores concentrações de β -lactoglobulina no soro lácteo de vacas de primeira a terceira crias, quando comparadas às vacas com quatro ou mais lactações.

Os teores de α -lactoalbumina diferiram significativamente entre os grupos no M0 ($146 \pm 71,0$ mg/dL e $266 \pm 75,1$ mg/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente), no M3 ($145 \pm 44,1$ mg/dL, no Grupo 1, e $215 \pm 32,7$ mg/dL, no Grupo 2) e no M4 ($119 \pm 48,5$ mg/dL e $181 \pm 56,6$ mg/dL nos Grupos 1 e 2, respectivamente). Notaram-se diferenças significativas entre os momentos em ambos os grupos. No Grupo 1, o maior valor foi observado no M1 (247 ± 129 mg/dL); nos demais momentos os teores variaram de $119 \pm 48,5$ mg/dL (M4) a $168 \pm 49,4$ (M2). No Grupo 2, foram verificados maiores valores no M1 ($277 \pm 53,2$ mg/dL), valores intermediários no M2 ($225 \pm 40,3$ mg/dL) e no M3 ($215 \pm 32,7$ mg/dL) e menor valor no M4 ($181 \pm 56,6$ mg/dL). A α -lactoalbumina constitui importante fonte protéica para o neonato e regula a produção de lactose no leite. A redução no seu teor próximo ao final da lactação já foi relatada (FARRELL et al., 2004). Diferente dos achados do presente estudo, SANT'ANA

(2004) verificou maiores concentrações de α -lactoalbumina em vacas primíparas, quando comparadas àquelas de vacas de segunda ou terceira lactações.

CONCLUSÃO

O número de parições influenciou significativamente os teores de IgA, albumina de origem plasmática, IgG, β -lactoglobulina e de α -lactoalbumina. Foram constatadas alterações marcantes entre as concentrações destas proteínas no colostro e no leite maduro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP, pela concessão de auxílio para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

FARRELL JR., H. M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G. T.; BROWN, E. M.; BUTLER, J. E.; CREAMER, L. K.; HICKS, C. L.; HOLLAR, C. M.; NG-KWAI-HANG, K. F.; SWAISGOOD, H. E. Nomenclature of the proteins of cows' milk—Sixth revision. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 1641–1674, 2004.

GOPAL, P. K.; GILL, H. S. Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 84, p. 69-74, 2000.

GEORGIEV, I. P. Differences in chemical composition between cow colostrum and milk. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, Stara Zagora, v. 11, n. 1, p. 3-12, 2008.

KEHOE, S. I.; JAYARAO, B. M.; HEINRICHS, A. J. A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 4108-4116, 2007.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

PATEL, H. A., ANEMA, S. G., HOLROYD, S. E., SINGH, H., CREAMER, L. K. Methods to determine denaturation and aggregation of proteins in low-, medium- and high-heat skim milk powders. **Lait**, Les Ulis, v. 87, p. 251–268, 2007.

SANT'ANA, V. A. C. **Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade**. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004. 161p.

SANT'ANA, V. A. C.; BIRGEL, E. H. Obtenção de soro lácteo para fracionamento das proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 9. 2003, Salvador. **Anais...**, Salvador, Bahia, Brasil – 2-5 de setembro de 2003.

SOARES FILHO, P. M.; BELÉM, P. A. D.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; SALCEDO, J. H. P. Concentrações de imunoglobulinas g em colostro de vacas mestiças Holandês-zebu. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1033-1037, 2001.

TSUJI, S.; HIRATA, Y.; MUKAI, F. Comparison of different cattle lactoferrin content in colostrum between breeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 125-128, 1990.

TEORES SÉRICOS DE PROTEÍNA TOTAL, Ig A E Ig G, OBTIDOS POR ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA, EM BEZERROS MISTIÇOS CANCHIM-NELORE, DO NASCIMENTO AOS 30 DIAS DE IDADE

Thaís Gomes Rocha¹, Camila Franciosi¹, Ricardo Perecin Nociti², Paulo César da Silva³, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio⁴; José Jurandir Fagliari⁵

1. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal – SP

4. Docente do departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal

5. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D.

Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil

E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVES: Anticorpos, bovino neonato, proteinograma em SDS-PAGE.

ABSTRACT

SERUM LEVELS OF TOTAL PROTEIN, IgA AND IgG, DETERMINED BY POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS, IN CROSSBRED CANCHIM-NELORE CALVES FROM BIRTH TO 30 DAYS OF AGE

Serum levels of total protein, immunoglobulin A (IgA), and immunoglobulin G (IgG) – determined by polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) – were investigated in newborn calves from primiparous and pluriparous cows, before colostrum ingestion and with 1, 2, 7, 15, and 30 days of age. Serum levels of total protein were influenced by the cows' number of parturitions and were greater in calves from pluriparous cows. Immunoglobulin concentrations revealed a marked increase after the ingestion of colostrum and a decreasing tendency was verified in IgG levels from 24 hours of life to 30 days of age.

KEYWORDS: Antibodies, newborn bovine, proteinogram, SDS-PAGE.

INTRODUÇÃO

Os ruminantes recém-nascidos são incapazes de iniciar uma resposta imune eficiente em virtude da imaturidade dos mecanismos protetores e da demora em propiciar imunidade humoral e celular. A menos que ocorra assistência imunológica materna adequada provida pelas imunoglobulinas e outros fatores presentes no colostro, os neonatos têm grande chance

de sucumbir a infecções que seriam inócuas a animais adultos (BARRINGTON & PARISH, 2001).

O metabolismo e a concentração de proteínas séricas de animais recém-nascidos podem ser influenciados por diversos fatores. Ao nascimento, os bezerros apresentam baixo teor protéico que, após a ingestão do colostro e absorção intestinal de macromoléculas, aumentam de modo significativo, principalmente em razão da elevação no teor de globulinas (LEAL et al., 2003). Segundo FEITOSA et al. (1999), novilhas com aptidão leiteira produzem colostro com menor concentração de imunoglobulinas, em comparação às vacas com maior número de lactações. Já as fêmeas bovinas com aptidão para corte produzem colostro com maior teor de imunoglobulinas, sendo incomum a influência do número de lactações na transferência de imunidade passiva a suas crias (COSTA et al., 2008).

Dentre os testes utilizados para verificar a transferência de imunidade passiva, a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) apresenta vantagens por permitir a identificação e a quantificação de IgG, considerada a mais importante na imunização passiva de bezerros, o que permite orientar o manejo de animais hipogamaglobulinêmicos (FAGLIARI et al., 2006).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os teores de proteína total, IgA e IgG mediante fracionamento eletroforético do soro sanguíneo de bezerros neonatos mestiços Canchim-Nelore sadios, antes da ingestão do colostro e 1, 2, 7, 15 e 30 dias após o nascimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sangue de 10 bezerros Canchim-Nelore recém-nascidos sadios, sendo cinco filhos de vacas primíparas (Grupo 1) e cinco de vacas pluríparas (Grupo 2). Durante a fase experimental os bezerros eram mantidos junto às mães em pastagens de *Brachiaria brizantha* CV Marandu, mamando à vontade.

Amostras de 10mL de sangue foram obtidas por venopunção jugular em tubos de plástico siliconizados (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA) a vácuo, sem anticoagulante, em seis momentos: antes da ingestão do colostro (M1) e 1 (M2), 2 (M3), 7 (M4), 15 (M5) e 30 (M6) dias após o nascimento.

O teor sérico de proteína total foi determinado pelo método do biureto utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com leituras das amostras em espectrofotômetro semi-automático (Labquest, Labtest,

Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com luz de comprimento de onda apropriado para o teste.

Para o fracionamento das proteínas em SDS-PAGE foi utilizada a técnica proposta por LAEMMLI (1970). As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão) e como referência foi utilizada solução marcadora (Sigma, St Louis, MO, USA) com diferentes pesos moleculares, além da proteína purificada IgG bovina (Sigma, St. Louis, MO, USA).

Para a análise estatística utilizou-se um delineamento com parcelas subdivididas (*split-plot*) com medidas repetidas no tempo. As estatísticas F calculadas foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os contrastes entre pares de médias foram determinados pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo serão apresentados a seguir, na forma de média e desvio padrão.

O teor sérico de proteína total não diferiu significativamente entre os Grupos 1 e 2 antes da ingestão do colostro, apresentando valores de $3,98 \pm 0,37$ g/dL e $4,30 \pm 0,19$ g/dL, respectivamente. Observou-se aumento significativo na concentração de proteína total após a ingestão do colostro em ambos os grupos, no entanto, nos bezerros do Grupo 1 a concentração de proteína total no M2 ($7,1 \pm 0,31$ g/dL) foi significativamente inferior à do Grupo 2 ($8,2 \pm 0,57$ g/dL). Do segundo ao sétimo dias de vida, o teor de proteína total foi significativamente inferior nos bezerros do Grupo 1, apresentando valores de $7,1 \pm 0,51$ g/dL e $6,8 \pm 0,50$ g/dL em M3 e M4, respectivamente. Aos 15 e 30 dias de vida não foi observada diferença entre os grupos. Com relação aos momentos, foi observado valor inferior no teor de proteína total no M1 em ambos os grupos. Após a ingestão de colostro, verificou-se o valor máximo na concentração de proteína total, que decresceu gradualmente até os 30 dias de vida nos dois grupos, apresentando teores de $6,1 \pm 0,29$ g/dL no Grupo 1 e $6,3 \pm 0,32$ g/dL no Grupo 2 neste momento.

O teor máximo de proteína total no presente estudo foi às 24 horas de vida, diferindo do relatado por FAGLIARI et al. (1988) em bezerros da raça Guzerá, e por LEAL et al. (2003) em bezerros da raça Holandesa, que observaram valores máximos de proteína total entre dois e quatro dias após o nascimento. Já o comportamento do teor de proteínas totais até os 30 dias de idade assemelhou-se ao observado por DANIELE et al. (1994), apresentando tendência de decréscimo até os 30 dias de vida em virtude do catabolismo das globulinas

passivamente adquiridas. COSTA et al. (2008) em estudo sobre a transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin, não observaram influência do número de parições das vacas sobre a concentração sérica de proteína total do bezerro ao término do primeiro dia de vida, o que diferiu dos resultados encontrados no presente estudo. Entretanto, a diferença aqui verificada não decorreu da ocorrência de falha na transferência de imunidade passiva.

Com relação à concentração sérica de imunoglobulina A, não foi observada diferença significativa entre os Grupos 1 e 2, e os valores encontrados variaram de $79,9 \pm 18,6$ a 360 ± 199 mg/dL no Grupo 1 e de $79,1 \pm 11,6$ a $408 \pm 83,8$ mg/dL no Grupo 2. Verificou-se aumento significativo nos teores de IgA em ambos os grupos após a ingestão de colostro, e estes valores mantiveram-se estatisticamente superiores aos encontrados antes da ingestão de colostro até os 30 dias de idade, quando foram verificadas concentrações de 293 ± 122 mg/dL para o Grupo 1 e de $355 \pm 68,9$ mg/dL para o Grupo 2. FAGLIARI et al. (2006), observando a existência de três diferentes padrões de proteinograma em bezerros da raça Holandesa às 48 horas de vida, relataram teores de IgA semelhantes aos verificados no presente estudo em dois dos três padrões encontrados.

O teor sérico de imunoglobulina G (IgG) de cadeia pesada não diferiu entre os grupos no período em estudo. No entanto, entre os momentos, verificou-se valores significativamente inferiores no M1 para os Grupos 1 e 2 (570 ± 142 mg/dL e 495 ± 284 mg/dL, respectivamente). O maior aumento foi observado após a ingestão do colostro, quando os teores desta proteína chegaram a seus valores máximos (1.981 ± 144 mg/dL no Grupo 1 e 2.269 ± 336 mg/dL no Grupo 2). Nos momentos subseqüentes, os teores desta proteína decresceram gradativamente, chegando às concentrações de $623 \pm 29,2$ mg/dL no Grupo 1 e de $784 \pm 80,6$ mg/dL no Grupo 2 aos 30 dias de vida. Comportamento semelhante foi observado para a IgG de cadeia leve, cujos valores mínimos foram constatados antes ($3,37 \pm 3,85$ mg/dL e $15,8 \pm 13,0$ mg/dL para os Grupos 1 e 2, respectivamente), e valores máximos após a ingestão do colostro (969 ± 167 mg/dL para o Grupo 1 e 939 ± 817 mg/dL para o Grupo 2). Seus teores então decresceram gradativamente, chegando a $303 \pm 44,5$ mg/dL no Grupo 1 e a 404 ± 143 mg/dL no Grupo 2 aos 30 dias de vida. Também não foi observada diferença entre os Grupos para as concentrações desta proteína.

No decorrer do estudo, verificou-se comportamento semelhante entre os teores de proteínas totais e imunoglobulina G de cadeias pesada e leve, com aumento em seus teores séricos após a ingestão de colostro, seguida por tendência de decréscimo até os 30 dias de idade. O mesmo foi verificado por outros pesquisadores (BORGES et al., 2001; PAULETTI

et al., 2003). COSTA et al. (2008) também observou que as maiores concentrações de gamaglobulinas ocorreram no período entre 24 e 36 horas de vida em virtude da absorção de imunoglobulinas colostrais.

CONCLUSÃO

Somente o teor sérico de proteína total foi significativamente influenciado pelo número de parições das vacas da raça Canchim, sendo superior em bezerros filhos de vacas pluríparas, em comparação com aquele verificado em bezerros de vacas primíparas. Os demais parâmetros avaliados foram influenciados pela ingestão de colostro, ocorrendo aumento marcante nos seus teores séricos, em ambos os grupos, e decréscimo gradual de suas concentrações até o trigésimo dia de vida.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de auxílio financeiro para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

BARRINGTON, G. M.; PARISH, S. M. Bovine neonatal immunology. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 17, n. 3, p. 463-476, 2001.

BORGES, A.S.; FEITOSA, F.L.F.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; MENDES, L.C.N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 5, p. 629-634, 2001.

COSTA, M.C.; FLAIBAN, K.K.M.C.; CONEGLIAN, M.M.; FEITOSA, F.L.F.; BALARIN, M.R.S.; LISBÔA, J.A.N. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 9, p. 410-416, 2008.

DANIELE, C.; MACHADO NETO, R. BARACAT, R.S.; BESSI, R. Efeito de diferentes manejos de fornecimento de colostro sobre os níveis séricos de proteína e de albumina séricas

e desempenho de bezerras recém-nascidas. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 51, n. 2, p. 381-388, 1994.

FAGLIARI, J. J.; OKUDA, H. T.; PASSIPIERI, M. Valores padrões das proteínas séricas de bovinos da raça Guzerá II. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 4, n. 2, p. 225-232, 1988.

FAGLIARI, J. J.; RIZZOLLI, F. W.; SILVA, D. G. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 6, p. 1-4, 2006.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MENDES, L. C. M.; PERRI, S. H. V. Relação entre a concentração de imunoglobulinas colostrais e a transferência de imunidade passiva para bezerros da raça Holandesa após ingestão voluntária de colostro. **Ciência Veterinária Tropical**, v.2, n.3, p. 160-168, 1999.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

LEAL, M. L. R.; BENESI, F. J.; LISBÔA, J. A. N.; COELHO, C. S.; MIRANDOLA, R. M.S. Proteinograma sérico de bezerras sadias, da raça holandesa, no primeiro mês pós-nascimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 138-145, 2003.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I. U.; D'ARCE, R. D.; BESSI, R. Quality of colostral passive immunity and pattern of serum protein fluctuation in newborn calves. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 453-456, 2003.

**TEORES DE MINERAIS E ATIVIDADE DA ENZIMA
GAMAGLUTAMILTRANSFERASE NO SORO COLOSTRAL DE VACAS DAS
RAÇAS CANCHIM E HOLANDESA E INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE
LACTAÇÕES**

Camila Franciosi¹, Thaís Gomes Rocha¹, Pablo Puertas Ernandes², Cláudia Aparecida da
Silva Nogueira,³ José Carlos Barbosa⁴, José Jurandir Fagliari⁵.

¹Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal-SP

²Médico Veterinário autônomo

³Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de
Jaboticabal-SP

⁴Docente do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP

⁵Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP
Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP.

E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVES: bovinos, leite, pluríparas, primíparas.

ABSTRACT

**MINERAL LEVELS AND GAMA-GLUTAMYL TRANSFERASE ACTIVITY IN
COLOSTRAL WHEY OF CANCHIM AND HOLSTEIN COWS AND INFLUENCE
OF NUMBER OF LACTATIONS**

This study determines mineral levels and gama-glutamyl transferase activity of 20 Holstein cows and 20 Canchim cows, of which 10 were primiparous and 10 were pluriparous for each breed. Phosphorus and magnesium concentrations as well as gama-glutamyl transferase in colostrum whey from Canchim cows revealed some differences when compared with those of Holstein cows. Magnesium concentrations in colostrum also differed in primiparous and pluriparous Holstein cows.

KEYWORDS: cattle, milk, pluriparous, primiparous.

INTRODUÇÃO

O colostro contém nutrientes e substâncias biologicamente ativas essenciais à nutrição e saúde do bezerro. Relata-se que as concentrações de minerais, como cálcio, fósforo, magnésio e ferro, são altas logo após a parição e diminuem no pós-parto (FOLEY &

OTTERBY, 1978; HORST, 1986; SHAPPELL et al., 1987). O colostro de vacas contém mais de 40 enzimas (SWAISGOOD, 1995). Uma delas, a gama glutamiltransferase, tem sido particularmente estudada por ser considerada indicador da absorção do colostro no trato gastrointestinal (PERINO et al., 1993; BAUMRUCKER et al., 1994; HADORN & BLUM, 1997).

O fluxo sanguíneo e a utilização de nutrientes na glândula mamária influenciam a produção e composição do colostro (FOLEY & OTTERBY, 1978). KUME & TANABE (1993) relataram a influência do número de lactações nas concentrações de cálcio, fósforo e magnésio no colostro de vacas da raça Holandesa. SOARES FILHO et al. (2001) notaram menor concentração de imunoglobulinas no colostro de vacas holandesas quando comparada àquela do colostro de vacas de outras raças. Estudo realizado por TSUJI et al. (1990) indica que a concentração de lactoferrina no colostro bovino variou de acordo com a aptidão e com o número de lactações, sendo maior em raças de leite que em raças de corte.

O objetivo deste estudo foi comparar as concentrações de minerais e a atividade da enzima gama glutamiltransferase do colostro de vacas de raças com aptidão para corte (Canchim) com aquelas de raças de aptidão leiteira (Holandesa), bem como verificar a influência do número de lactações nas concentrações desses minerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 40 amostras de colostro bovino, até 12 horas após o parto, sendo 20 delas obtidas de vacas da raça Holandesa (10 primíparas e 10 pluríparas) e 20 de vacas da raça Canchim (10 primíparas e 10 pluríparas). Em seguida, foi adicionado coalho (Estrela®) às amostras para obtenção do soro lácteo, conforme descrito por SANT'ANA et al. (2005) e BAROZA (2007). A partir destas amostras foram determinadas as concentrações de ferro (método de Goodwin modificado), cálcio total (método Labtest), fósforo (método de Basques-Lustosa) e magnésio (método de Tonks) e a atividade da enzima gamaglutamiltransferase (método de Szasz modificado), utilizando-se conjuntos de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte-MG). As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro (Labquest, Labtest, Belo Horizonte-MG), com luz de comprimento de onda apropriado para cada teste.

Para as análises estatísticas utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado. As estatísticas F calculadas foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. O contraste entre pares de médias foi determinado pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de minerais e a atividade da enzima gama glutamiltransferase (GGT) do colostro são apresentadas a seguir, na forma de média e desvio-padrão.

A concentração de ferro do colostro de vacas da raça Canchim primíparas e pluríparas foram, respectivamente, $17,3 \pm 8,80$ $\mu\text{g/dL}$ e $14,4 \pm 6,88$ $\mu\text{g/dL}$. No colostro de vacas da raça Holandesa estes valores foram $24,4 \pm 14,7$ $\mu\text{g/dL}$ e $22,4 \pm 11,1$ $\mu\text{g/dL}$. Não se constatou diferença significativa quanto ao número de lactações, tampouco quanto à aptidão, para carne ou leite. Contudo, o colostro de vacas holandesas apresentou teor ligeiramente maior deste mineral, em comparação àquele do colostro das vacas da raça Canchim. KUME & TANABE (1993), analisando a concentração de minerais no colostro de vacas da raça Holandesa, não verificaram diferença significativa entre os teores de ferro de vacas primíparas e pluríparas.

Os teores de cálcio total no colostro de vacas da raça Canchim primíparas e pluríparas foram $52,9 \pm 7,71$ mg/dL e $59,4 \pm 13,3$ mg/dL , respectivamente. No colostro de vacas holandesas estes valores foram $53,1 \pm 7,75$ mg/dL , em primíparas, e $60,0 \pm 14,4$ mg/dL , em pluríparas. Não se constatou diferença significativa entre as raças e entre o número de lactações, diferentemente dos achados de KUME & TANABE (1993), que verificaram concentrações maiores de cálcio total no colostro de vacas primíparas quando comparadas a de vacas pluríparas da raça Holandesa.

O colostro de vacas primíparas da raça Canchim continha concentração de fósforo ($40,4 \pm 8,64$ mg/dL) significativamente maior ($P < 0,05$), em comparação com aquela de vacas primíparas da raça Holandesa ($31,6 \pm 4,12$ mg/dL). Porém, não houve diferença significativa na concentração colostrual de fósforo entre as vacas pluríparas da raça Canchim e as vacas pluríparas da raça Holandesa ($36,9 \pm 4,41$ mg/dL ; $31,9 \pm 9,57$ mg/dL , respectivamente). Não foi encontrado na literatura pesquisada estudo algum comparando as concentrações desses minerais entre raças com diferentes aptidões.

As concentrações de magnésio no colostro de vacas primíparas e pluríparas da raça Canchim foram $17,8 \pm 3,44$ mg/dL e $16,3 \pm 1,87$ mg/dL , respectivamente. No colostro de vacas primíparas da raça Holandesa notou-se concentração de $16,9 \pm 5,39$ mg de magnésio/dL; no colostro de vacas pluríparas dessa raça este valor foi $24,6 \pm 13,0$ mg/dL . As vacas primíparas da raça Holandesa apresentaram concentração de magnésio no colostro significativamente menor, em comparação àquele de vacas pluríparas desta raça, diferindo dos achados de

KUME & TANABE (1993). Vacas pluríparas da raça Canchim apresentaram teor colostrar de magnésio menor ($P<0,05$) do que as vacas holandesas pluríparas.

As concentrações de minerais verificadas no colostro das vacas utilizadas no presente estudo concordam com aquelas relatadas por BAROZA (2007), com exceção do teor de ferro, que foi menor do que o citado pela autora.

A atividade da enzima gama glutamiltransferase foi significativamente maior em vacas primíparas da raça Canchim (43.676 ± 23.852 U/L), quando comparada àquela de vacas primíparas da raça Holandesa (29.822 ± 8.817 U/L). Não se constatou diferença significativa entre os valores obtidos em colostro de vacas primíparas e pluríparas das duas raças estudadas. Segundo ZANKER et al. (2001), a atividade sérica desta enzima é muito alta no colostro logo após o parto e decresce gradativamente com o passar dos dias, porém a importância fisiológica da sua absorção pelo neonato, não foi esclarecida até o momento.

CONCLUSÃO

As concentrações de fósforo e magnésio e a atividade da enzima gama glutamiltransferase no colostro de vacas da raça Canchim foram significativamente maiores quando comparadas à do colostro de vacas da raça Holandesa, e a concentração de magnésio foi menor no colostro de vacas primíparas da raça Holandesa, quando comparadas com o colostro de vacas pluríparas da mesma raça, porém outros estudos são necessários para esclarecer estas diferenças.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de auxílio financeiro para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

BAROZA, P. F. J. **Proteínas, enzimas e minerais na secreção láctea de cabras e vacas, nos primeiros 30 dias pós-parto, congelada ou não.** Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP/Campus de Jaboticabal. 2007. 74p.

BAUMRUCKER, C. R.; GREEN, M. H.; BLUM, J. W. Effects of dietary rhIGF-I in neonatal calves on the appearance of glucose, insulin, d-xylose, globulins and γ -

glutamyltransferase in blood. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 11, p. 393-403, 1994.

FOLEY, J. A.; OTTERBY, D. E. Availability, storage, treatment, compositions, and feeding value of surplus colostrums: a review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 61, n. 8, p. 1033-1060, 1978.

HADORN, U.; BLUM, J. W. Effects of colostrum, glucose or water on the first day of life on plasma immunoglobulin G concentrations and c-glutamyltransferase activities in calves. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 44, p. 531-537, 1997.

HORST, R. L. Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 2, p. 604-616, 1986.

KUME, S.; TANABE, S. Effect of parity on colostrum mineral concentrations of Holstein cows and value of colostrums as a mineral source for newborn calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 6, p. 1654-1660, 1993.

PERINO, L. J.; SUTHERLAND, R. L.; WOOLLEN, N. E. Serum γ -glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin G. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 54, p. 56-59, 1993.

SANT'ANA, V. A. C. **Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade**. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Universidade de São Paulo. 2004. 161f.

SHAPPELL, N. W.; HERBEIN, J. H.; DEFTOS, L. J.; AIELLO, R. J. Effects of dietary calcium and age on parathyroid hormone, calcitonin and serum and milk minerals in the periparturient dairy cow. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 117, p. 201-207, 1987.

SOARES FILHO, P. M. Concentrações de imunoglobulinas G em colostro de vacas mestiças holandês-zebu. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1033-1037, 2001.

SWAISGOOD, H. E. Enzymes indigenous to bovine milk. In: JENSCER, R. G. (ed.), **Handbook of milk composition**, New York: Academic Press, p. 472-476, 1995.

TSUJI, S. et al. Comparison of different cattle lactoferrin content in colostrum between breeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 1, p. 125-128, 1990.

ZANKER, I. A.; HAMMON, H. M.; BLUM, J. W. Activities of γ -glutamyltransferase, alkaline phosphatase and aspartate-aminotransferase in colostrum, milk and blood plasma of calves fed first colostrum at 0-2, 6-7, 12-13 and 24-25 h after birth. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 48, p. 179-185, 2001.

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE GAMAGLOBULINA E IgG EM BEZERROS DAS RAÇAS NELORE E HOLANDESA DO NASCIMENTO AOS SEIS MESES DE VIDA

Evandro Doine Vettorato¹, Karina Keller Marques da Costa Flaiban², Márcio Carvalho da Costa³, Mara Regina Stipp Balarin⁴, Odilon Vidotto⁴, Julio Augusto Naylor Lisboa⁵

1. Médico Veterinário, Residente de Patologia Clínica, Universidade Estadual de Londrina

2. Médico Veterinário, mestre, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina

3. Médico Veterinário, mestre em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina

4. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina

5. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Clínicas Veterinárias (DCV), Universidade Estadual de Londrina (UEL) - E-mail: janlisboa@uel.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Imunidade ativa, imunoglobulinas, transferência de imunidade passiva.

ABSTRACT

SERUM GAMMA-GLOBULIN AND IgG LEVELS OF NELORE AND HOLSTEIN CALVES FROM BIRTH TO SIX MONTHS OF AGE

Concentrations of serum gamma-globulin and IgG of Nelore and Holstein calves were determined from birth to six months of age in order to compare the passive immunity transfer and the active production of antibodies. Healthy Nelore (n=30) and Holstein (n=20) calves were reared under extensive and intensive management, respectively. The passive transfer of immunity was successful in both breeds. Gamma-globulin levels were higher at the end of the first day of life in Holstein calves, and decreased until the 30th and 60th day in Nelore calves. After this period, the increase due to active production of antibodies was higher and precocious in taurine calves (60 days old) and slower in Zebu calves (90 days old). These differences indicate physiological breed-specific particularities and did not have any effect on calf health.

KEYWORDS: Active immunity, immunoglobulins, neonates, passive transfer of immunity.

INTRODUÇÃO

A falha na transferência de imunidade passiva (TIP) é uma das principais causas de morte de bovinos neonatos (FEITOSA et al., 2001). No gado leiteiro, cerca de 75% dos óbitos em

bezerros ocorrem durante o primeiro mês de vida (RADOSTITS et al., 1994). A absorção intestinal de imunoglobulinas apresenta maior eficiência nas primeiras 12 horas de vida, de modo que um grande intervalo de tempo entre o nascimento e a primeira mamada de colostro resulta em prejuízos na absorção de anticorpos.

A maior parte dos estudos sobre a imunidade no recém-nascido envolveu bezerros de raças leiteiras (COSTA, 2000; FEITOSA et al., 2001). Há menos relatos em bezerros de raças de corte (AMORIM, 2002) e poucos estudos comparando taurinos e zebuínos (MACHADO NETO et al., 2004; COSTA et al., 2008). Os padrões das curvas de gamaglobulinas séricas estabelecidas em bezerros Holandeses e em Nelore nos primeiros meses de vida demonstram que a raça européia aparentemente pode possuir maior precocidade no desenvolvimento da imunidade ativa.

As diferenças raciais podem ser de ordem fisiológica ou influenciadas pelo manejo. Os bezerros leiteiros normalmente são mantidos em sistema de manejo intensivo, com maior exposição aos agentes microbianos. Isso gera graus de desafio muito distintos dos bezerros de corte manejados sob condições naturais extensivas (WITTUM & PERINO, 1995). O objetivo deste estudo foi avaliar a variação das concentrações séricas de gamaglobulinas e de IgG em bezerros das raças Nelore e Holandesa no período do nascimento aos seis meses de vida e estabelecer comparações entre as raças.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados aleatoriamente 50 bezerros aparentemente sadios e frutos de partos eutócicos, sendo 30 da raça Nelore e 20 da raça Holandesa. Os bezerros da raça Nelore pertenciam a uma única propriedade que adotava boas práticas de manejo nutricional e sanitário. Os animais eram manejados extensivamente e recebiam suplementação mineral à vontade. Os bezerros eram mantidos em contato permanente com as suas mães desde o nascimento e realizavam mamada natural do colostro. A desmama somente ocorria com 7 a 8 meses de idade. Os bovinos eram observados duas vezes por dia para identificação da manifestação de doenças ou outras ocorrências.

Os bezerros da raça Holandesa pertenciam a duas granjas produtoras de leite que igualmente adotavam padrão adequado de manejo nutricional e sanitário. Foram incluídos no estudo 10 bezerros de cada uma das granjas. Na primeira propriedade, os bezerros recém-

nascidos permaneciam com as suas mães por três a seis horas, e posteriormente eram separados e levados a um bezerreiro coletivo. Se dentro de uma hora após o nascimento não ocorresse a ingestão voluntária do colostro, realizava-se a administração do mesmo por meio de mamadeira (dois litros para um bezerro com peso em torno de 40kg), obtido por ordenha da própria vaca ou, se necessário, de um banco de colostro mantido na propriedade. Na segunda granja os bezerros permaneciam separados das vacas desde o nascimento. A ingestão do colostro era obrigatoriamente artificial com administração em mamadeira de dois litros do colostro fresco, obtido por ordenha da própria mãe. Os bezerros permaneciam em gaiolas individuais de madeira no interior de um barracão coberto. Durante a fase de lactentes, os bezerros das duas granjas eram alimentados com leite natural duas vezes por dia e recebiam suplementação com ração comercial, feno e sal mineral à vontade. Aos 60 dias de idade eram desmamados e transferidos para pequenos piquetes com acesso ao pasto, mantendo-se a suplementação com ração comercial, feno e sal mineral.

Amostras de sangue foram obtidas por venopunção da jugular externa com uso de agulhas 25x0,7 mm (PrecisionGlide, BD) para colheita em frasco a vácuo de 10ml sem anticoagulante (Vacuum II, Labnew). As colheitas foram realizadas seqüencialmente nas seguintes idades: 24-36 horas de vida, 15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias de vida. O soro foi obtido por centrifugação após a retração do coágulo e conservado por congelamento a 20°C negativos até o momento das análises.

A concentração da proteína total foi determinada pelo método do biureto utilizando-se reagentes comerciais. A concentração de gamaglobulina foi determinada por eletroforese, empregando-se gel de agarose comercial (Sistema SE-250, CELM). A concentração sérica de imunoglobulinas G (IgG) foi estimada pela técnica de turvação pelo sulfato de zinco. Adicionou-se 0,1 mL de soro a 6 mL de uma solução contendo 208 mg de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ por litro de água destilada. Após uma hora em repouso, a absorbância da mistura foi mensurada por espectrofotometria (E225-D, CELM) em comprimento de onda de 620 nm. A quantidade de IgG foi estimada com o uso de uma curva padrão previamente traçada com concentrações conhecidas de IgG bovina (Single Radial Immunodiffusion Kit; VRMD, EUA), a saber: zero (soro fetal bovino), 400, 800, 1600 e 3200 mg/dL.

Os efeitos da raça, da faixa etária e a interação entre os dois fatores foram testados por meio de análise de variância de medidas repetidas bifatorial, admitindo-se uma probabilidade de erro de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Independentemente da raça e do manejo adotado para a ingestão do colostro, a TIP foi bem sucedida nos bezerros estudados, exceto em um bezerro da raça Holandesa, que apresentou falha na transferência, com valores de 0,2 g/dL de gamaglobulina e de 476,6 mg/dL de IgG estimada.

Os bezerros da raça Nelore apresentaram os seguintes valores de média e desvio-padrão nas idades de 24 a 36 horas, 15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias de vida, respectivamente: 3,03±0,79 g/dL, 1,50±0,37 g/dL, 0,90±0,18 g/dL, 0,67±0,15 g/dL, 0,72±0,19 g/dL, 1,02±0,25 g/dL, 1,23±0,29 g/dL e 1,31±0,27 g/dL para a concentração de gamaglobulinas; e 3,75±0,60 g/dL, 3,00±0,49 g/dL, 2,56±0,32 g/dL, 2,25±0,28 g/dL, 2,12±0,32 g/dL, 2,59±0,50 g/dL, 2,67±0,68 g/dL, 2,85±0,44 g/dL para a concentração estimada de IgG.

Os bezerros da raça Holandesa apresentaram os seguintes valores de média e desvio-padrão nas idades de 24 a 36 horas, 15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias de vida, respectivamente: 2,39±1,08 g/dL, 1,77±0,80 g/dL, 1,12±0,37 g/dL, 1,17±0,38 g/dL, 1,33±0,53 g/dL, 1,53±0,59 g/dL, 1,73±0,53 g/dL e 2,03±0,53 g/dL para a concentração de gamaglobulinas; e 2,62±0,63 g/dL, 2,25±0,65 g/dL, 2,96±0,49 g/dL, 3,32±0,39 g/dL, 2,96±0,54 g/dL, 2,84±0,62 g/dL, 3,14±0,49 g/dL e 3,19±0,48 g/dL para a concentração estimada de IgG.

A concentração sérica de gamaglobulinas exibiu, nos bezerros de ambas as raças, um padrão parecido de variação de acordo com a idade. Os valores mais elevados, observados entre 24 e 36 horas de vida como resultado da absorção das imunoglobulinas colostrais, experimentaram uma queda contínua consequente à degradação ou consumo dessas proteínas. Os valores mínimos foram atingidos aos 30 dias nos bezerros HPB e aos 60 dias nos bezerros Nelore. A curva ascendente, que reflete a produção ativa de imunoglobulinas, foi estabelecida a partir dos 60 dias nos bezerros HPB e dos 90 dias nos da raça Nelore. As diferenças entre as raças poderiam ser resultado da influência do tipo de manejo no qual os animais eram mantidos. O desafio representado pela exposição natural aos patógenos é muito maior e frequente nas

condições intensivas de manejo como a dos bezerreiros nas granjas leiteiras (RADOSTITS et al., 1994; WITTUM & PERINO, 1995).

A variação observada nos bezerros HPB é semelhante às estabelecidas em outros estudos com bezerros da mesma raça (COSTA, 2000; FEITOSA et al., 2001). A variação observada nos bezerros Nelore se assemelha à obtida por AMORIM (2002).

Ao contrário do primeiro dia de vida em que a concentração de gamaglobulinas foi maior nos bezerros Nelore ($p<0,05$), a partir dos 60 dias de idade a concentração de gamaglobulinas sempre foi superior nos bezerros HPB ($p<0,05$). Esses resultados são coerentes com os de COSTA et al. (2008) que compararam bezerros Nelore e Limousin manejados extensivamente e com os de MACHADO NETO et al. (2004) que compararam bezerros Nelore e Canchim. Refletem diferenças fisiológicas entre raças européias e zebuínas e comprovam que bezerros taurinos apresentam, de forma geral, maior precocidade do que os zebuínos no desenvolvimento de sua imunidade ativa.

O fato de a raça Holandesa mostrar-se mais precoce na produção ativa de anticorpos não está necessariamente associado a uma maior resistência a doenças. Os bezerros da raça Nelore apresentaram-se sadios durante todo o período de duração do experimento.

CONCLUSÃO

Bezerros da raça Holandesa desenvolvem imunidade ativa mais precocemente do que os da raça Nelore, o que reflete diferenças fisiológicas entre taurinos e zebuínos e não tem impacto sobre a saúde dos bezerros.

AMORIM, R. M. **Valores séricos e hepáticos de elementos minerais, atividade sérica da ceruloplasmina, hemograma, proteinograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos em bezerros da raça Nelore, nascidos de mães com nutrição adequada ou inadequada em cobre e zinco.** 2002. 158p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

COSTA, J. N. **Leucograma, metabolismo oxidativo dos neutrófilos, proteinograma e imunoglobulinas de bovinos da raça holandesa (*Bos taurus*). Influência do desenvolvimento etário e da suplementação com vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol).** Botucatu, 2000.

209p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

COSTA, M. C.; FLAIBAN, K. K. M. C.; CONEGLIAN, M. M.; FEITOSA, F. L. F.; BALARIN M. R. S.; LISBÔA, J. A. N. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 9, p. 410-416, 2008.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; PERRI, S. H. V. Proteinograma sérico de bezerros holandeses do nascimento até um ano de vida. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 8, n. 2, p. 105-8, 2001.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I. U.; PRADO, G. V. B.; BESSI, R.; PAULETTI, P. Colostral immunoglobulins absorption in Canchim and Nelore calves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1544-47, 2004.

RADOSTITS, O. M.; LESLIE, K. E.; FELTROW, J. **Herd health. Food animal production medicine**. 2 ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994, 631p.

WITTUM, T. E.; PERINO, L. J. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 56, n. 9, p. 1149-54, 1995.

INFLUÊNCIA DO PERÍODO PÓS-PARTO NO PROTEINOGRAMA DE VACAS HOLANDESAS, OBTIDO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

João Paulo Elsen Saut¹, Samantha Ive Miyashiro², Raquel Fraga e Silva Raimondo², Eduardo Harry Birgel Junior³

1. Professor Adjunto da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia. FAMEV-UFU – E-mail: jpsaut@usp.br (autor correspondente)
2. Doutorandos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ-USP
3. Professor Livre-docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ-USP

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, proteína, proteína de fase aguda, puerpério, SDS-PAGE.

ABSTRACT

INFLUENCE OF THE PUERPERIUM PERIOD ON PROTEINOGRAM DETERMINED BY SODIUM DODECYL SULPHATE-POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS

This study evaluates the influence of the puerperium period on the proteinogram of Holstein cows. A total of 162 blood samples were collected during the first 90 days after parturition and divided into 9 experimental groups according to the time of postpartum sample collection: 0 – 1st day; 1st – 2nd day; 2nd – 4th day; 4th – 6th day; 6th – 8th day; 8th – 15th day; 15th – 30th day; 30th – 60th day; and 60th – 90th day. Total protein concentrations were determined by the biuret method and proteins were separated by SDS-PAGE. This procedure detected 21 protein bands and molecular weights varied between 20kDa and 200kDa. The following protein fractions were identified: ceruloplasmin (120kDa), hemopexin (87kDa), transferrin (78kDa), albumin (62kDa), IgG heavy chain (53kDa), haptoglobin (44kDa), acid glycoprotein (36kDa), and IgG light chain (28kDa). Protein levels gradually increased during the puerperium period most likely due to transfer of immunoglobulins into mammary glands. The acute phase protein haptoglobin, acid glycoprotein, and ceruloplasmin increased in partum stimuli and postpartum bacterial contamination. Transferrin protein decreased during parturition showing a bacteriostatic effect against bacterial strains.

KEYWORDS: Acute phase protein, cattle, protein, puerperium, SDS-PAGE.

INTRODUÇÃO

Considera-se como parto eutócico, fisiológico ou normal o momento final da gestação fisiológica, quando, pelo nascimento do produto, há separação orgânica maternal e do feto gerado. Nestas condições, há dilatação da via fetal e o nascimento transcorre sem transtornos e riscos de vida ou ferimentos para mãe e o bezerro (GRUNERT & BIRGEL, 1982).

O período imediatamente após o parto é de suma importância na vida reprodutiva da vaca. Uma involução uterina normal e o restabelecimento da função ovariana no pós-parto são cruciais para que se obtenha curto intervalo entre parto e nova concepção, condição necessária para otimização da produção de leite e bezerras (DOHMEN et al., 2000). Após a parição e subsequente gestação, quatro eventos devem ocorrer concomitantemente: a) involução uterina, b) regeneração do endométrio, c) retorno à ciclicidade ovariana e, d) eliminação da contaminação bacteriana (SHELDON, 2004).

O fracionamento eletroforético das proteínas sangüíneas representa um dos mais confiáveis métodos para a sua identificação (FAGLIARI & SILVA, 2002). A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) possibilita a visualização de concentrações protéicas extremamente baixas, identificação de 20 a 30 proteínas com pesos moleculares que variam entre 24.000 a 340.000 daltons e quantificação de diversas proteínas de fase aguda (FAGLIARI & SILVA, 2002).

As proteínas de fase aguda são encontradas no soro em altas concentrações durante a instalação do processo inflamatório (ALSEMGEEST et al., 1994), podendo ser avaliadas em situações clínicas, pois se acredita que sejam melhores indicadores da resposta sistêmica ao processo inflamatório ou infeccioso do que outras variáveis, tais como febre, aumento no tempo de sedimentação de eritrócitos e leucocitose associada à neutrofilia (HORADAGODA et al., 1999).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do período pós-parto no proteinograma de bovinos da raça Holandesa, através do fracionamento das proteínas séricas por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas 162 amostras de sangue de fêmeas bovinas clinicamente sadias e divididas em 9 grupos experimentais, 0 – 1º dia; 1º – 2º dia; 2º – 4º dia; 4º – 6º dia; 6º – 8º

dia; 8º –| 15º dia; 15º –| 30º dia; 30º –| 60º dia; e, 60º –| 90º dia pós-parto. As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular externa, utilizando-se sistema Vacutainer®. Após, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos e o soro separado, por aspiração, utilizando-se pipetas Pasteur, em alíquotas, acondicionadas em tubos plásticos e conservadas em freezer a menos 20°C.

A determinação dos teores séricos de proteína total foi feita pelo método do biureto. Para o fracionamento das proteínas foi realizada a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme a técnica descrita por LAEMMLI (1970) e as recomendações de FAGLIARI & SILVA (2002). A quantificação da frações foi realizada em densitômetro (Byosystems, modelo Epson Expression 1680), com uso de “software” de análise de imagens VisionWorksLS (Ultra-Violet Products). Para perfeita identificação das frações protéicas do soro sangüíneo foi utilizado, em cada corrida de eletroforese, um marcador padrão de pesos moleculares da marca Invitrogen com bandas entre 10 kDa e 220 kDa. Para a análise estatística, utilizou-se o programa Minitab - versão 14.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores séricos da concentração das proteínas totais obtidos em amostras colhidas com menos de 24 horas após o parto ($7,33 \pm 0,82$ g/dL) aumentaram gradativamente nos primeiros dias do puerpério, atingindo valor significativamente diferente nas amostras colhidas entre 15 –| 30 dias após o parto ($8,08 \pm 0,51$ g/dL), concordando com FEITOSA & BIRGEL (2000) e FAGLIARI et al. (1998). Os baixos valores de proteínas total nos primeiros dias após a parição, nesta pesquisa, devem-se, seguramente, à transferência de globulinas para a glândula mamária para a formação de colostro (NATH et al., 2005).

A eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) permitiu identificar 21 bandas protéicas, cujos pesos moleculares variaram de 20 KDa a 200 KDa. A partir do método utilizado foi possível a identificação nominal de 8 destas proteínas: ceruloplasmina (120 kDa), hemopexina (87 kDa), transferrina (78 kDa), albumina (62 kDa), cadeia pesada de imunoglobulinas (53 kDa), haptoglobina (44 kDa), glicoproteína ácida (36 kDa) e cadeia leve de imunoglobulinas (28 kDa). As demais 13 bandas protéicas foram identificadas apenas com base nos respectivos pesos moleculares, como segue: 187 kDa, 163 kDa, 144 kDa, 133 kDa, 107 kDa, 95 kDa, 40 kDa, 38 kDa, 34 kDa, 33 kDa, 31 kDa, 25 kDa e 23 kDa.

A eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 10%, utilizando tampão de aplicação com agente redutor, não se mostrou uma boa técnica para a determinação da concentração de albumina e imunoglobulinas.

A transferrina, proteína de fase aguda negativa, apresentou queda na concentração sérica após o parto ($132,8 \pm 67,4$ mg/dL) chegando ao patamar mínimo entre o 6^o – 8^o dia ($38,03 \pm 19,47$ mg/dL), retornando somente no 8^o – 15^o dia pós-parto ($108,1 \pm 62$ mg/dL). Uma das funções da transferrina é a habilidade de sequestrar o ferro livre circulante removendo um dos nutrientes essenciais para o crescimento bacteriano, desta forma agindo como elemento bacteriostático. Esta função assume papel fundamental na parição, pois no momento do parto o útero é exposto a uma série de microorganismos (SHELDON, 2004).

Foi possível identificar três proteínas de fase aguda positivas: ceruloplasmina, haptoglobina e glicoproteína ácida. Estas proteínas elevam suas concentrações plasmáticas imediatamente após a instalação de um processo inflamatório (GODSON et al., 1996).

A parição provocou uma resposta de fase aguda demonstrado pelo aumento das proteínas de fase aguda positiva: ceruloplasmina e haptoglobina. Estas proteínas provavelmente responderam aos danos teciduais decorrentes da passagem do feto pelo canal cervical e a expulsão dos anexos fetais, além de possível influência do cortisol e da prostaglandina aumentados nesta fase (ALSEMGEEST et al., 1993). Após o parto, foi demonstrado um segundo aumento destas proteínas que correspondeu ao estímulo da contaminação bacteriana instalada no útero após o parto (ALSEMGEEST et al., 1993; REGASSA; NOAKES, 1999). A glicoproteína ácida apresentou menor aumento.

As proteínas ceruloplasmina e haptoglobina apresentaram uma terceira elevação, que pode estar relacionado a possíveis estímulos infecciosos, devido às variações nas populações bacterianas e grau de infecção (SHELDON et al., 2001). O grau de inflamação e as camadas envolvidas do útero poderia ser um fator que influenciasse na concentração das proteínas de fase aguda (SMITH et al., 1998).

CONCLUSÕES

Ocorreu aumento significativo e transitório das proteínas de fase aguda, as quais responderam ao estímulo do parto e à contaminação bacteriana pós-parto, demonstrando desta forma a habilidade dos mecanismos de defesa uterina de eliminar processos infecciosos nesta fase de vacas com pós-parto fisiológico. A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida

contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 10%, com tampão de aplicação com agente redutor, não é indicada para o estudo do comportamento das proteínas albumina e imunoglobulinas.

REFERÊNCIAS

ALSEMGEEST, S. P. M.; KALSBECK, H. C.; WENSING, T.; KOEMAN, J. P.; VAN EDEREN, A. M.; GRUYS, E. Concentrations of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (HP) as parameters of inflammatory diseases in cattle. **Veterinary Quarterly**, The Hague, v.,16, n.,1, p. 21-23, 1994.

ALSEMGEEST, S. P.; TAVERNE, M. A. M.; BOOSMAN, R.; VAN DER WEYDEN, B. C.; GRUYS, E. Peripartum acute-phase protein serum amyloid-A concentration in plasma of cows and fetuses. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 54, p. 164-167, 1993.

DOHMEN, M. J. W.; JOOP, K.; STURK, A.; BOLS, P. E. J.; LOHUIS, J. A. C. M. Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with distocia or retained placenta. **Theriogenology**, Stoneham, v. 54, p. 1019-1032, 2000.

FAGLIARI J. J.; SILVA, S. L. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hígidos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 6, p. 559-586, 2002.

FAGLIARI, J. J.; SANTAN, A. E.; MARCHIO, W.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sangüíneos de vacas das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murah durante a gestação, no dia do parto e no puerpério. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 273-282, 1998.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e sua frações eletroforéticas e da atividade da gama glutamiltransferase no soro sangüíneo de vaca Holandesas, antes e após o parto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 2, p.11-116, 2000.

GODSON, D. L. et al. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 51, p. 277-292, 1996.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H. **Obstetrícia veterinária**. Porto alegre: Ed. Sulina, 1982. p. 323.

HORADAGODA, N. U.; KNOX, K. M. G.; GIBBS, H. A.; REID, S. W. J.; HORADAGODA, A.; EDWARDS, S. E. R.; ECKERSALL, P. D. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. **Veterinary Record**, London, v. 144, p. 437-441, 1999.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

MULEI, C. M.; MUTIGA, E. R.; GITAU, G. K. Retained foetal membranes in cattle: relationship between bacterial isolates, blood picture and systemic involvement. **Indian Journal of Animal Science**, New Delhi, v. 63, n. 3, p. 235-238, 1993.

NATH, H. C.; BARUAH, K. K.; BARUAH, A.; SARMAH, H. D.; SARMAH, B. C. Serum cholesterol and protein in pre, peri and postpartum cows. **Indian Veterinary Journal**, Madras, v. 82, p. 519-521, 2005.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 3.ed. New York: Worth, 2000. 1152 p.

REGASSA, F.; NOAKES, D. E. Acute phase protein response of ewes and the release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria. **Veterinary Record**, London, v. 144, p. 502-506, 1999.

SHELDON, I. M. The postpartum uterus. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 20, p. 569-591, 2004.

SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E.; RYCROFT, A. N.; DOBSON, H. Acute phase protein response to postpartum uterine bacterial contamination in cattle. **Veterinary Record**, London, v. 148, p. 172-175, 2001.

SMITH, B. I.; DONOVAN, G. A.; RISCO, C.; YOUNG, C. R.; STANKER, L. H.; ELLIOTT, J. Serum haptoglobin concentrations in Holstein dairy cattle with toxic puerperal metritis. **Veterinary Record**, London, v. 142, p. 83-85, 1998a.

DETERMINAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO HEPÁTICO SÉRICO DE BEZERROS HOLANDESES E MISTIÇOS, NA REGIÃO DE ARAÇATUBA/SP

Francisco Leydson Formiga Feitosa¹, Juliana Regina Peiró¹, Luis Cláudio Nogueira Mendes¹, Fabiano Antonio Cadioli¹, Diogo Gaubeur de Camargo², Rodrigo Yanaka², Fernanda Bovino², Sílvia Helena Venturoli Perri³

1. Médico Veterinário, Doutor, Professor do Depto. de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal – Curso Med. Vet. – UNESP – Campus de Araçatuba – Rua Clóvis Pestana, 793 – Jardim Dona Amélia – CEP 16050-680 – Araçatuba/SP/Brasil
E-mail: leydsonf@fmva.unesp.br (autor correspondente)
2. Mestrandos do Curso de Pós Graduação de Ciência Animal- UNESP-Araçatuba.
3. Esteticista, Doutora, Professora do Depto. de Apoio, Produção e Saúde Animal – Curso Med. Vet. – UNESP – Campus de Araçatuba

PALAVRAS-CHAVE: Aspartato aminotransferase, bezerros, fosfatase alcalina, gama glutamiltransferase.

ABSTRACT

DETERMINATION OF SERUM BIOCHEMICAL PROFILE OF HOLSTEIN CALVES IN THE ARAÇATUBA REGION, SÃO PAULO

This study aims to determine gamma-glutamyltransferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP) and aspartate aminotransferase (AST) dynamics in newborn calves submitted to natural suckling of colostrum. A total of 880 newborn Holstein calves were observed from 6 hours to 30 days of age. Serum activities of GGT and ALP changed with age, whereas the AST activity did not. From 6 to 12 hours after birth, the GGT activity was higher than that of normal adults. The enzyme activity decreased until 30 days of life. The ALP activity was similar to GGT.

KEYWORDS: Alkaline phosphatase, aspartato aminotransferase, calves, gamma-glutamyltransferase.

INTRODUÇÃO

Sabe-se que as doenças hepáticas e renais ocorrem em frequência variável nos animais da espécie bovina. No entanto, para avaliar as alterações das mensurações enzimáticas, torna-se essencial o estabelecimento de valores de normalidade nas diferentes faixas etárias, já que os mesmos podem apresentar variações associadas à idade do animal, dificultando, dessa

forma, o reconhecimento da existência ou não de doenças hepáticas e/ou renais (BENESI, 2003).

THOMPSON & PAULI (1981) afirmaram que a atividade sérica da gama glutamiltransferase (GGT) sérica, em bezerros que mamaram o colostro, atingiram, após cinco a seis semanas de vida, os valores de concentração encontrados em bovinos adultos.

Em animais normais, a atividade da fosfatase alcalina (ALP) origina-se principalmente dos ossos e fígado. Elevações nas atividades desta enzima são observadas em animais em crescimento ou em adultos com atividade osteoblástica. A atividade da ALP pode também estar elevada nas doenças hepáticas agudas e crônicas; porém, aumentos marcantes não são indicativos de colestase (TENNANT, 1997).

Um intenso e temporário aumento na atividade sérica da aspartato aminotransferase (AST) foi observado em bezerros, imediatamente após o nascimento, sendo atribuída à absorção de enzimas do colostro (MADEROVA et al., 1963). Elevadas atividades séricas de AST, ALP e GGT foram descritas em bezerros alimentados com colostro (BOUDA et al.; 1980)

Para que a bioquímica clínica seja convenientemente utilizada, há a necessidade de que se conheça o que é padrão para as diferentes espécies, raças, sexos e idades de animais criados em diferentes regiões, e mantidos sob diferentes manejos de criação. Desta forma, buscou-se determinar a dinâmica das atividades séricas hepáticas de bezerros ao longo dos 30 dias de vida.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a determinação do perfil dos valores das enzimas hepáticas foram colhidas 880 amostras de sangue de bezerros holandeses e/ou mestiços, oriundos de 32 propriedades produtoras de leite da região de Araçatuba, Estado de São Paulo, sem distinção de sexo. Os bezerros foram divididos em oito grupos, na dependência da faixa etária, a saber: entre seis e 12 horas (80), 24 h (100), 48 h (105), 96 h (88), nove dias (127), de 10 a 15 dias (201) e de 16 a 30 dias (179).

As colheitas de sangue para a obtenção de soro foram realizadas após assepsia local, por venopunção jugular, utilizando-se agulhas 25 x 0,7 mm (PrecisionGlide, BD), acopladas a tubos Vacutainer[®] siliconizados sem anticoagulante.

Todas as análises bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automatizado (Analisador automático BTS, mod. 370 plus, BioSystems, Spain.), previamente calibrado com calibrador comercial (Calibrator serum, Cód.18011, BioSystems, Spain.) e

controles nível I (Assayed control serum level I, Cód. 18005, BioSystems, Spain.) e II (Assayed control serum level II, Cód. 18007, BioSystems, Spain.).

A concentração sérica da GGT foi determinada de acordo com o método cinético colorimétrico recomendado pela International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), usando-se reagente comercial para gama glutamiltransferase (Gama-glutamiltransferase (γ - GT), Cod.11584, BioSystems, Spain), (SZASZ et al., 1969).

Utilizando-se conjunto de reativo comercial, foi obtida a atividade sérica de AST (Aspartate aminotransferase (AST/GOT), Cod. 11830, BioSystems, Spain.) e ALP, (Fosfatase alcalina (FAL), Cód. 11597, BioSystems, Spain.) por reação cinética contínua. Todas as reações bioquímicas foram processadas a 37°C, conforme orientação dos fabricantes.

Para as variáveis aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), e gama glutamiltransferase (GGT), utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste de Dunn, para a comparação múltipla de medianas dos momentos de avaliação (ZAR, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente experimento, foi constatada grande variação para a atividade sérica da gama glutamiltransferase (GGT), em decorrência da influência de fatores etários, principalmente nas primeiras horas de vida dos bezerros, confirmando os relatos de outros autores (FAGLIARI et al.1996; FEITOSA et al., 2001). A maior atividade sérica da GGT foi verificada nas amostras sanguíneas de bezerros holandeses e mestiços desta raça, com seis a 12 horas de vida, com valor médio de $875,63 \pm 618,66$ UI/L. A seguir, a atividade sérica da GGT foi decrescendo drasticamente e, a partir dos 16 a 30 dias de vida, seu valor era cerca de 17 vezes menor do que aquele observado às seis e 12 horas de idade. A rápida diminuição da atividade sérica da GGT ocorreu, provavelmente, pela degradação biológica e/ou filtração renal acentuadas dessa enzima (THOMPSON & PAULI, 1981; FEITOSA et al., 2001).

Os menores e maiores valores individuais da atividade sérica de GGT foram, respectivamente, de 12 e 2888 UI/L entre seis e 12 horas; de 14 e 2410 UI/L, às 24 horas; de 11 e 1063 UI/L, às 48 horas; de 8 e 1241 UI/L, às 96 horas; de 8 e 1928 UI/L, aos nove dias; de 6 e 1152 UI/L, entre o 10º e 15º dias, e de 6 e 719 UI/L, entre o 16º e 30º dias.

A fosfatase alcalina, à semelhança da GGT, demonstrou influência do fator etário. Detectou-se maior atividade entre seis e 12 horas de vida ($667,24 \pm 550,43$ UI/L), ocorrendo, a partir de então, acentuada redução até os 16 a 30 dias de idade. Contudo, foram menores aos observados em bezerros nelores (GASPARELLI, 2007).

Ao analisar os valores individuais de FA, observou-se que 4,76% (8/84) e 14% (7/50) dos animais possuíam valores séricos de até 100 UI/L, às 24 e 48 horas, respectivamente. Cerca de 45% (38/84) dos bezerros com 24 horas de vida, e 44% (22/50) dos animais com 48 horas de idade tinham entre 101 e 300 UI/L. A atividade sérica média de fosfatase alcalina maior do que 300 UI/L foi constatada em 42 animais, às 24 horas, e em 21 animais, com 48 horas de vida. A maior parte das amostras analisadas possuía valores menores do que 500 UI/L. Os menores e maiores valores individuais da atividade sérica de FA foram, respectivamente, de 116 e 2524 UI/L, entre seis e 12 horas; de 96 e 1913 UI/L, às 24 horas; de 11 e 670 UI/L, às 48 horas; de 33 e 567 UI/L, às 96 horas; de 52 e 452 UI/L, aos nove dias; de 37 e 332 UI/L, entre o 10º e 15º dias, e de 19 e 281 UI/L, entre o 16º e 30º dias.

Apesar de alguns autores terem constatado elevados níveis séricos de AST em cordeiros e bezerros após a ingestão do colostro (BENESI et al., 2003, GASPARELI, 2007), o mesmo não foi verificado neste trabalho, já que foram observadas apenas discretas oscilações nos valores séricos representativos da atividade enzimática de AST, a partir das seis horas ($32,20 \pm 8,06$ UI/L) até as 24 horas de vida ($36,19 \pm 7,29$ UI/L), atingindo atividade máxima média nos animais com 16 a 30 dias de nascimento ($42,19 \pm 18,76$ UI/L). Tais resultados não permitiram, desta forma, estabelecer correlação consistente entre a existência de maior atividade sérica da AST e o consumo de colostro pelos bezerros, nas primeiras horas de vida, sugerindo que a concentração desta enzima era mínima ou mesmo ausente no colostro (BOYD, 1989). Evidentemente, a elevação da atividade sérica, durante as primeiras 24 horas de vida dos animais utilizados no presente trabalho, deveu-se ao início ou ao aumento da atividade muscular (BENESI, 2003), caracterizado pelo esforço repetitivo de levantar-se e procurar as tetas das mães, para a realização da primeira mamada. Desde que se excluam as lesões musculares, o aumento de AST em bovinos jovens poderia ser interpretado como decorrente de lesão hepática. Os menores e maiores valores individuais de AST foram, respectivamente, de 18 e 50 mg/dL, entre seis e 12 horas; de 20 e 47 mg/dL, às 24 horas; de 19 e 99 mg/dL, às 48 horas; de 11 e 102 mg/dL, às 96 horas; de 10 e 94 mg/dL, aos nove dias; de 10 e 89 mg/dL, entre o 10º e 15º dias, e de 13 e 99 mg/dL, entre o 16º e 30º dias.

CONCLUSÃO

Analisando-se os resultados do presente estudo é possível afirmar que as atividades de gama glutamiltransferase e fosfatase alcalina séricas de bezerros holandeses e mestiços apresentam alterações significativas em seus níveis de atividade sérica, principalmente nos primeiros dias de vida, em virtude da ingestão de colostro. Oscilações de menor magnitude

são constatadas com relação à atividade sérica de aspartato aminotransferase, ao longo dos 30 dias de vida.

REFERÊNCIAS

BENESI, F. J.; LEAL, M. L. R.; LISBOA, J. A. N.; COELHO, C. S.; MIRANDOLA, R. M. S. Parâmetros bioquímicos para avaliação da função hepática em bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 311-317, 2003.

BOUDA, J.; DVORAK, V.; MINKSOVA E.; DVORAK, R. The activities of GOT, gamma-GT, alkaline phosphatase in blood plasma of cows and their calves fed from bulkets. **Acta Veterinaria Brno**, Brno, v. 49, n. 3-4, p. 183-198, 1980.

BOYD, J. W. Serum enzyme changes in newborn calves fed colostrum. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v. 18, n. 2, p. 47-51, 1989.

COELHO, S. A. **Avaliação da função renal, do metabolismo ósseo e do equilíbrio hidroeletrólítico em bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. Influência do fator etário**. 2002. 125f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

FAGLIARI, J. J.; OLIVEIRA, E. C.; PEGORER, M. F.; FERRANTE JÚNIOR, L. C.; CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartatoaminotransferase de bezerros recém-nascidos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, n. 2, p. 105-112, 1996.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MIRANDOLA, R. M. S.; PERRI, S. H. V. Diagnóstico de falha de transferência de imunidade passiva em bezerros através da determinação de proteína total e de suas frações eletroforéticas, imunoglobulinas G e M e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 251-255, 2001.

GASPARELLI, E. R. F. **Determinação da atividade sérica de enzimas hepáticas e da concentração de uréia e creatinina, cortisol e imunoglobulina G e dos valores**

heomogasométricos de bezerros da raça Nelore oriundos de fertilização in vivo (FV) e fertilização in vitro (FIV). 2007. 73f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Curso de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

MADEROVA, V.; NEUMAN, V.; KOZUMPLIK, F. Development of serum transaminase activity in very young calves. **Sborn Vyz SK Zemeldelsk Brno**, Brno, n. 11, p. 187-188, 1963.

SAS Institute Inc. **SAS OnlineDoc®**, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999.

TENNANT, B. C. Hepatic function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997, Cap.13, p.327-352.

THOMPSON, J. C.; PAULI, J. V. Colostral transfer of gamma glutamyl transpeptidase in calves. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 29, n. 12, p. 223- 226, 1981.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Englewood. Cliffs, Prentice - Hall, 1984. 718 p.

DETERMINAÇÃO DO PERFIL BOQUÍMICO RENAL SÉRICO DE BEZERROS HOLANDESES E MISTIÇOS, NA REGIÃO DE ARAÇATUBA/SP

Francisco Leydson Formiga Feitosa¹, Juliana Regina Peiró¹, Luis Cláudio Nogueira Mendes¹, Fabiano Antonio Cadioli¹, Diogo Gaubeur de Camargo², Rodrigo Yanaka², Fernanda Bovino², Sílvia Helena Venturoli Perri³

1. Médico Veterinário, Doutor, Professor do Depto. de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal – Curso Med. Vet. – UNESP – Campus de Araçatuba – Rua Clóvis Pestana, 793 – Jardim Dona Amélia – CEP 16050-680 – Araçatuba/SP/Brasil
E-mail: leydsonf@fmva.unesp.br (autor correspondente)
2. Mestrandos do Curso de Pós Graduação de Ciência Animal- UNESP-Araçatuba.
3. Esteticista, Doutora, Professora do Depto. de Apoio, Produção e Saúde Animal – Curso Med. Vet. – UNESP – Campus de Araçatuba

PALAVRAS-CHAVE: Bezerros, colostro, creatinina, uréia.

ABSTRACT

DETERMINATION OF RENAL SERUM BIOCHEMICAL PROFILE OF HOLSTEIN CALVES IN THE ARAÇATUBA REGION, SÃO PAULO

In an attempt to determine urea and creatinine concentration dynamics from newborn calves submitted to natural suckling of colostrum, 880 newborn Holstein calves were studied from 6 hours to 30 days of age. Serum concentrations of creatinine failed to show evident differences in relation to age, but there was a gradual increase of creatinine values in the first 24 hours, followed by small fluctuations in these levels.

KEYWORDS: Calves, colostrum, creatinine, urea.

INTRODUÇÃO

Sabe-se que as doenças hepáticas e renais ocorrem em frequência variável nos animais da espécie bovina. No entanto, para avaliar as alterações das mensurações enzimáticas, torna-se essencial o estabelecimento de valores de normalidade nas diferentes faixas etárias, já que os mesmos podem apresentar variações associadas à idade do animal, dificultando, dessa forma, o reconhecimento da existência ou não de doenças hepáticas e/ou renais (BENESI, 2003).

Usualmente, os valores de uréia e creatinina são indicados para a avaliação da função renal dos animais domésticos, fornecendo subsídios, quer sejam para o diagnóstico e/ou prognóstico de inúmeras nefropatias (KANEKO, 1997). A maior parte da uréia é sintetizada no fígado, a partir da amônia proveniente do catabolismo protéico e da absorção intestinal (COLES, 1986; KANEKO, 1997).

JENKINS et al. (1982) demonstraram a influência da idade sobre os valores séricos de uréia em bovinos, quando verificaram que bezerros com 4-8 semanas de vida apresentavam valor sérico médio de uréia igual a 25,7 mg/dL; animais com 3-4 meses, 24,3 mg/dL; animais com 11-18 meses de idade, 19,4 mg/dL e, finalmente, para bovinos adultos com idade compreendida entre 6 e 11 anos, taxa sérica de uréia igual a 27,4 mg/dL.

A creatinina sérica é uma substância nitrogenada não protéica, formada a partir do metabolismo muscular da creatina e da fosfocreatina, não sendo influenciada, na sua formação, nem pela dieta ou pelo catabolismo protéico; por isso, não sofreria influência dos fatores etários e sexuais (GREGORY et al., 2004).

NICOLETTI et al. (1981) relataram valores entre 19,84 e 36,25 mg/dL de uréia e 1,30 a 1,74 mg/dL de creatinina, no soro sanguíneo de 60 fêmeas bovinas de diversas raças.

Para que a bioquímica clínica seja convenientemente utilizada, há a necessidade de que se conheça o que é padrão para as diferentes espécies, raças, sexos e idades de animais criados em diferentes regiões, e mantidos sob diferentes manejos de criação. Desta forma, buscou-se determinar a dinâmica das concentrações séricas de uréia e creatinina de bezerros ao longo dos 30 dias de vida.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a determinação do perfil dos marcadores de função renal foram colhidas 880 amostras de sangue de bezerros holandeses e/ou mestiços, oriundos de 32 propriedades produtoras de leite da região de Araçatuba, Estado de São Paulo, sem distinção de sexo. Os bezerros foram divididos em oito grupos, na dependência da faixa etária, a saber: entre seis e 12 horas (80), 24 h (100), 48 h (105), 96 h (88), nove dias (127), de 10 a 15 dias (201) e de 16 a 30 dias (179).

As colheitas de sangue para a obtenção de soro foram realizadas após assepsia local, por venopunção jugular, utilizando-se agulhas 25 x 0,7 mm (PrecisionGlide, BD), acopladas a tubos Vacutainer® siliconizados sem anticoagulante.

Todas as análises bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automatizado (Analisador automático BTS, mod. 370 plus, BioSystems, Spain), previamente

calibrado com calibrador comercial (Calibrator serum, Cód.18011, BioSystems, Spain) e controles nível I (Assayed control serum level I, Cód. 18005, BioSystems, Spain) e II (Assayed control serum level II, Cód. 18007, BioSystems, Spain).

Utilizando-se conjunto de reativo comercial, foi obtida a concentração sérica de uréia (Urea/BUN-UV, Cod. 11516, BioSystems, Spain), pelo método enzimático UV (urease/ glutamato desidrogenase) e de creatinina (Creatinine, Cod.11502, BioSystems, Spain), pelo método cinético (picrato alcalino). Todas as reações bioquímicas foram processadas a 37°C, conforme orientação dos fabricantes.

Para as variáveis uréia e creatinina utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e o teste de Dunn, para a comparação múltipla de medianas dos momentos de avaliação (ZAR, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores séricos da uréia e creatinina não apresentaram oscilação acentuada em relação à provável absorção de macromoléculas e ao fator etário, o que permite supor sua existência em baixos níveis das mesmas, no colostro das vacas, e/ou diminuta taxa de absorção pela mucosa intestinal de bezerros. Os maiores valores séricos de uréia foram constatados às 24 horas de vida ($29,14 \pm 11,65$ mg/dL), o que vem ao encontro dos resultados descritos por STEINHARDT et al. (1993). A uréia não apresentou significância estatística dos seus teores, das seis horas até os 30 dias de idade, permanecendo os seus valores médios quase que inalterados com o passar do tempo. Os menores e maiores valores individuais de uréia foram, respectivamente, de 11 e 55 mg/dL, entre seis e 12 horas; de 12 e 51 mg/dL, às 24 horas; de 7 e 14 mg/dL, às 48 horas; de 6,6 a 56 mg/dL, às 96 horas; de 6,6 e 54 mg/dL, aos nove dias; de 10 e 120 mg/dL, entre o 10º e 15º dias, e de 6,8 e 60,7 mg/dL, entre o 16º e 30º dias.

Com relação à creatinina, os teores apresentaram-se mais elevados até as 24 horas de vida, ocorrendo discreta e progressiva diminuição dos seus valores médios até os 30 dias idade. O mesmo padrão foi observado por SILVA (2005), no soro sanguíneo de cabritos. O efeito hidratante do colostro deve ter sido decisivo na expansão do plasma desses animais e na consequente excreção renal desse catabólito. Estes resultados corroboraram a afirmação de que a creatinina não é influenciada, na sua formação, pela dieta ou pelo catabolismo protéico, por isso não sofreriam influência do fator etário (GREGORY et al., 2004). Os menores e maiores valores individuais de creatinina foram, respectivamente, de 1,3 e 3,7 mg/dL, entre seis e 12 horas; de 1,0 e 2,6 mg/dL, às 24 horas; de 0,5 e 1,7 mg/dL, às 48 horas; de 0,8 e 1,7

mg/dL, às 96 horas; de 0,6 e 1,6 mg/dL, aos nove dias; de 0,5 e 1,8 mg/dL, entre o 10º e 15º dias, e de 0,3 e 1,7 mg/dL, entre o 16º e 30º dias.

Os valores de uréia e creatinina estão de acordo com os encontrados por JENKINS et al. (1982), STEINHARDT et al. (1993) e COELHO (2002), e próximos aos encontrados por GASPARELLI (2007).

CONCLUSÃO

Analisando-se os resultados do presente estudo é possível afirmar que os valores médios de uréia permanecem estáveis desde as seis horas até os 30 dias de idade, não sofrendo influência da ingestão de colostro. Oscilações discretas são observadas com relação a creatinina, ao longo dos 30 dias de vida.

REFERÊNCIAS

BENESI, F. J.; LEAL, M. L. R.; LISBOA, J. A. N.; COELHO, C. S.; MIRANDOLA, R. M. S. Parâmetros bioquímicos para avaliação da função hepática em bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 311-317, 2003.

COELHO, S. A. **Avaliação da função renal, do metabolismo ósseo e do equilíbrio hidroeletrolítico em bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. Influência do fator etário**. 2002. 125f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

COLES, E. H. **Veterinary clinical pathology**. Philadelphia: Saunders, 1986, 139p.

GASPARELLI, E. R. F. **Determinação da atividade sérica de enzimas hepáticas e da concentração de uréia e creatinina, cortisol e imunoglobulina G e dos valores heomogasométricos de bezerros da raça Nelore oriundos de fertilização in vivo (FV) e fertilização in vitro (FIV)**. 2007. 73f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Curso de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

GREGORY, L.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; D'ANGELINO, F. J.; BENESI, F. J. ; BIRGEL, E. H. Valores de referência dos teores séricos da uréia e creatinina em bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo

vírus da leucose dos bovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 339-345, 2004.

JENKINS, S. J.; GREEN, S. A.; CLARK, P. A. Clinical chemistry reference values of normal domestic animals in various age groups – ASDetermined on the ABA-100. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 72, n. 4, p. 403-415, 1982.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.

MADEROVA, V.; NEUMAN, V.; KOZUMPLIK, F. Development of serum transaminase activity in very young calves. **Sborn Vyz SK Zemeldelsk Brno**, Brno, n. 11, p. 187-188, 1963.

NICOLETTI, J. L. M.; GANDOLFI, W.; KOHAYAGAWA, A.; IAMAGUTI, P.; PINTO, A. M. N. Alguns teores de constituintes séricos e hemograma em vacas da raça Gir, Holandês preto e branco e mestiças (Girolando), na região de Botucatu, SP. **Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 30, n. 1, p. 19-30, 1981.

SAS Institute Inc. **SAS OnlineDoc®**, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1999.

SILVA, S. L. **Constituintes séricos e hematológicos de cabritos recém-nascidos alimentados com colostro de cabras submetido ou não a tratamento térmico e com colostro de vaca**. 2005, 76f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

STEINHARDT, M.; GOLLNAST, I.; LANGANKE, M.; BÜNGER, U.; KUTSCHRE, J. Biochemical blood values in newborn calves. 1. Effects of some interior and exterior conditions. **Tierärztliche-Praxis**, v. 21, n. 4, p.2 95-301, 1993.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Englewood. Cliffs, Prentice - Hall, 1984. 718 p.

DINÂMICA DO LEUCOGRAMA DE CAPRINOS JOVENS, DO NASCIMENTO ATÉ SEIS MESES DE IDADE: INFLUÊNCIA DO FATOR RACIAL

Maria Consuêlo Caribé Ayres¹, Rafaela Duplat Dorea², Eduardo Harry Birgel Junior³,
Rinaldo Batista Viana⁴; Maria do Carmo C. de Souza H. Lara⁵, Thereza Cristina B. dos
Santos C. de Bittencourt ¹, Eduardo Harry Birgel⁶

¹ Profa. Dra. Departamento de Patologia e Clínicas, Escola de Medicina Veterinária – Universidade Federal da Bahia - E-mail: cayres@ufba.br (autor correspondente)

² Acadêmica EMV-UFBA, Bolsista CNPq-Universidade Federal da Bahia

³ Prof. Dr. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP

⁴ Prof. Dr. Departamento de Medicina Veterinária, UFRA

⁵ Médica Veterinária, Pesquisadora Dra.do Instituto Biológico de São Paulo

⁶ Prof. Dr., Membro da Academia Brasileira de Medicina Veterinária

PALAVRAS- CHAVE: Fatores de variabilidade, hematologia, pequenos ruminantes.

ABSTRACT

INFLUENCE OF BREED IN THE LEUCOGRAM OF YOUNG GOATS FROM BIRTH TO 180TH DAY OF LIFE

To evaluate the effect of age and breed on the leucogram of young goats, a total of 30 healthy goats of different breeds raised in São Paulo were assessed, of which 10 were Alpine, 10 were Saanen, and 10 were Anglo-Nubian. The animals were observed from birth to 6 months of age. Blood samples were collected by venipuncture in ETDA tubes. Results revealed that breed had no significant influence on leukocyte counts, except on the number of eosinophils, whereas age differences were highly significant ($p < 0,05$). Neutrophils, white blood cells (WBC), and lymphocytes increased with age. WBC and lymphocytes increased until the 90th day and then decreased, while neutrophils increased until the 45th day and only started to decrease on the 120th day. On the 150th day of life the leucogram showed stabilization. Therefore, the influence of age and breed on young goats are reflected on leucogram findings.

KEYWORDS: Age development, breeds, hematology, small ruminants.

INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas nos sistema de manejo de pequenos ruminantes está relacionado com os elevados índices de morbidade e mortalidade, principalmente no período neonatal, consequência de processos anêmicos, infecciosos e a seguir, durante o seu desenvolvimento, de verminoses gastrintestinais e enfermidades por problemas nutricionais (KAWANO et al., 2001; MELLOR & STAFFORD, 2004; BERNARDI et al., 2005).

A hematologia clínica constitui-se em uma importante área de estudo sobre o estado de saúde dos animais, e o hemograma reveste-se em um dos métodos auxiliares de avaliação de diagnóstico e prognóstico de enfermidades. Entretanto para uma adequada interpretação é necessário considerar a influência dos fatores de variabilidade, como: condições climáticas e ambientais, estado nutricional, gestação, lactação, manejo, raça, sexo e idade, sobre os seus parâmetros (NDOUTAMIA et al., 2005).

Considerando a importância da saúde na fase neonatal e juvenil para os sistemas de produção de caprinos, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a influência do desenvolvimento etário e da raça sobre o leucograma de caprinos, criados no Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

Foram utilizados 30 animais sadios, sendo estes distribuídos em 3 grupos raciais distintos: Grupo I- 10 animais da raça Saanen; Grupo II- 10 animais da raça Anglo-Nubiana e Grupo III- 10 animais da raça Parda Alpina, totalizando 19 machos e 11 fêmeas. Os animais foram acompanhados desde o nascimento até os 180 dias de idade e mantidos no Centro de Pesquisa e Diagnóstico de Enfermidades de Ruminantes – CPDER – do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Os animais receberam aleitamento artificial, cuidados gerais para neonatos e o manejo sanitário incluiu tratamento e cura do umbigo, vermifugações e vacinações.

Como objetivo de avaliar a influência do desenvolvimento etário, e do tipo racial sobre a dinâmica dos constituintes do leucograma, os animais foram estratificados em doze sub-grupos etários (0-7, 7-15, 15-21, 21-30, 30-37, 37-45, 45-60, 60-75, 75-90, 90-120,

120–150, 150–180), onde foram realizadas colheitas de sangue por venipunção da jugular externa, em tubos à vácuo contendo anticoagulante (EDTA K₃) a 10%).

Os animais foram submetidos à exame clínico antes de cada colheita sanguínea, para avaliar a higidez dos mesmos, incluindo neste estudo apenas animais saudáveis. Do período do nascimento até os 45 dias de idade as colheitas foram realizadas semanalmente, de 45 à 90 dias de vida, quinzenalmente, e nos períodos seguintes as colheitas foram realizadas mensalmente. Todas as amostras foram devidamente refrigeradas e processadas em tempo hábil, antes de 24 horas após a colheita. Realizou-se a contagem total de leucócitos em Câmara de Neubauer e para a contagem diferencial dos leucocitários, foram confeccionados dois esfregaços de cada amostra, com o sangue “in natura” no momento da colheita (BIRGEL, 1982).

Análise estatística

Para o tratamento estatístico inicialmente os dados foram submetidos à análise de variância, e em seguida foi aplicado o teste de comparação de médias com um nível de significância de 5%, utilizando-se o software estatístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos resultados obtidos nesta pesquisa deve ser realizada com ressalvas, e se considerar a influência dos fatores de variabilidade tais como: condições climáticas e ambientais, sistema de manejo, estágio reprodutivo, entre outros (SILVA et al., 2006; GRILLI et al., 2007; SOUZA et al., 2008), além das diferenças inerentes aos delineamentos experimentais, onde em algumas pesquisas foram utilizados grupos heterogêneos de animais (OGUNSANMI et al., 2004; BEZERRA et al., 2008).

O valor da média obtida do número total de leucócitos, no grupo de caprinos incluídos neste trabalho ($11,56 \pm 3,70 \times 10^3/\mu\text{L}$) está próximo aos obtidos em pesquisas realizadas no Brasil (VIANA et al., 2002; BEZERRA et al. 2008; SILVA et al., 2008), os quais foram, respectivamente, $11,86 \pm 3,16 \times 10^3/\mu\text{L}$ e $11,86 \times 10^3/\mu\text{L}$; entretanto discordante de outra, realizadas no continente Africano, cujo valor foi $13,5 \pm 0,8 \times 10^3/\mu\text{L}$ (DARAMOLA et al., 2005). Tal resultado, possivelmente, se deve à influência de fatores climáticos e ambientais (SILVA et al., 2008).

Na avaliação do número total de leucócitos, observou-se que durante o desenvolvimento etário houve aumento gradativo, sendo este estatisticamente significativo ($p < 0,05$), do dia do nascimento ($4,96 \pm 1,31 \times 10^3/\mu\text{L}$) até o 90^o dia de vida ($14,77 \pm 2,65 \times 10^3/\mu\text{L}$), e semelhante dinâmica também ocorreu no número de linfócitos, expresso em valor absoluto ($2,99 \pm 0,79 \times 10^3/\mu\text{L}$ e $8,00 \pm 2,16 \times 10^3/\mu\text{L}$), respectivamente. O número de neutrófilos diminuiu significativamente, do dia do nascimento ($1,75 \pm 0,98 \times 10^3/\mu\text{L}$) até o 37^o dia de vida ($5,14 \pm 1,59 \times 10^3/\mu\text{L}$), mantendo-se estável até 120^o dia, quando então, aos 150^o dia apresentou diminuição no valor de média, com tendência a estabilizar-se aos 180 dias de idade.

Foi detectado menor valor de média dos leucócitos totais, obtidos no dia do nascimento ($4,96 \pm 1,31 \times 10^3/\mu\text{L}$) e o dobro deste valor na segunda semana de vida ($8,81 \pm 1,89 \times 10^3/\mu\text{L}$), fato ocorrido devido a colheita de sangue ter sido realizada imediatamente após o nascimento, quando os cabritos ainda não haviam ingerido o colostro. Em cordeiros esta dinâmica foi também mencionada (UPCOTT et al., 1971).

Neste estudo não se observou influência do tipo racial sobre o número total de leucócitos, e resultado semelhante foi obtido por SOUZA et al. (2008) em caprinos das raças Moxotó, Bôer e Anglonubiana. Entretanto, na avaliação dos eosinófilos houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os caprinos da raça Anglonubiana ($1,54 \pm 1,78 \times 10^3/\mu\text{L}$), quando comparados com os Saanen ($2,16 \pm 2,24 \times 10^3/\mu\text{L}$). O tipo racial é um dos fatores de variabilidade sobre o quadro leucocitário comprovado em outras pesquisas (BIRGEL et al., 1969; DARAMOLA et al., 2005; SILVA et al., 2008).

CONCLUSÃO

No delineamento experimental proposto, onde os grupos de caprinos de três raças foram incluídos e mantidos sob o mesmo sistema de criação, condições ambientais e climáticas, os resultados obtidos demonstraram o efeito do desenvolvimento etário e da raça.

REFERÊNCIAS

BERNARDI, J. R. A.; ALVES, J. B.; MARIN, C.M. . Desempenho de cordeiros sob quatro sistemas de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 4, p. 1248-1255, 2005.

BEZERRA, L. B.; FERRIRA, A. F.; CAMBOIM, E. K. A.; JUSTINIANO, S. V.; MACHADO, P. C. R.; GOMES, B. B. Perfil hematológico de cabras clinicamente sadias criadas no Cariri paraibano. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 32 n. 3, p. 955-960, 2008.

BIRGEL, E. H. **Contribuição ao estudo do quadro leucocitário sanguíneo de caprinos (*Capra hircus*, L) normais, criados no estado de São Paulo – Influência de fatores raciais, Sexuais, etários e alimentares**. 1969. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, São Paulo.

DARAMOLA, J. J.; ADELOYE, A. A.; FATOBA, T. A.; SOLADYE, A. O. Haematological and biochemical parameters of West African Dwarf goats. **African Journal of Biotechnology**, Nigéria, v. 5, n. 9, p. 743-748, 2006.

GONÇALVES, C. H; SILVA, M. A; WECHSLER, F. S; RAMOS, A. A. Fatores genéticos e de meio na produção de leite de caprinos leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Botucatu, v. 30, n. 3, p.719-729, 2001.

GRILLI, D. P; CANDELA, M. L. E; SBRIGLIO, L. Y. A. Valores hematológicos em diferentes estados fisiológicos de cabras biótipo criollo de Mendoza, Argentina. In: CONGRESSO DE ESPECIALISTAS EM PEQUENOS RUMINANTES Y CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, 5, 2007, Mendoza. **Anais...**: Universidade Juan Agustin Maza, Mendonça, Argentina. 2007.

KAWANO, E. L.; YAMAMURA, M. H.; RIBEIRO, E. A. Efeito do tratamento com antihelmíntico em cordeiros naturalmente infectados com helmintos gastrintestinais sobre os parâmetros hematológicos, ganho de peso e qualidade da carcaça. **Arquivos da Faculdade UFRGS**, Porto Alegre, v. 29, p. 113-121, 2001.

MELLOR D. J.; STALFORD, K .J. Animal welfare implications of neonatal mortality and morbidity in farm animals. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 118-133, 2004.

NDOUTAMIA, G.; GANDA, K. Determination des paramètres hematologiques et biochimiques des petits ruminants du Tchad. **Revue de Medecine Veterinaire**, Toulouse, v. 156, p. 202-206, 2005.

OGUNSANMI, A.O; TAIWO, V. O. Comparative studies on erythrocyte calcium, potassium, haemoglobin concentration, osmotic resistance and sedimentation rates in grey duiker (*Sylvicapra grimmia*), shepp and goats experimentally infected with *Trypanossoma congolense*. **Veterinary Arhive**, Nigéria, v. 74, p. 201-216, 2004.

SILVA, E. M. N.; SOUZA, B. B.; SILVA, G.A; CÉZAR, M. F.; BENÍCIO, T. M. Avaliação hematológica de caprinos exóticos e nativos no semi-árido paraibano. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 32, p. 561-566, 2008.

SILVA, G. A; SOUZA, B. B; ALFARO, C. E. P; SILVA E. M. N; AZEVEDO, S. A; NETO, J. A; SILVA, R. M. N. Efeitos da época do ano e período do dia sobre os parâmetros fisiológicos de reprodutores caprinos no semi-árido paraibano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 4, p. 903-909, 2006.

SOUZA, B. B.; SOUZA, E. D. S.; SILVA, R. M. N.; CEZAR, M. F.; SANTOS, J. S. S.; SILVA, G. A. Respostas fisiológicas de caprinos de diferentes grupos genéticos no semi-árido paraibano. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 32, p. 314-320, 2008.

UPCOTT, D. H.; HEBERT, C. N.; ROBINS, M. Erythrocyte and leukocyte parameters in newborn lambs. **Research in Veterinary Science**, London, v. 12, p. 474-477, 1971.

VIANA, R. B.; BIRGEL JÚNIOR, E. H.; AYRES, M. C. C.; SOUZA, M. C. C.; BIRGEL, E. H. Influência da gestação e do puerpério sobre o leucograma de caprinos da raça Saanem, criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, São Paulo, v. 39, p. 196-201, 2002.

PERFIL BIOQUÍMICO DE CABRAS LACTANTES DAS RAÇAS SAANEN E ANGLO-NUBIANA

Kalina Simplício¹, Felipe Cotrim², José Jurandir Fagliari³, Cláudia Aparecida da Silva Nogueira⁴

1. Mestranda do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UNESP, Campus de Jaboticabal. E-mail: kalinamms@hotmail.com (autor correspondente)
2. Acadêmico do curso de graduação de Medicina Veterinária da FCAV / UNESP, Campus de Jaboticabal
3. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/ UNESP, Campus de Jaboticabal
4. Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal

PALAVRAS-CHAVE: Bioquímica sérica, caprinos, lactação.

ABSTRACT

BIOCHEMICAL PROFILE OF SAANEN AND ANGLO-NUBIAN LACTATING GOATS

Although nutrient requirements are now relatively well-defined for sheep and cattle, there is still a lack of reliable information in the literature about the nutritional needs of lactating goats. Most of the information available are based on extrapolated values obtained in cattle and sheep experiments. Nevertheless, due to specific physiological features of the goat, this approach requires further validation. Thus, to determine the biochemical profile of Saanen and Anglo-Nubian lactating goats, a total of 20 serum samples were collected and submitted to laboratorial analysis. The aim was to determine serum concentrations of total protein, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase, urea, creatinine, calcium, phosphorus, magnesium, sodium, potassium, and ionized calcium. Our results reveal the influence of genotype on some of the biochemical components in both breeds of lactating goats.

KEYWORDS: Clinical biochemistry, caprine, lactation.

INTRODUÇÃO

Embora o requerimento nutricional de cabras e ovelhas esteja relativamente bem estabelecido ainda há pouca informação acerca das necessidades nutricionais de cabras em

lactação. A maior parte da informação disponível consta de extrapolações advindas de experimentos com bovinos e ovinos. Não obstante, devido a características fisiológicas específicas dos caprinos são necessários mais estudos (AGUILERA et al., 1990) e o estabelecimento de valores de referência é vital (SKINNER, 2001). Ainda, a dosagem de determinados constituintes bioquímicos nos diversos fluidos inclusive no sangue pode auxiliar no diagnóstico, no prognóstico e no acompanhamento do tratamento dos animais (MORAIS et al., 2000). No entanto, para a correta interpretação de exames laboratoriais, é necessário se conhecer os valores de referência de normalidade para as diferentes espécies, raças, sexos e idades de animais criados em diferentes regiões do Brasil (BARIONI et al., 2001).

Em ruminantes de alta produção, a lactação é considerada um período de balanço energético negativo. Para manter a produção leiteira, o uso de fontes protéicas e energéticas maternas é necessário para complementar a dieta. Cabras leiteiras têm atraído atenção para o estudo desta condição devido sua alta produção de leite por unidade de peso vivo quando se leva em conta suas proporções corpóreas (BARACOS et al., 1991).

Diante deste cenário o presente trabalho objetivou determinar o perfil bioquímico de cabras lactantes das raças Saanen e Anglo-nubiana.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

A triagem dos animais foi efetuada após realização de exame físico segundo PUGH (2005). A formação dos dois grupos foi realizada de forma a totalizar 10 fêmeas lactantes da raça Saanen e 10 fêmeas lactantes da raça Anglo-Nubiana, pertencentes ao Setor de Caprinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP/Campus de Jaboticabal e mantidos sob sistema de manejo semi-intensivo.

Colheita das amostras

Para obtenção do soro, o sangue foi colhido mediante punção jugular, em tubos a vácuo, sem anticoagulante. A amostra foi mantida a 37 °C, durante 10 minutos, para retração do coágulo e posteriormente centrifugada a 1000 g durante 15 minutos.

Bioquímica Sérica

A concentração sérica de proteína total foi determinada pelo método do biureto, empregando-se reagente comercial (Labtest, Belo Horizonte). Foram também determinadas as atividades séricas de aspartato aminotransferase (método de Reitman-Frankel), gama

glutamiltransferase (método de Szaz modificado) e fosfatase alcalina (método de Bowers e McComb modificado) e os teores de magnésio (método de Tonks), sódio, potássio e cálcio ionizado (método do íon seletivo), bem como de uréia (método da urease) e creatinina (método de Basques-Lustosa) empregando-se *kits* comerciais (Labtest, Belo Horizonte). A leitura foi realizada em analisador bioquímico semi-automático (Labquest, Labtest, Belo Horizonte) em comprimentos de onda específicos para cada componente do sangue.

Análise dos Dados

Para análise dos resultados obtidos realizou-se o teste “t” de Student para variáveis independentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração sérica média da proteína total de cabras da raça Saanen foi $8,24 \pm 0,6$ g/dL e de cabras Anglo-Nubiana foi de $7,41 \pm 1,0$ g/dL, sendo a diferença significativa ($P < 0,05$) entre estas duas raças. Aguilera et al. (1990), em trabalho com cabras Granadina em lactação concluíram não ser plausível a transferência e utilização de valores de referência de componentes protéicos e energéticos de outras espécies ruminantes para a espécie caprina.

As atividades séricas médias de aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP) em cabras lactantes da raça Saanen foram $64,4 \pm 12,4$ UI, $46,67 \pm 10,5$ UI e $121,93 \pm 110$ UI respectivamente. Nas cabras Anglo-Nubiana foram observados valores mais elevados de AST ($114,7 \pm 35,7$ UI) e GGT ($58,14 \pm 8,2$ UI). Entretanto, constatou-se atividade inferior de ALP ($67,17 \pm 23,6$ UI) em fêmeas da raça Anglo-nubiana em relação àquelas verificadas na raça Saanen. Estes três componentes enzimáticos apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) entre as duas raças. Não foi encontrada nenhuma citação na literatura que pudesse colaborar com a discussão destas constatações.

A concentração sérica média de uréia no grupo de cabras da raça Saanen foi $52,13 \pm 5,3$ g/dL e em animais da raça Anglo-Nubiana foi $35,17 \pm 8,9$ g/dL. Em ruminantes, devido ao ciclo diferenciado da uréia, em que a microflora ruminal metaboliza um porcentual maior do que a flora entérica dos monogástricos, a concentração de uréia pode não acompanhar, em proporção, o aumento do teor de creatinina nos casos de insuficiência renal (MORAIS et al., 2000). KANEKO (2008) ressalta que tal fato deve ser considerado quando se avalia a concentração sérica deste catabólito.

Os teores de fósforo e cálcio em cabras da raça Saanen foram $9,59 \pm 1,7$ mg/dL e $9,89 \pm 0,5$ mg/dL, respectivamente, enquanto em fêmeas Anglo-Nubiana foram constatadas as médias respectivas de $5,78 \pm 1,8$ mg/dL e $8,88 \pm 0,5$ mg/dL para estas variáveis. O teor de cálcio ionizado, ou biologicamente ativo, foi $0,71 \pm 0,1$ mmol/L em cabras Saanen e $1,06 \pm 0,1$ mmol/L nas cabras Anglo-Nubianas. BARIONI et al. (2001) em estudo com fêmeas lactantes e não lactantes da raça Pardo Alpina não observaram influência da idade nos teores séricos de cálcio. Quanto à concentração sérica de fósforo notou-se diferença significativa ($P < 0,05$) entre animais jovens e adultos, sendo valores inferiores encontrados nos adultos. BHATTACHARYYA et al. (1994), afirmaram que os teores de cálcio e fósforo são significativamente maiores na fase pré-púbere e que isso pode ser decorrência do crescimento ou da alta taxa de absorção gastrointestinal. Ainda, segundo estes autores, com o avanço da idade ocorre decréscimo nas concentrações de sódio e potássio. No entanto, no presente trabalho não foram constatados valores diferentes das faixas de normalidade citadas por KANEKO (2008).

A teores séricos de magnésio de cabras das raças Saanen e Anglo-Nubiana foram $2,98 \pm 0,3$ mg/dL e $2,30 \pm 0,3$ mg/dL, respectivamente. JOHNSON & POWLEY (1990) observaram, em trabalho com cabras em lactação, que a adição de potássio á dieta resultou em diminuição da disponibilidade do magnésio dietético e, conseqüentemente, diminuição da concentração sérica de magnésio.

Em relação às concentrações de sódio e potássio de fêmeas da raça Saanen obteve-se média de $153,30 \pm 7,2$ mmol/L para o sódio e $5,25 \pm 0,7$ mmol/L para o potássio; no grupo de cabras da raça Anglo-Nubiana essas médias foram $143,40 \pm 4,0$ mmol/L e $4,48 \pm 0,2$ mmol/L, respectivamente, sendo as diferenças entre as raças significativas ($P < 0,05$). BHATTACHARYYA et al. (1994) afirmaram que com a idade ocorre um decréscimo na concentração de sódio e potássio, porém não fazem menção à diferença entre raças.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que o genótipo pode influenciar o perfil bioquímico de alguns componentes do soro sanguíneo de fêmeas lactantes das raças Saanen e Anglo-nubiana.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e a Kleber Tomas Resende, docente do Departamento de

Zootecnia da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal e responsável pelo Setor de Caprinocultura desta instituição.

REFERÊNCIAS

- AGUILERA, J. F.; PRIETO, C.; FONOLLÀ, J. Protein and energy metabolism of lactating Granadina goats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 63, p. 165-175, 1990.
- BARACOS, V. E.; BRUN-BELLUT, J.; MARIE, M. Tissue protein synthesis in lactating and dry goats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 66, p. 451-465. 1991.
- BARONI, G; FONTEQUE, J, H; PAES, P. R. O; TAKAHIRA, R, K; KOHAYAGAWA, K; LOPES, R. S; LOPES, S. T. A; CROCCI, A. J. Valores séricos de cálcio, fósforo, sódio, potássio e proteínas totais em caprinos fêmeas da raça Parda Alpina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n.3, p. 435-438. 2001.
- BHATTACHARYYA, B. N.; TALUKDER, S. C.; BARUAH, R. N. Influence of age on macro elements status of non-descript goat. **Indian Veterinary Journal**, Madras, v. 71, p. 338-340, 1994.
- JOHNSON, C. L.; POWLEY, G. Magnesium metabolism in lactating goats fed on grass diets differing in mineral content. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 114, p. 133-138. 1990.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. New York: Academic Press, 2008. 916p.
- MORAIS, M. G., RANGEL, J. M., MADUREIRA, J. S., SILVEIRA, A. C. Variação sazonal da bioquímica clínica de vacas aneloradas sob pastejo contínuo de *Brachiaria decumbens*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 2, p. 98-104, 2000.
- PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. Porto Alegre: Editora Roca, 2005. 513p.
- SKINNER, J. G. International standardization of acute phase proteins. *Special Report. Veterinary Clinical Pathology*, Santa Barbara, v. 30, n. 1, p. 2-7, 2001.

PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE CABRAS DAS RAÇAS SAANEN E BOER

Kalina Simplicio¹, Felipe Cotrim², José Jurandir Fagliari³, Renata Lemos Nagib Jorge⁴

1. Mestranda do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UNESP, Campus de Jaboticabal.
E-mail: kalinamms@hotmail.com (autor correspondente)
2. Acadêmico do curso de graduação de Medicina Veterinária da FCAV / UNESP, Campus de Jaboticabal
3. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/ UNESP, Campus de Jaboticabal
4. Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal

PALAVRAS-CHAVE: Bioquímica sérica, caprinos.

ABSTRACT

BIOCHEMICAL SERUM PROFILE OF SAANEN AND BOER GOATS

It is crucial to determine an animal's serum biochemical profile in order to evaluate its nutritional state, making it possible to detect metabolic alterations as well as assist clinical diagnosis of several diseases. To be successful in such a task, it is essential to consider the reference values for different species according to breed, sex, and age. Thus, a total of 20 serum samples from Saanen and Boer goats were collected and submitted to laboratorial analysis for the determination of serum concentrations of total protein, aspartate aminotransferase, gama-glutamyltranspherase, alkaline phosphatase, urea, creatinine, calcium, phosphorus, magnesium, sodium, potassium, and ionized calcium. The results revealed that breed type had no influence on the assessment of biochemical profiles.

KEYWORDS: Caprine, serum biochemistry.

INTRODUÇÃO

A dosagem de alguns constituintes bioquímicos nos diversos fluidos corporais, inclusive no sangue pode auxiliar no diagnóstico, prognóstico e no acompanhamento de tratamento dos animais (MORAIS et al., 2000). No entanto para uma interpretação correta dos resultados, é necessário conhecer os valores de referência da normalidade para as diferentes espécies, raças, sexos e idades de animais criados em diferentes regiões do Brasil (BARIONI et al., 2001).

Diante deste cenário o presente trabalho teve como objetivo determinar o perfil bioquímico sérico de caprinos das raças Saanen e Boer.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

A triagem dos animais foi efetuada após realização de exame físico segundo PUGH (2005). A separação dos grupos foi realizada de forma a totalizar 10 fêmeas adultas e saudáveis da raça Saanen e 10 fêmeas adultas híbridas da raça Bôer, pertencentes ao Setor de Caprinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP/Campus de Jaboticabal, mantidos sob sistema de manejo semi-intensivo.

Colheita das amostras

Para obtenção do soro, o sangue foi colhido mediante punção jugular, em tubos a vácuo, sem anticoagulante. A amostra foi mantida a 37°C, durante 10 minutos, para retração do coágulo e posteriormente centrifugada a 1000 g durante 15 minutos.

Bioquímica sérica

A concentração sérica de proteína total foi determinada pelo método do biureto, empregando-se reagentes comerciais (Labtest, Belo Horizonte). Foram também determinadas as atividades séricas de aspartato aminotransferase (método de Reitman-Frankel), gama glutamiltransferase (método de Szaz modificado) e fosfatase alcalina (método de Bowers e McComb modificado) e os teores de magnésio (método de Tonks), sódio, potássio e cálcio ionizado (método do íon seletivo), bem como de uréia (método da urease) e creatinina (método de Basques-Lustosa) empregando-se reagentes comerciais (Labtest, Belo Horizonte). A leitura foi realizada em analisador bioquímico semi-automático (Labquest, Labtest, Belo Horizonte) em comprimentos de onda específicos para cada componente do sangue.

Análise dos dados

Para análise dos resultados obtidos realizou-se o teste “t” de Student para variáveis independentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração sérica média da proteína total em cabras da raça Saanen e Boer foi $7,62 \pm 0,5$ mg/dL e $7,55 \pm 0,6$ mg/dL, respectivamente, não havendo diferença entre os grupos

($P > 0,05$). As concentrações séricas médias de sódio, potássio e cálcio para as fêmeas da raça Saanen foram $146,30 \pm 4,3$ UI, $4,94 \pm 0,5$ UI e $9,39 \pm 0,9$ UI, enquanto que nos animais da raça Boer foram $143,50 \pm 4,3$ UI, $4,83 \pm 0,5$ UI e $9,15 \pm 0,52$ UI, respectivamente. O teor de cálcio ionizado das fêmeas Saanen foi $0,83 \pm 0,1$ UI e nos animais da raça Boer foi $0,73 \pm 0,1$ UI, estando dentro do referencial de normalidade citado por Kaneko (2008), que afirmou que o cálcio está presente no organismo sob duas formas, a livre ionizada que é biologicamente ativa (cerca de 45%) e a forma orgânica, associada a moléculas tais como as proteínas, principalmente a albumina. Este autor também determinou os valores médios de normalidade do fósforo, sódio, potássio e proteína total para a espécie caprina, sendo estes dados amplamente utilizados na rotina, porém valores de referência são necessários para animais de diferentes raças, idades, manejo e estado fisiológico (BARIONI et al., 2001).

As atividades séricas médias de aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT) nas cabras Saanen foram $89,57 \pm 8,4$ UI e $45,14 \pm 4,3$ UI, respectivamente. Nas fêmeas Boer as médias para os mesmos componentes enzimáticos foram $74,90 \pm 11,3$ UI e $43,31 \pm 9,0$ UI, respectivamente. Em trabalho com bovinos objetivando avaliar a influência dos fatores raciais na função hepática de bovinos da raça Jersey e Holandesa, Souza et al. (2004) observaram diferença significativa entre as raças estudadas nos valores de AST, porém não nos valores de GGT, corroborando com o observado neste trabalho. As médias de fosfatase alcalina (ALP) para o grupo de animais Saanen foi de $223,03 \pm 54,6$ UI e para as fêmeas Boer foi de $150,09 \pm 86,0$ UI, sendo significativa a diferença entre os grupos ($P < 0,05$).

As provas de função renal, ilustradas pelas concentrações séricas médias de uréia e creatinina nas cabras da raça Saanen foram $36,83 \pm 7,7$ mg/dL e $0,85 \pm 0,1$ mg/dL, respectivamente, enquanto que nas fêmeas Boer foi $29,29 \pm 4,3$ mg/dL para a uréia e $1,28 \pm 0,1$ mg/dL para a creatinina. MORAIS et al. (2000), afirma que em ruminantes, devido ao ciclo diferenciado da uréia, em que a microflora ruminal metaboliza um percentual maior que a flora entérica dos monogástricos, os valores de uréia podem não acompanhar, em proporção, o aumento nos níveis de creatinina nos casos de falha da função renal.

CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que não houve influência da raça no perfil bioquímico sérico de cabras das raças Saanen e Boer.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e a Kleber Tomas Resende, docente do Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal e responsável pelo Setor de Caprinocultura desta instituição.

REFERÊNCIAS

- AGUILERA, J. F.; PRIETO, C.; FONOLLÁ, J. Protein and energy metabolism of lactating Granadina goats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 63, p. 165-175. 1990.
- BARACOS, V. E.; BRUN-BELLUT, J.; MARIE, M. Tissue protein synthesis in lactating and dry goats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 66, p. 451-465. 1991.
- BARONI, G; FONTEQUE, J, H; PAES, P. R. O; TAKAHIRA, R, K; KOHAYAGAWA, K; LOPES, R. S; LOPES, S. T. A; CROCCI, A. J. Valores séricos de cálcio, fósforo, sódio, potássio e proteínas totais em caprinos fêmeas da raça Parda Alpina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 435-438. 2001.
- JOHNSON, C. L.; POWLEY, G. Magnesium metabolism in lactating goats fed on grass diets differing in mineral content. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 114, p. 133-138. 1990.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. New York: Academic Press, 2008. 916p.
- MORAIS, M. G., RANGEL, J. M., MADUREIRA, J. S., SILVEIRA, A. C. Variação sazonal da bioquímica clínica de vacas aneloradas sob pastejo contínuo de *Brachiaria decumbens*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 52, n. 2, p. 98-104, 2000.
- PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. Porto Alegre: Editora Roca. 2005. 513p.
- SKINNER, J. G. International standardization of acute phase proteins. *Special Report*. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 30, n. 1, p. 2-7, 2001.

NÍVEIS DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) EM ERITRÓCITOS DE OVINOS ANÊMICOS

Andreza Amaral da Silva¹, Fernanda Martins de Abreu², Danilo Otávio Laurenti Ferreira³,
Débora Cristina Damasceno⁴, Adriano Dias⁵, Roberto Calderon Gonçalves⁶

1. Médica Veterinária, MS, Doutoranda em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, S/N - CEP: 18.618-000 - Botucatu/SP - Brasil.

E-mail: andrezamedvet@yahoo.com.br (autor para correspondência)

2. Médica Veterinária autônoma.

3. Médico Veterinário, Mestrando em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

4. Bióloga, MS, Dra., Prof. Ass. do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

5. Fonoaudiólogo, MS, Dr., Prof. Ass. do Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

6. Médico Veterinário, MS, Dr., Prof. Ass. do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

PALAVRAS-CHAVE: Estresse oxidativo, liperoxidação, radicais livres.

ABSTRACT

LEVELS OF THIOBARBITURIC ACID-REACTIVE COMPOUNDS IN ERYTHROCYTES FROM ANEMIC SHEEP

This study evaluates the effects of anemia on plasma lipoperoxidation levels in anemic sheep. A total of 30 animals were investigated, of which 10 were healthy and 20 were anemic according to clinical examination confirmed by haematological analysis. Jugular venous blood samples (10mL) were collected from each animal. These were stored in heparin and EDTA tubes (5mL each) to determine Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and haematological profile, respectively. There was no statistically significant difference in TBARS concentrations of healthy and anemic sheep. Therefore, we conclude that anemia does not lead to lipoperoxidation.

KEYWORDS: Free radicals lipoperoxidation, oxidative stress.

INTRODUÇÃO

No Brasil, assim como em outros países de clima tropical e sub-tropical, os problemas sanitários, têm sido considerados fatores limitantes para a criação de ovinos (ROCHA et al., 2007). Dentro deste contexto destacam-se as verminoses gastrointestinais, em sua maioria provocada por *Haemonchus* sp. (BORBA, 1996), um nematódeo hematófago que causa anemia, hipoproteïnemia e diminuição do ganho de peso (ANDERSON, 1982).

A anemia é a redução na capacidade do sangue em suprir os tecidos com adequada quantidade de oxigênio necessária para as funções vitais celulares. As principais causas de anemia envolvem a perda de sangue, a destruição dos eritrócitos e a diminuição ou ausência na sua produção (FELDMAN et al., 2000). Clinicamente a anemia caracteriza-se por decréscimo do número de eritrócitos, da concentração de hemoglobina e do volume globular (ROBINSON & HUXTABLE, 1988).

Durante a anemia a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) está aumentada e pode ser tóxica a células, tecidos ou órgãos quando não é neutralizada (STENVINKEL, 2003). O mecanismo pelo qual a anemia contribui para aumentar a produção de ERO não está totalmente compreendido, mas está relacionado à inadequada oxigenação tecidual, determinando alterações no metabolismo celular energético, elevação no catabolismo de catecolaminas e ativação leucocitária (SARADA et al., 2002; STENVINKEL, 2003). O aumento na produção de ERO é controlado pelo sistema antioxidante enzimático eritrocitário, que representa o maior componente da capacidade antioxidante do sangue, e a diminuição desse sistema antioxidante na anemia pode levar ao estresse oxidativo e à lipoperoxidação (STENVINKEL, 2003).

A lipoperoxidação caracteriza-se por aumento na produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e malondialdeído (MDA) em consequência do ataque das ERO às membranas celulares, provocando perda de seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos, e formação de produtos citotóxicos, culminando com a morte celular (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). Como a membrana celular e a matriz intracelular são estruturas vitais para a célula, não é surpreendente verificar que a lesão induzida por ERO influencie na extensão dos processos das doenças (BULKLEY, 1983).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da anemia sobre a lipoperoxidação em ovinos anêmicos, através da determinação da concentração de TBARS eritrocitária nesses animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 30 ovinos, sendo 10 animais clinicamente sadios e 20 considerados anêmicos ao exame clínico, independentemente de sexo e raça, com idade acima de 3 meses, criados em regime semi-extensivo e provenientes da região de Botucatu-SP. Inicialmente, os animais foram contidos e submetidos ao exame clínico onde a determinação da coloração da mucosa ocular foi utilizada como método de triagem para distinguir animais sadios dos considerados anêmicos (grau 1 – rósea; grau 2 – pálida; grau 3 – perlácea). Foram considerados anêmicos ao exame clínico os animais que apresentaram coloração de mucosa ocular variando de grau 2 a 3.

Imediatamente após o exame clínico, foram colhidos por venopunção da jugular 10mL de sangue de cada um dos animais, sendo 5mL em tubos de ensaio heparinizados e 5mL em tubos de ensaio contendo anticoagulante EDTA a 10%. Com as amostras dos tubos contendo EDTA foram realizadas avaliações hematológicas por meio da contagem total de hemácias, hemoglobina e determinação do volume globular (JAIN, 1993). Dos ovinos considerados anêmicos ao exame clínico só foram efetivamente incluídos na pesquisa aqueles que apresentaram hematócrito inferior a 27% (PUGH, 2005), os demais foram descartados. As amostras de sangue dos tubos contendo heparina sódica foram utilizadas para a determinação das TBARS através de um método colorimétrico previamente descrito (FERREIRA et al., 1999).

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, sendo significativo quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame clínico não foram observadas alterações nos principais parâmetros fisiológicos, exceto pela coloração das mucosas nos animais anêmicos, com 15 ovinos apresentando coloração grau 2 (15/20 – 75%) e 5 apresentando coloração grau 3 (5/20 – 25%). Com relação aos achados hematológicos, dos 20 animais anêmicos, 50% (10/20) e 70% (14/20) apresentaram valores de hemoglobina e hemácias abaixo dos valores de referência, respectivamente. Dentre os animais sadios, 30% (3/10) apresentaram hemácias abaixo dos valores de referência para a espécie, entretanto, o VG permaneceu normal. Com relação à concentração de TBARS no sangue dos animais, não foi verificada alteração estatisticamente significativa entre ovinos sadios [$MED=145674,5 \pm 91324,88$ ($p = 0,758$)] e anêmicos [$MED=154963,3 \pm 88159,97$ ($p = 0,758$)].

A oxidação do eritrócito tem sido estudada como modelo para avaliar o dano oxidativo sobre biomembranas. Quando há ataque dos radicais livres sobre as membranas dos eritrócitos ocorre oxidação dos lipídios e proteínas causando hemólise. (SIES, 1993). De acordo com IMAI et al. (1991), geralmente ocorre aumento nos valores de TBARS em situações de estresse oxidativo, como o observado durante a anemia.

O fato do marcador escolhido para determinar o *status* oxidativo nos animais deste estudo não ter aumentado nos ovinos anêmicos pode ser explicado pelas características do quadro de anemia que geralmente acomete ovinos criados em regime semi-extensivo. Como nesses animais o processo anemiante se dá por perda crônica de sangue devido à hemorragia externa e não por hemólise, não há liberação de grande quantidade de hemoglobina e ferro, o que favoreceria a ocorrência de reações oxirredutoras dependentes de ferro livre.

O ferro tem a capacidade de doar elétrons, prontamente, interconvertendo-se entre a forma férrica (Fe^{3+}) e ferrosa (Fe^{2+}). Esta propriedade o torna um componente muito útil em citocromos, em moléculas que ligam e transportam oxigênio (hemoglobina e mioglobina), e em muitas enzimas que realizam processo “redox”, funcionando como transportadoras de elétrons. Entretanto, também pode causar danos aos tecidos, atuando como catalisador durante a formação de ERO. Um exemplo é a produção do radical hidroxil, a espécie reativa mais citotóxica, facilitada pelo ferro, que catalisa a interação do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio através das reações de Fenton e Haber-Weiss (SCHIMMEL & BAUER, 2002).

No caso deste estudo, em função do comprometimento da via de formação de ERO dependente de ferro livre devido à perda crônica de sangue por hemorragia externa, é possível que o estresse oxidativo induzido pela anemia não tenha atingido magnitude suficiente para induzir a lipoperoxidação.

Além disso, cabe ressaltar o papel do sistema antioxidante enzimático eritrocitário na manutenção do *status* oxidativo celular. De maneira geral, em resposta à constante exposição ao estresse oxidativo, o sistema antioxidante reage inicialmente com um decréscimo das enzimas viáveis, seguido por elevação devido à mobilização dos estoques em outros órgãos e aumento na produção (SILVA, 2009). Embora as concentrações desses antioxidantes não tenham sido determinadas neste estudo e, com base nessa conjectura, é provável que esse efeito compensatório tenha contribuído para manter sob controle o aumento de ERO induzido pela anemia crônica, impedindo assim a ação deletéria das ERO sobre a membrana e, consequentemente, a lipoperoxidação.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo sugerem que a anemia por perda crônica de sangue devido à hemorragia externa em ovinos não provoca danos teciduais expressivos, uma vez que não induz a lipoperoxidação. Entretanto, a determinação dos principais antioxidantes enzimáticos faz-se necessária para avaliar melhor o papel da anemia sobre o status oxidativo nos eritrócitos desses animais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a bolsa de Iniciação Científica concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP.

REFERÊNCIAS

- BORBA, M. F. S. Efeitos do parasitismo gastrointestinal sobre o metabolismo do hospedeiro. In: SILVA SOBRINHO, A. G. **Nutrição de ovinos**. Jaboticabal: FUNEP, p.213-233, 1996.
- BULKLEY, G.B.; The role of oxygen free radicals in human disease processes. **Surgery**, Mosby, v.94, p.407-411, 1983.
- DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Radicais livres, estresse oxidativo e diabete. **Diabetes Clínica**, São Paulo, v. 5, n. 5, p. 355-361, 2002.
- FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams, 2000. 1344p.
- FERREIRA, A. L. A., MATSUBARA L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, p. 61-68, 1997.
- FERREIRA, A. L. A.; MACHADO, P. E. A.; MATSUBARA, L. S. Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and glutathione levels in human erythrocytes exposed to colloidal iron hydroxide in vitro. **Brazilian Journal of Medical Biology Research**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 6, p. 689-694, 1999.
- IMAI, K.; AIMOTO, T.; SATO, M.; KIMURA, R. Antioxidative effect of protoporphyrin on lipid peroxidation in tissues homogenates of intravenously administrated rats. **Journal of Pharmacobio-Dynamics**, Tokyo, v. 14, p. 20-24. 1991.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

LUDAT, K.; SOMMERBURG, O.; GRUNE, T.; SIEMS, W. G.; RIEDEL, E.; HAMPL, H. Oxidation parameters in complete correction of renal anemia. **Clinical Nephrology**, Oxford, v. 53, suppl.1, p. S30-S35, 2000.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. 513p.

ROBINSON, F. W.; HUXTABLE, C. R. R. **Clinicopathologic principles for veterinary medicine**. 2.ed. New York: Cambridge University Press, 1988. 440p.

ROCHA, R. X.; BONDAN, C.; MARINHO, R.; LOPES, S. T. A.; CECIM, M. Ferro dextrano em cordeiros anêmicos: efeitos na reticulocitose e produção de radicais livres. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p.1 344-1348, 2007.

SARADA, S. K. S.; DIPTI, P.; ANJU, B.; PAULINE, T.; KAIN, A. K.; SAIRAM, M.; SHARMA, S. K.; ILAVAZHAGAN, G.; DEVENDRA KUMAR, W.; Antioxidant effect of beta-carotene on hypoxia induced oxidative stress in male albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Dublin, v. 79, p. 149-153, 2002.

SCHIMMEL, M.; BAUER, G. Proapoptotic and redox-state related signaling of reactive oxygen species generated by transformed fibroblasts. **Oncogene**, New York, v. 21, p. 5886-5896, 2002.

SIES H. Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. **Free Radical Biology & Medicine**, London, v. 4, p. 313-323, 1993.

SILVA, A. A. **Avaliação da técnica de biopsia pulmonar transtorácica em ovinos clinicamente sadios e os efeitos do procedimento sobre o metabolismo oxidativo**. 2009. 86p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

STENVINKEL, S. Anemia and inflammation: what are the implications for the nephrologists? **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, v. 18, suppl. 8, p. 17-22, 2003.

NÍVEIS DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) EM ERITRÓCITOS DE OVINOS SUBMETIDOS À BIOPSIA PULMONAR

Andreza Amaral da Silva¹, Danilo Otávio Laurenti Ferreira², Bianca Paola Santarosa³, Débora Cristina Damasceno⁴, Adriano Dias⁵, Roberto Calderon Gonçalves⁶

1. Médica Veterinária, MS, Doutoranda em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, S/N - CEP: 18.618-000 - Botucatu/SP - Brasil.

E-mail: andrezamedvet@yahoo.com.br (autor para correspondência)

2. Médico Veterinário, Mestrando em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

3. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

4. Bióloga, MS, Dra., Profa. Ass. do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

5. Fonoaudiólogo, MS, Dr., Prof. Ass. do Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

6. Médico Veterinário, MS, Dr., Prof. Ass. do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

PALAVRAS-CHAVE: Estresse oxidativo, liperoxidação, radicais livres.

ABSTRACT

LEVELS OF THIOBARBITURIC ACID-REACTIVE COMPOUNDS IN ERYTHROCYTES FROM SHEEP SUBMITTED TO LUNG BIOPSY

This study evaluates the effect of percutaneous transthoracic lung biopsy on the concentration of Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in erythrocytes from sheep. A total of 20 clinically healthy animals were investigated. Jugular blood samples (5mL) were collected in heparin tubes before and thirty minutes after the lung biopsy, and were stored at 10°C. Laboratory investigation determined TBARS levels by colorimetric assay. The Wilcoxon paired-sample test was used for statistical analysis. There were no significant changes in TBARS concentration ($221,97 \pm 77,37$; $p = 0,135$) 30 minutes after the procedure. Results from this study show that percutaneous transthoracic lung biopsy did not cause significant changes in oxidative metabolism and it can be widely used in sheep without significant tissue damage until 30 minutes after it is carried out.

KEYWORDS: Free radicals, lipoperoxidation, oxidative stress.

INTRODUÇÃO

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular normal, como na reação inflamatória, por exemplo. Contudo, a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes. O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres é chamado de estresse oxidativo (KIRSCHIVINK & LEUKEUX, 2005; VALKO et al., 2007), e tem sido relacionado com a etiologia e curso de várias doenças, inclusive enfermidades do trato respiratório de animais (ART et al., 1999; KIRSCHIVINK et al., 2002; DEATON et al., 2004).

Entre os principais danos celulares causados por esses radicais está a oxidação dos lipídios das membranas celulares, levando à perda da fluidez e aumento da permeabilidade das membranas, com liberação de nutrientes e substâncias tóxicas à célula no espaço extracelular, e até mesmo sua ruptura (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; DAMASCENO et al., 2002). As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são um dos principais marcadores biológicos desse tipo de lesão em membranas celulares (DRAPER & HADLEY, 1990).

Atualmente a biopsia pulmonar vem sendo empregada como auxílio diagnóstico, com efetividade confirmada na obtenção de fragmentos adequados para o exame histopatológico e microbiológico (PORTO, 1991), inclusive na espécie ovina (BRAUN et al., 2000). Por ser um método diagnóstico invasivo, é possível que a biopsia pulmonar resulte em resposta inflamatória aguda acarretando aumento na produção de radicais livres pelas células fagocíticas durante a explosão respiratória, o que implicaria em danos celulares e teciduais graves se esse processo não for controlado. Diante disso, este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da biopsia pulmonar transtorácica percutânea sobre as concentrações eritrocitárias de TBARS em ovinos clinicamente saudáveis.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 ovinos clinicamente saudáveis destinados ao abate. Com os animais manualmente contidos, foram coletados 5 mL de sangue da veia jugular em tubos de ensaio heparinizados. Após a colheita foi realizada a biopsia pulmonar com agulha semi-automática (Euromed[®], BD - 14 X 16 G), e as amostras do tecido pulmonar foram obtidas de acordo com FINN-BODNER & HATHCOCK (1993) e BRAUN et al. (1999). Uma nova colheita de sangue foi realizada 30 minutos após a biopsia, e todas as amostras colhidas foram

armazenadas a 10° C em recipiente isotérmico contendo gelo e levadas ao laboratório de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

No laboratório, as amostras de sangue foram centrifugadas a 185 x g por 10 minutos à 4° C. Para obtenção das hemácias, o sangue foi lavado com tampão-salina-fosfato (PBS) a mesma temperatura e centrifugado a 1575 x g durante 15 minutos por três vezes. A cada repetição do procedimento retirou-se o plasma, glóbulos brancos e as plaquetas, por aspiração com micropipeta. Às hemácias lavadas (50 µL) foram adicionados 950 µL de água deionizada e agitados, por inversão, para obtenção do hemolisado, que foi utilizado para determinação das TBARS através de um método colorimétrico previamente descrito (FERREIRA et al., 1999). A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando-se o teste de Wilcoxon, para amostras relacionadas sendo significativo quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trinta minutos após a biopsia pulmonar não foi verificada alteração estatisticamente significativa nas concentrações de TBARS [$221,978 \pm 77,37$ ($p = 0,135$)] em hemácias de ovinos clinicamente sadios.

As reações inflamatórias locais são caracterizadas por aumento do fluxo sangüíneo e da permeabilidade vascular, dilatação dos vasos e acúmulo de células do processo inflamatório. As principais células envolvidas na fase aguda da inflamação são os neutrófilos, enquanto que, na fase tardia, monócitos/macrófagos e algumas linhagens de linfócitos migram para o sítio inflamatório. Essas células produzem radicais livres durante a explosão respiratória como reação aos estímulos fagocíticos. Além disso, vários aspectos do processo inflamatório são regulados por mediadores produzidos por células do sistema imune e células endoteliais, como citocinas, histamina, leucotrienos, prostaglandinas e, também, radicais livres (HUERRE & GOUNON, 1996).

Segundo MCINTYRE et al. (1997), a extensão dos eventos inflamatórios e das injúrias eventualmente provocadas por eles está diretamente relacionada à intensidade do estímulo inicial e aos mecanismos imunológicos que são ativados durante o processo. A agressão física tecidual ocorrida durante a introdução da agulha de biopsia deflagrou a resposta inflamatória e a liberação de mediadores químicos, exacerbando-a nos momentos que se seguiram.

Como a biopsia pulmonar transtorácica percutânea não induziu a peroxidação lipídica, confirmado pela não alteração dos valores de TBARS nas hemácias dos animais 30 minutos após o procedimento, os resultados deste estudo nos levam a crer que a biopsia pulmonar não

leva a produção de radicais livres em quantidade suficientes para provocar lesões em nível de membrana celular, podendo ser amplamente utilizada na rotina veterinária.

Alguns autores defendem que, para uma melhor interpretação dos resultados de estudos que envolvem estresse oxidativo, outros fatores tais como o tipo de marcador utilizado, a metodologia empregada, o tecido estudado e, principalmente, o momento no qual o marcador foi investigado, sejam criteriosamente considerados (WITT et al., 1992; VOLLARD et al., 2005). Portanto, o fato de que sinais de peroxidação lipídica não tenham sido observados, com base no marcador utilizado, até 30 minutos após a biopsia pulmonar, não exclui a possibilidade de que a peroxidação lipídica tenha ocorrido em outro momento durante a recuperação dos animais.

Com base nessa conjectura, talvez uma avaliação seriada e mais duradoura das concentrações das TBARS revelasse alterações compatíveis com peroxidação lipídica, ainda ocultas 30 minutos após o procedimento.

CONCLUSÕES

A biopsia pulmonar transtorácica percutânea não causou alterações significativas no metabolismo oxidativo, medido por determinação das TBARS, podendo ser amplamente utilizada em ovinos sem que ocorram danos teciduais expressivos até 30 minutos após o procedimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao auxílio financeiro e a bolsa de estudos de mestrado concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP.

REFERÊNCIAS

- ART, T.; KIRSCHIVINK, N.; SMITH, N. LEKEUX, P. Indices of oxidative stress in blood and pulmonary epithelium lining fluid in horses suffering from recurrent airway obstruction. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 31, n. 5, p. 397-401, 1999.
- BRAUN, U.; ESTERMANN, U.; FEIGE, K.; SYDLER, Y.; POSPISCHIL, A. Percutaneous lung biopsy in cattle. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 215, n. 5, p. 679-681, 1999.

BRAUN, U.; ESTERMANN, U.; FLÜCKIGER, M.; SYDLER, T.; POSPISCHIL, A. Ultrasound-guided percutaneous lung biopsy in sheep. **Veterinary Record**, London, v. 146, n. 18, p. 525-528, 2000.

DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Radicais livres, estresse oxidativo e diabete. **Diabetes Clínica**, São Paulo, v. 5, n. 5, p. 355-361, 2002.

DEATON, C. M.; MARLIN, D. J.; SMITH, N. C.; HARRIS, P. A.; SCHROTER, R. C.; KELLY, F. J. Antioxidant supplementation in horses affected by recurrent airway obstruction. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, p. 2065S-2067S, 2004.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, New York, v. 186, p.421-431, 1990.

FERREIRA, A. L. A.; MACHADO, P. E. A.; MATSUBARA, L. S. Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and glutathione levels in human erythrocytes exposed to colloidal iron hydroxide in vitro. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 6, p. 689-694, 1999.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.43, p.61-68, 1997.

FINN-BODNER, S. T.; HATHCOCK, J. T. Image-guided percutaneous needle biopsy: ultrasound, computed tomography, and magnetic resonance imaging. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, New York, v. 8, p. 258-278, 1993.

HUERRE, M. R.; GOUNON, P. Inflammation: patterns and new concepts. **Research in Immunology**, Los Angeles, v. 147, p. 417-434, 1996.

KIRSCHIVIK, N.; LEKEUX, P. Oxidants and airway inflammations. In: WORLD EQUINE AIRWAYS SIMPOSIUM, 3, Nova York, 2005 **Proceedings**. Nova York: Cornell University, 2005. p.36-38. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/WEAS/2005/toc.asp>> Acesso em: jul. 2008.

KIRSCHIVINK, N.; FIÉVEZ, L.; BOUGNET, V.; ART, T.; DEGAND, G.; SMITH, N.; MARLIN, D.; ROBERTS, C.; HARRIS, P.; LEKEUS, P. Effect of nutritional supplementation on systemic and pulmonary antioxidant status, airway inflammation and lung function in heaves-affected horses. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 34, p. 705-712, 2002.

MCINTYRE, T. M.; MODUR, V.; PRESCOTT, S. M.; ZIMMERMAN, G. A. Molecular mechanisms of early inflammation. **Thrombosis and Haemostasis**, Stuttgart, v.78, p.302-305, 1997.

PORTO, N. Punção biópsia pulmonar transcutânea. In: SILVA, L.C.C. **Compêndio de Pneumologia**, São Paulo: Fundação FKY, 1991. cap. 5, p. 274-276.

VALKO M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, Los Angeles, v. 39, p.44-84, 2007.

VOLLAARD, N. B. J.; SHEARMAN, J. P.; COOPER, C. E. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. **Sports Medicine**, Pennsylvania, v. 35, n. 12, p. 1045-1062, 2005.

WITT, E. H.; REZINICK, A. Z.; VIGUIE, C. A.; STARKE-REED, P.; PACKER, L. Exercise, oxidative damage, and effects of antioxidant manipulation. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 122, p. 766-73, 1992.

HEMOGRAMA E PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO DE OVINOS EM IDADE DE ABATE

André Marcos Santana¹, Daniela Gomes da Silva², Priscila Arrigucci Bernardes³, Lucas José Luduverio Pizauro³, Renato Pariz Maluta⁴, Gabriel de Vasconcellos Aquino³, Kleber Ormande Garcia⁵, Fernando Antonio Ávila⁶ e José Jurandir Fagliari⁷

1. Doutorando em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

2. Pós-doutoranda do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

3. Graduandos em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

4. Doutorando em Microbiologia Agropecuária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

5. Mestrando em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

6. Docente do Departamento de Patologia Veterinária – UNESP – Campus de Jaboticabal

7. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. 14.884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil. Email: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Abatedouro, cordeiro, enzimas hepáticas, parâmetros hematológicos.

ABSTRACT

HEMOGRAM AND SERUM BIOCHEMICAL PROFILE OF SLAUGHTER-AGE SHEEP

It is important to determine hematological and serum biochemical parameters of sheep during slaughter in order to detect metabolic changes associated with diseases. Blood samples from 97 slaughtered sheep (37 male, 58 female), aged 4 to 6 months old, were collected. The following parameters were determined: serum activities of aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (GGT), and alkaline phosphatase (ALP), and serum levels of total and direct bilirubin, urea and creatinine. Hematology revealed red (RBC) and white (WBC) blood cells count, hemoglobin concentration (Hb), and packed cell volume. Mean values obtained were: AST = $126 \pm 23,9$ U/L; GGT = $54,6 \pm 15,4$ U/L; ALP = $152 \pm 90,7$ U/L; total bilirubin = $0,28 \pm 0,10$ mg/dL; direct bilirubin = $0,10 \pm 0,04$ mg/dL; urea = $41,8 \pm 10,3$ mg/dL; creatinine = $1,48 \pm 0,21$ mg/dL; erythrocytes = $11,81 \times 10^6 \pm 2,16 \times 10^6/\mu\text{L}$; leukocytes = $7,0 \times 10^3 \pm 2,89 \times 10^3/\mu\text{L}$; Hb = $8,94 \pm 1,39$ g/dL;

Packed cell volume = $33,92 \pm 5,74\%$. We conclude that hemogram analysis and all serum constituent levels during slaughter were within normal values for the species.

KEYWORDS: Hematological parameters, lamb, serum constituents, slaughterhouse.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui atualmente mais de 17 milhões de ovinos e produção anual em torno de 76.000 toneladas de carne, sendo as regiões Nordeste e Sul as maiores produtoras (SILVA SOBRINHO et al., 2008). O aumento do interesse na exploração da criação de ovinos na última década se deve à grande capacidade de adaptação desses animais às condições ambientais adversas e ao aumento da demanda interna de carne ovina (GONZAGA NETO et al., 2005).

Levando-se em consideração a preocupação existente em relação à sanidade dos animais abatidos, com intuito de assegurar qualidade aos produtos destinados ao consumo humano, é de grande interesse o conhecimento de valores de constituintes hematológicos e bioquímicos de animais em idade de abate com intuito de auxiliar na detecção de sinais de doença.

Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar os teores séricos de componentes séricos, bem como o hemograma de ovinos, durante o abate, comparando-os com os valores considerados normais para a espécie ovina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas, aleatoriamente, 97 amostras de sangue de ovinos machos (n=37) e fêmeas (n=59), com 4 a 6 meses de idade, abatidos em um matadouro localizado no município de Itapira, região Sudeste do Estado de São Paulo, utilizando tubos sem anticoagulante (para análises do soro) e com ácido etilenodiaminotetraacético-EDTA (para o hemograma). As amostras foram mantidas em caixa isotérmica com gelo até a chegada ao Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária/UNESP/Campus de Jaboticabal.

As amostras sem anticoagulante, para obtenção do perfil bioquímico sérico, foram centrifugadas a 1.000 g, durante 10 minutos, para separação do soro. A atividade das enzimas aspartato aminotransferase-AST (método cinético UV), gamaglutamiltransferase-GGT (método de Szasz modificado), fosfatase alcalina-ALP (método de Bowers e McComb modificado) e os teores séricos de bilirrubina total e direta (método de Sims-Horn), uréia

(método enzimático UV) e creatinina (método Labtest) foram mensurados utilizando-se conjuntos de reagentes de uso comercial (Labtest Diagnóstica). As leituras dos parâmetros bioquímicos foram realizadas em espectrofotômetro semi-automático (Labquest), com comprimento de onda específico para cada constituinte.

De cada amostra de sangue colhida com EDTA foram aferidos os dados relativos às contagens de hemácias e de leucócitos, ao teor de hemoglobina e ao volume globular, em analisador automático (pocH – 100 iV Diff).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para comparação entre médias, ao nível de significância de 5% (ZAR, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As atividades séricas das enzimas AST e ALP variaram de 78,6 a 199 U/L (com média de $126 \pm 23,9$ U/L) e de 29,0 a 484 U/L (com média de $152 \pm 90,7$ U/L), respectivamente, consideradas normais por PUGH (2005). A atividade sérica da enzima GGT variou de 26,8 a 95,6 U/L, com média de $54,6 \pm 15,4$ U/L, também descritos como normais por DUNCAN (1986).

Os teores séricos de bilirrubina total e direta variaram de 0,12 a 0,52 mg/dL (com média de $0,28 \pm 0,10$ mg/dL) e de 0,05 a 0,22 mg/dL (com média de $0,10 \pm 0,04$ mg/dL), respectivamente. Segundo PUGH (2005), os valores de normalidade para a bilirrubina total e direta situam-se entre 0,1 a 0,5 mg/dL e 0,0 a 0,27 mg/dL, respectivamente. Dessa forma, os valores médios encontrados no presente estudo estão dentro dos parâmetros normais para a espécie.

As concentrações séricas de uréia e creatinina variaram de 20,93 a 67,23 mg/dL (média: $41,8 \pm 10,3$ mg/dL) e de 1,01 a 1,97 mg/dL (média: $1,48 \pm 0,21$ mg/dL), respectivamente, ambas situadas na faixa de normalidade descrita por PUGH (2005).

As contagens de hemácias e leucócitos variaram de 7 a $15,8 \times 10^6$ hemácias/ μ L (média: $11,81 \times 10^6 \pm 2,16 \times 10^6$ / μ L), 2,3 a $16,2 \times 10^3$ leucócitos/ μ L (média: $7,0 \times 10^3 \pm 2,89 \times 10^3$ / μ L). O teor de hemoglobina variou de 5,1 a 11,3 g/dL (média: $8,94 \pm 1,39$ g/dL) e o volume globular oscilou de 18,8% a 45,0 %, com média de $33,92 \pm 5,74$ %. Estes valores do hemograma encontram-se dentro do intervalo de referência para a espécie ovina (PUGH, 2005).

Foram verificadas alterações significativas, em função do sexo, nas atividades séricas de GGT e ALP e nas concentrações séricas de bilirrubina direta. Os valores médios de GGT foram $58,58 \pm 19,0$ U/L (machos) e $52,00 \pm 11,95$ U/L (fêmeas); para fosfatase alcalina foram

175,63±117,2 U/L (machos) e 136,12±64,97 U/L (fêmeas); para bilirrubina direta foram 0,08±0,04 mg/dL (machos) e 0,10±0,04 mg/dL (fêmeas). No entanto, tanto os valores encontrados para machos quanto para fêmeas, para esses parâmetros, estão dentro da faixa de normalidade (PUGH, 2005).

Não se constatou diferença significativa entre os valores de AST, bilirrubina total, uréia, creatinina, contagens de hemácias e leucócitos, teores de hemoglobina e hematócrito, em função do sexo.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados, concluiu-se que os parâmetros bioquímicos séricos, bem como o hemograma dos ovinos em idade de abate estavam dentro dos valores considerados normais para a espécie ovina.

REFERÊNCIAS

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Veterinary laboratory medicine – clinical pathology**. 2.ed. Ames: Iowa State University Press, 1986. 285p.

GONZAGA NETO, S.; SILVA SOBRINHO, A. G.; RESENDE, K. T.; ZEOLA, N. M. B. L.; SILVA, A. M. A.; MARQUES, C. A. T.; ROMBOLA, L. G. Composição corporal e exigências nutricionais de macrominerais para cordeiros Morada Nova. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 2133-2142, 2005.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. 513p.

SILVA SOBRINHO, A. G.; SAÑUDO, C.; OSÓRIO, J. C. S.; ARRIBAS, M. M. C.; OSÓRIO, M. T. M. **Produção de carne ovina**. Jaboticabal: FUNEP, 2008. 228p.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 663p.

AVALIAÇÃO DE SANGUE TOTAL OVINO ARMAZENADO EM BOLSAS DE SANGUE (CPDA-1) MANTIDO SOB REFRIGERAÇÃO.

Rejane dos Santos Sousa¹, Raimundo Alves Barrêto Junior^{1*}, Isadora Karolina Freitas de Sousa¹, Dowglish Ferreira Chaves¹, Herbert Sousa Soares¹, Isabella de Oliveira Barros¹, Antonio Humberto Hamad Minervino², Enrico Lippi Ortolani²

¹ Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.
Rodovia BR 110, Km 47, S/N, Costa e Silva, 59625-900, Mossoró, RN.
E-mail: barreto@ufersa.edu.br (autor correspondente)

² Departamento de Clínica Médica. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo – FMVZ - USP

PALAVRAS-CHAVE: Conservação, hematologia, transfusão.

ABSTRACT

EVALUATION OF TOTAL SHEEP BLOOD IN RECIPIENTS OF SCHOLARSHIPS FOR CPDA-1 BLOOD STORED UNDER REFRIGERATION

This study evaluates hematological, blood gas, and biochemical changes in stored CPDA-1 blood from 7 healthy adult sheep. Venous blood was collected from jugular vein and stored in CPDA-1 bags at 4 to 6 °C for 35 days. These samples were taken from the bags after different storage times: D0 (immediately after collection), D5, D7, D14, D21 and D35 (5, 7, 14, 21, and 35 days after collection, respectively). Blood serum analysis revealed globular volume, number of erythrocytes and leukocytes, and level of hemoglobin, blood pH, pO₂, pCO₂, bicarbonate, lactate, sodium, potassium, plasma glucose, and total proteins. The stored blood presented satisfactory conditions until D14, with few alterations in the analyzed parameters. Hemolysis was detected and was more intense in D21 and D35, in which the number of erythrocytes was reduced and plasma hemoglobin increased. Evidence was found of haematological, biochemical, and blood gas changes in the blood stored in CPDA-1 bags, although they did not affect the blood's therapeutic uses.

KEYWORDS: Conservation, hematology, transfusion

INTRODUÇÃO

Nos traumas, nas anemias graves ou em grandes cirurgias onde ocorre perda sangüínea aguda, a função de oxigenação do sangue é a mais relevante, sendo o principal indicador do momento decisivo em que a reposição volêmica deve ser realizada com sangue ou seus hemocomponentes (CAVALCANTI et al., 2006). Dessa forma a transfusão sangüínea surge como uma prática terapêutica que consiste em injetar sangue total ou seus subprodutos a um paciente que tenha sofrido de grande perda ou que esteja afetado por uma doença no seu próprio sangue (LACERDA, 2005).

O sangue total colhido com CPDA-1 (citrato, fosfato, dextrose e adenina) e armazenado à temperatura de 1°C a 6°C, pode ser estocado na espécie eqüina por 21 a 28 dias (LOPES et al., 1995), na espécie canina e bovina por 35 dias (RIBEIRO FILHO et al., 1994; COSTA JUNIOR, 2006). Porém, não existem relatos na literatura sobre o tempo de estocagem de sangue, alterações hematológicas, hemogasômetricas e bioquímicas decorrentes do armazenamento de sangue em bolsas de CPDA-1 na espécie ovina.

Considerando a importância da criação de ovinos para as várias regiões do país, associado às perdas econômicas causadas pela mortalidade do rebanho proveniente dos processos que levam a perdas sangüíneas e a inexistência de estudos direcionados à conservação do sangue ovino para transfusão, este trabalho objetivou avaliar e quantificar as alterações hematológicas, bioquímicas e hemogasômetricas decorrentes do processo de conservação do sangue total ovino armazenado em bolsas CPDA-1 por 35 dias a temperatura de 4°C a 6°C.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste estudo foram utilizados sete ovinos machos hígidos, pesando em média 30 Kg, com aproximadamente 8 meses de idade. Os animais foram mantidos em baias coletivas, onde foram alimentados com volumoso, concentrado e suplementados com sal mineral. Todos os animais foram desverminados e passaram por um período de 30 dias de adaptação às novas condições de manejo. Os ovinos apresentavam volume globular variando entre 30% e 45%.

No início do experimento foram coletadas amostras de sangue total por meio de venipunctura da jugular externa, sendo armazenado nas bolsas contendo CPDA-1. Foi

coletado de cada animal 15 mL de sangue por kg de peso vivo. As bolsas foram armazenadas em geladeira com temperatura variando entre 4°C e 6°C por 35 dias.

A avaliação laboratorial do sangue total coletado e armazenado foi realizada em seis momentos diferentes: D0 (imediatamente após a coleta), D5, D7, D14, D21 e D35 (cinco, sete, quatorze, vinte e um e trinta e cinco dias após a coleta, respectivamente). As análises realizadas foram: determinação do volume globular por microhematócrito; contagem de hemácias e leucócitos por técnica manual em câmara de Neubauer; concentração plasmática de hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina com leitura em espectrofotômetro a 540nm; as mensurações do pH, da pressão parcial de O₂, pressão parcial de CO₂, bicarbonato (HCO₃⁻), lactato e sódio foram realizados através de aparelho de hemogasometria; análise de potássio por automação em analisador bioquímico automático; proteínas totais por refratometria; glicose plasmática por método enzimático em analisador bioquímico automático.

A análise estatística dos dados foi processada através de software estatístico MINITAB utilizando o teste T pareado, sendo adotado um grau de significância mínimo de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação hematológica

Não houve diferença ($p > 0,05$) para o volume globular entre os tempos experimentais em relação ao D0, enquanto para o volume corpuscular médio (VCM) observou-se aumento significativo ($p < 0,05$) no D21 e D35. Conforme Valeri (1974) variações no volume das hemácias durante a preservação em bolsas deve-se principalmente à falência da bomba de sódio e potássio, ao acúmulo de substâncias osmóticas e à perda progressiva da área de superfície.

Quantitativamente o número de hemácias permaneceu estável até o D14 ($8,2 \times 10^{12} \mu\text{L}$), nos tempos posteriores D21 ($6,91 \times 10^{12} \mu\text{L}$) e D35 ($5,5 \times 10^{12} \mu\text{L}$) ocorreu declínio ($p < 0,01$) com relação ao D0. Sendo observado que neste dias o plasma apresentou uma coloração avermelhada sugerindo hemólise. Em ovinos o número de hemácias varia entre $8-18 \times 10^6$ (RADOSTITS et al., 2002). Dessa forma até o D14, as bolsas mantiveram o número de hemácias satisfatório.

Para o número de leucócitos durante o experimento observou-se diferença estatística dentre as médias do D0 ($6,92 \times 10^8 \mu\text{L}$) relacionado com D5 ($4,37 \times 10^8 \mu\text{L}$)

($p < 0,05$). Mesmo sem diferença estatística significativa com relação ao D0, ocorreu o decréscimo da contagem de leucócitos a partir do D5, a diminuição do número total de leucócitos durante o período de conservação esta ligado principalmente à degranulação dos polimorfonucleares, que degeneram mais rapidamente que os linfócitos (SALIB & DAWSON, 1985).

Observou-se aumento ($p < 0,01$) progressivo da hemoglobina plasmática a partir do D7 (0,84g/dL) quando comparado com o D0 (0,16g/L). O tempo de armazenamento influencia a fragilidade osmótica das hemácias, favorecendo a lise e liberação da hemoglobina plasmática (LOPES et al., 1995).

Avaliação Hemogasométrica

Ao longo dos tempos experimentais, observou-se a queda gradativa do pH com diferença ($p < 0,01$) quando comparado D0 (7,05) com D5 (6,95), D7(6,92), D14(6,84), D21(6,7) e D35(6,72). Considerando que o sangue de ovino em condições normais possui pH em torno de 7,4, ocorreu a diminuição dessa variável logo no primeiro dia, decorrente da acidez natural da solução preservativa (CPDA-1) e posteriormente devido a produção de metabólitos ácidos produzidos pela hemácias armazenadas (RIBEIRO FILHO et al., 1994; COSTA JUNIOR, 2006).

Constatou-se a elevação ($p < 0,01$) da pCO_2 no D5 (91,35mmHg), manutenção dos valores no D7 (90,68mmHg) em relação ao D5 ($p < 0,01$), e aumento ($p < 0,01$) nos D14 (113,88mmHg), D21 (132,91mmHg) e D35 (133,11mmHg) quando comparados com a media do D0 (72,18mmHg). O aumento da pCO_2 no sangue armazenado se deve principalmente a neutralização do ácido láctico produzido pelo metabolismo celular, resultando na produção de CO_2 (RIBEIRO FILHO et al., 1994).

A pO_2 aumentou até D7 (54,51mmHg) ($p < 0,01$), nos tempos posteriores ocorreu uma diminuição, porém estatisticamente apenas o D35 (6,15mmHg) apresentou diferença ($p < 0,01$) quando comparado ao D0 (49,64mmHg). De acordo com RIBEIRO FILHO et al. (1994) o aumento da pO_2 , se deve a permeabilidade da bolsa plástica ao oxigênio e pela maior solubilidade deste gás a 4°C. A diminuição da pO_2 a partir do D14 pode ter ocorrido por aumento do efeito Bohr decorrente da queda mais acentuada do pH e pelo aumento da pCO_2 , sendo o oxigênio liberado das hemácias e transpassando o plástico.

Quanto ao bicarbonato plasmático se observou uma diminuição das médias até o D7 (18,44mmol/L) ($p<0,01$) quando comparada com o D0 (19,88mmol/L), ocorrendo aumento posterior, enquanto o lactato apresentou aumento ($p<0,01$) até o D7 (98,71mg/dL) em relação ao D0 (62,57mg/dL) e posteriormente começou a declinar. A redução inicial do bicarbonato é decorrente do consumo para a neutralização do lactato produzido pelo metabolismo das células, enquanto o aumento posterior se deve a elevação da pCO_2 no interior das bolsas, assim com o aumento do bicarbonato ocorre queda no lactato presente no meio extracelular (COSTA JUNIOR, 2006).

Avaliação Bioquímica

Constatou-se o aumento ($p<0,01$) progressivo dos valores de potássio e diminuição ($p<0,01$) da concentração plasmática de sódio em relação às medias do D0 de todos os tempos experimentais. A diminuição da capacidade de manter a concentração intracelular de potássio e extracelular de sódio é devido à diminuição do ATP na solução conservadora (HASHIMOTO, 1997; COSTA JUNIOR, 2006). O aumento de potássio também é indicativo de hemólise.

As proteínas totais apresentaram diminuição ($p<0,01$) ao longo de todos os tempos, porém esta redução é mínima sugerindo que quantitativamente esta variável permanece estável ao longo do experimento, uma vez que o aumento indicaria maior perda de componentes intracelulares conforme LOPES et al (1995).

A concentração plasmática da glicose não sofreu alteração ao longo dos tempos experimentais ($p>0,05$). O elevado valor da glicose plasmática no D0 (332,28mg/dL) foi ocasionado pela presença de glicose na solução preservadora (CPDA-1) (RIBEIRO FILHO, et al., 1994). Provavelmente os altos valores iniciais de glicose observado no plasma, fez com que não houvesse decréscimo significativo nos seus valores, apesar do consumo deste carboidrato pelas hemácias.

CONCLUSÃO

Foram observadas alterações hematológicas, bioquímicas e hemogasômetricas no sangue ovino armazenado em bolsas CPDA-1 por 35 dias, porém estas alterações não inviabilizam a utilização terapêutica do sangue armazenado neste período, devendo ser levado em consideração no momento da transfusão o tempo de armazenamento, pois a viabilidade vai diminuindo com o decorrer do armazenamento.

REFERÊNCIAS

- CAVALCANTI, I. L.; CANTINHO, F. A. F.; ASSAD, A. **Medicina Perioperatória**. Rio de Janeiro: Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro, 2006. 1356 p.
- COSTA JUNIOR, J. D. **Avaliação do sangue total de cães armazenado em bolsas plásticas contendo CPDA-1 e CPD/SAG-M**. 2006. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- HASHIMOTO, M. C. T. **Estudo da preservação de sangue em diferentes bolsas de coleta com di-octil-ftalato e anticoagulante citrato-fosfato-dextrose-adenina**. 1997. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- LACERDA, L. Transfusão sangüínea em veterinária: desafios a vencer. In: GONZÁLEZ, F. H. D., SANTOS, A. P. (eds.): In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL. 2, 2005 Porto Alegre: **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.62-81. 2005.
- LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; RIBEIRO FILHO, J. D. Alterações hematológicas e bioquímicas em sangue total de eqüinos, conservado para transfusão em bolsas plásticas com ACD-F. R. **Revista Universidade Rural: Ciência da Vida**, Rio de Janeiro, v.17, p. 91-94, 1995.
- RIBEIRO FILHO, J. D.; ALMEIDA, C. T.; GONÇALVES, R. C.; KOHAYAGAWA, A.; CURY, P. R. Alterações hemogasométricas de sangue bovino durante a conservação em frascos de vidro com ACD e bolsas plásticas com CPDA-1, por 35 dias. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 6, p. 77-84, 1994.
- SALIB, A. A.; DAWSON, R.B. Preservation of different types of buffalo leucocytes in ACD and CPD with metabolic additives. **Acta Veterinaria (Beograd)**, Beograd, v. 35, p. 203-216, 1985.
- VALERI, C. R. Liquid and freeze preservation of human red blood cells. In: SURGENOR, D. M. **The red blood cell**. New York, Academic Press, 1974.

SURTO DE INTOXICAÇÃO POR ANTIBIÓTICOS IONÓFOROS EM BOVINOS NA PARAÍBA

Tatiane Rodrigues da Silva¹, Adriana C. O. Assis¹, Diego M. Oliveira¹, João Marcos Medeiros¹, Josemar M. Medeiros², Antônio Flávio M. Dantas³, Sara V. D. Simões³

1. Alunos do Curso de Mestrado em Medicina Veterinária, Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB 58700-000, Brasil.

E- mail: ane_vet@hotmail.com (autor correspondente)

2. Médico veterinário, mestre, Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000 Patos, PB.

4. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000 Patos, PB. saravilar@bol.com.br.

PALAVRAS-CHAVE: Lasolicida, monensina, narasina, salinomicina.

ABSTRACT

AN OUTBREAK OF IONOPHORE ANTIBIOTIC TOXICOSIS IN CATTLE FROM THE SEMI-ARID REGION OF PARAÍBA

Ionophores are a type of antibiotic that selectively depresses or inhibits the growth of certain microorganisms in the rumen. The most common ionophore antibiotics used in veterinary medicine as coccidiostatic drugs are monensin, salinomycin, narasin, and lasalocid. Inappropriate use of these therapeutic agents has resulted in animal poisoning of various species, mainly characterized by degenerative myopathy and cardiomyopathy. This study reports an outbreak of ionophore intoxication in cattle through epidemiological, clinical, laboratory, and necropsy findings. Two mixed-breed male calves with a mean age of two years, raised in an intensive system, were attended to at the Veterinary Hospital of Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba. One week before, they had presented decreasing appetite, diarrhea, fatigue, tottering gait, and permanent recumbency. Animals were fed grass, poultry litter, whole wheat and corn. Anamnesis, epidemiological, clinical, and laboratory examinations led to a presumptive diagnosis of ionophore antibiotic toxicosis which caused cardiac failure.

KEYWORDS: Lasalocid, monensin, narasin, salinomycin.

INTRODUÇÃO

Os ionóforos são um tipo de antibiótico que, seletivamente, deprime ou inibe o crescimento de microorganismos do rúmen. Eles são produzidos por diversas linhagens de *Streptomyces*, e pelo menos 74 deles foram descobertos depois de lasalocida, em 1951. Os ionóforos foram inicialmente utilizados como coccidiostáticos para aves, mas a partir da década de 1970 começaram a ser utilizados na dieta de ruminantes. Lasolacida e monensina têm sido utilizados no Brasil como promotores de crescimento em confinamento (NICODEMO, 2001).

Os antibióticos ionóforos de uso mais freqüente em medicina veterinária são monensina, salinomicina, narasina e lasolacida. O uso inadequado desses agentes terapêuticos tem causado, em várias espécies animais, intoxicações caracterizadas, principalmente, por miopatia e cardiomiopatia degenerativas (RIET et al., 2007).

O maior uso desses compostos como coccidiostáticos é em aves, e mortes por insuficiência cardíaca congestiva ocorrem em bovinos e ovinos alimentados com camas de frango secas oriundas de granjas onde são usadas a salinomicina ou a maduromicina (RADOSTITS, 2000).

Este trabalho tem como objetivo descrever a ocorrência de um surto por intoxicação com ionóforos em bovinos, fatores epidemiológicos, sinais clínicos, achados laboratoriais e de necropsia.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois bovinos com idade média de dois anos, machos, sem raça definida, criado em sistema intensivo deram entrada no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, localizado no município de Patos - PB, com o histórico de que há uma semana haviam apresentado diminuição do apetite evoluindo para ausência, andar cambaleante seguido de decúbito permanente, diarreia e cansaço. Foi relatado também pelo proprietário que há 34 dias os mesmos haviam sido adquiridos juntamente com outros 28 bovinos machos, provindos de dois municípios distintos, com a finalidade de engorda para abate. Dos 30 bovinos, 22 vieram do município de São Bento/PB e dentre estes, 14 animais adoeceram e 8 vieram a óbito, apresentavam os mesmos sinais clínicos que os bovinos trazidos ao HV, porém o curso clínico foi bastante variado, ocorrendo morte 24 horas após aparecimento dos sinais clínicos e outros morreram em um prazo de até nove dias. O manejo alimentar era o mesmo para todos os animais e consistia em grama, cama de frango e concentrado a base de

farelo de trigo e milho (2 kg/animal). Dos dois bovinos trazidos ao HV/UFCG um veio a óbito antes mesmo de ser realizado exame clínico e o segundo foi encaminhado a Clínica Médica de Grandes Animais onde foi realizado o exame físico e laboratorial para elucidação do diagnóstico.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante o exame físico do animal constatou-se anormalidades como apatia, anorexia, decúbito esternal permanente, mucosas pálidas, desidratação moderada, atonia e perda da estratificação rumenal, diarreia, edema de peito, estase na jugular e cansaço.

Exames complementares foram realizados como auxílio ao diagnóstico, revelando elevação nas enzimas CK 140 U/L (4,8 – 12,1) e AST 1.032 U/ml(78 – 132) e no sumário de urina foi observado proteinúria. No hemograma não houve achado de significância.

As informações obtidas na anamnese, os dados epidemiológicos e os achados laboratoriais levaram ao diagnóstico presuntivo de intoxicação por antibióticos ionóforos ocasionando insuficiência cardíaca. Como o início dos sinais clínicos ocorreu sete dias após a mudança de ambiente e alimentação com cama de frango e levando em consideração que altas concentrações de ionóforos causam intoxicação aguda com início dos sinais clínicos em 6-24 horas, este animal pode ter consumido uma quantidade menor da cama contendo o agente tóxico, pois em menores concentrações, a manifestação clínica pode ocorrer em duas semanas ou mais concordando assim com SAFRAN et al. (1993) e NOVILLA et al. (1994) que relatam a ocorrência dos sinais clínicos na intoxicação por antibióticos ionóforos na forma aguda ou protraída.

O quadro clínico apresentado pelo bovino intoxicado é semelhante ao dos bovinos intoxicados experimentalmente com narasina, que consistiu basicamente de alterações relacionadas a graus variáveis de incapacitação dos músculos esqueléticos e à insuficiência cardíaca (WOUTERS et al., 1997).

A anorexia foi citada pelo proprietário como um dos achados em comum aos bovinos que adoeceram e também foi observada no animal em relato, sendo este um dos sinais clínicos mais frequentemente descritos na intoxicação por ionóforos em bovinos (GONZALEZ et al., 2005). A anorexia é provavelmente associada com a indução de algum tipo de informação sensorial como o sabor do agente tóxico ou com o mal estar resultante das alterações produzidas na fermentação ruminal (SHLOSBERG et al., 1986).

A diarreia tem sido associada à intoxicação por antibióticos ionóforos em bovinos (GEOR & ROBINSON, 1985), mas a patogenia é incerta. É sugerido que resulte de alteração iônica provocada pela droga ou por sua ação antimicrobiana (BERGEN & BATES, 1984).

A ausência de alterações nos parâmetros hematológicos como resposta primária ou direta à intoxicação por ionóforos estão de acordo com informações da literatura. Os níveis elevados de CK, LDH, AST, proteinúria e mioglobinúria podem ser observados nas intoxicações devido à progressão de um dano muscular causado por essas substâncias (SAFRAN et al., 1993; NOVILLA et al., 1994).

O animal veio a óbito três dias após dar entrada no HV/UFCG durante uma visita clínica onde o mesmo foi submetido a esforço físico. Esta ocorrência é mais um sinal de insuficiência cardíaca onde os animais apresentaram intolerância ao exercício e podem ocorrer óbitos após esforço.

Durante a necropsia as anormalidades observadas foram palidez dos músculos dos membros posteriores (semitendinoso, semimembrâneo e vasto lateral) e músculos longos do tórax; líquido (em média cinco litros) na cavidade abdominal; acentuação do padrão lobular do fígado, que ao corte apresentava múltiplos pontos avermelhados entremeados por áreas amareladas; pulmão com consolidações na região dorsal aos lóbulos; e edema de mesentério. Foram coletados fragmentos de todos os órgãos. Esses fragmentos foram fixados e processados por métodos convencionais para exames histológicos e corados pela hematoxilina-eosina.

Os achados macroscópicos caracterizaram o fígado em noz moscada e ascite que são achados vistos em caso de insuficiência cardíaca.

Os achados histopatológicos foram característicos da intoxicação por ionóforos quando comparados as citações na literatura e caracterizaram-se por musculatura estriada esquelética com necrose hialina, flocular e segmentar das miofibras, entre estas se apresentava edema, e infiltrado inflamatório, contendo neutrófilos e macrófagos, este último também se encontrava no interior das células musculares, com intensidade leve. O fígado apresentava vacuolização e tumefação do citoplasma dos hepatócitos, hemorragia e necrose dos hepatócitos, principalmente na região centrolobular e diminuição dos sinusóides. Os rins apresentavam tumefação das células epiteliais dos túbulos contornados, dilatação destes, cilindros hialinos e gotas hialinas no córtex, e hemorragia na região cortical e medular.

Em bovinos, deficiência de vitamina E/selênio e intoxicação por *Senna occidentalis* (fedegoso), devem ser consideradas no diagnóstico diferencial. Porém a deficiência de

vitamina E e selênio ocorre mais frequentemente em animais jovens superalimentados e de crescimento rápido e as lesões cardíacas são mínimas ou inexistentes na intoxicação por *S. occidentalis* (BARROS et al., 1999; BARROS 2001).

CONCLUSÃO

De acordo com a epidemiologia, os achados clínicos e laboratoriais foi dado o diagnóstico de intoxicação por antibióticos ionóforos.

A prática ilegal de alimentar animais com cama de frango é comum na nossa região, principalmente na época da seca, onde há escassez de forragem, sendo desconhecido pelos criadores o risco de ocorrência desse tipo de intoxicação. A cama de frango pode ainda levar a graves enfermidades como o botulismo e intoxicação por cobre.

REFERÊNCIAS

- BARROS, C. S. L. Intoxicação por antibióticos ionóforos, In__ RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. D. C.; LEMOS, R. A. A. (ed.). **Doenças de ruminantes e eqüinos**. São Paulo: Editora Varela, p.186-191, 2001.
- BARROS, C. S. L., ILHA, M. R. S., BEZERRA, P. S., LANGOHR, I. M.; KOMMERS, G. D. Intoxicação por *Senna occidentalis* (Leg. Caesalpinoideae) em bovinos em pastoreio. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 68-70, 1999.
- GEOR, R. J.; ROBINSON, W. F. Suspected monensin toxicosis in feedlot cattle. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 62, p. 130-131, 1985.
- GONZALEZ, M.; BARKEMA, H. W.; KEEFE, G. P. Monensin toxicosis in a dairy herd. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 46, n. 10, p. 910-912, 2005.
- NICODEMO, M. L. F. **Embrapa Gado de Corte**, Rodovia BR 262 km 4, Caixa Postal 154, CEP 79002-970 Campo Grande, MS. Disponível em: luiza@cnpgc.embrapa.br.
- NOVILLA, M. N.; OWEN, N. V.; TODD, G. C. The comparative toxicology of narasin in laboratory animals. **Veterinary and human Toxicology**, Manhattan, v. 36, n. 4, p. 318-323, 1994.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

SAFRAN, N.; AIZENBERG, I.; BARK, H. Paralytic syndrome attributed to lasalocid residues in a commercial ration fed to dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 202, p. 1273-1275, 1993.

SHLOSBERG, A., HARMELIN, A., PERL, S., PANO, G., DAVIDSON, M., ORGAD, U., KALI, U., BOR, A., VAN HAM, M., HOIDA, G., YACOBSON, B., AVIDAR, Y., ISRAELI, B-A., BOGIN, E. Cardiomyopathy in cattle induced by residues of the coccidiostatic maduramicin in poultry litter given as a feedstuff. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 16, n. 1, p. 45-58, 1992.

SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728p.

WARDROPE, D. D.; MACLEOD, N. S. M.; SLOAN, J. R. Outbreak of monensin poisoning in cattle. **Veterinary Record**, London, v. 112, n. 24, p. 560-561, 1983.

WOUTERS, F.; WOUTERS, A. T. B.; BARROS, C. S. L. Intoxicação experimental por narasina em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 89-95, 1997.

INTOXICAÇÃO AGUDA POR *PTERIDIUM AQUILINUM* EM DOIS BOVINOS

Roberto Calderon Gonçalves¹, Eric de Castro Pereira²; Hugo Shisei Toma³; Diego José Zanzarini Delfiol⁴;
Simone Biagio Chiacchio¹; Alexandre Secorun Borges¹; Rogério Martins Amorim¹

1 - Docente do Departamento de Clínica Veterinária - FMVZ UNESP Botucatu - SP CEP 18.618-000 Email:
calderon@fmvz.unesp.br (autor correspondente)

2 - Médico Veterinário do Setor de Grandes Animais - HV UNIP Bauru

3 – Mestrando do Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ UNESP Botucatu

4 - Residente da Clínica de Grandes Animais – FMVZ UNESP Botucatu

Palavras-Chaves: Diátese hemorrágica, ptaquilosídeo, samambaia, trombocitopenia.

ABSTRACT

TWO CASES OF ACUTE POISONING BY *PTERIDIUM AQUILINUM* IN CATTLE

Pteridium aquilinum, also known as bracken fern, is a cosmopolitan plant that grows better in cold areas of moderate rainfall rate with low-fertility acid sandy soils. All parts of the plant contain active toxic principles. Some of the factors that lead to the intoxication of animals are hunger, lack of fibrous food, ingestion of contaminated hay, and the fact that the plant can be addictive. Considering the daily amount ingested and the period of ingestion, cattle can present three different clinical manifestations: 1) Acute hemorrhagic diathesis; 2) Bladder neoplasia or enzootic hematuria; 3) Digestive tract neoplasia. Two animals were attended to at the Veterinary Hospital of UNESP, Botucatu, presenting signs of acute poisoning by bracken fern. The diagnosis was based on anamnesis, clinical signs, complementary exams, and necropsy findings, which revealed hemorrhages and petechiae in the mucous membranes, pancytopenia, hemorrhages in the mucous and serous membranes, and aplasia of the bone marrow, respectively.

KEYWORDS: Aplasia, hemorrhagic diathesis, ptaquiloside, thrombocytopenia.

INTRODUÇÃO

A *Pteridium aquilinum* pertence à família Polypodiaceae (TOKARNIA et al., 2000), gênero *Pteridium* sendo a *aquilinum* a única espécie. Entretanto há duas subespécies, *aquilinum* e *caudatum*, que são compostas por diversas variedades, sendo que no Brasil foi identificada a variedade *arachnoideum* (MARÇAL, 2003).

A *P. aquilinum* também é conhecida como samambaia verdadeira, samambaia das queimadas, samambaia do campo ou pluma (PEDROSA & BOHLAND, 2008). É uma planta perene, rizomatosa,

herbácea, ereta e ramificada, medindo entre 50 e 180 cm de altura (MARÇAL, 2003). As folhas formam touceiras densas ou se estendem esparsamente ao longo dos rizomas que, por estarem profundamente enterrados, permitem à samambaia resistir às queimadas (CRUZ & BRACARENSE, 2004). Desenvolve-se melhor em regiões frias, de boa pluviosidade, com solos ácidos, arenosos, de baixa fertilidade e bem drenados, mas também se desenvolve em outros ambientes. (MARÇAL, 2003; CRUZ & BRACARENSE, 2004; PEDROSA & BOHLAND, 2008). Todas as partes da planta contêm os princípios tóxicos na forma ativa, cujas concentrações variam com a idade e o segmento da planta (CRUZ & BRACARENSE, 2004), sendo o broto a porção mais tóxica de suas partes aéreas e o rizoma a parte que possui maior atividade carcinogênica (MARÇAL, 2003).

No Brasil é encontrada em regiões montanhosas, desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, mas também nos estados do Amazonas, Acre, Mato Grosso e Pernambuco (TOKARNIA et al., 2000).

Embora a planta não seja palatável, em épocas de escassez alimentar, a fome constitui a primeira causa básica de ingestão da samambaia pelos bovinos. Isto ocorre em estações secas, pois a planta suporta bem o período sem chuvas, possibilitando sua procura pelos animais. Um segundo fator é o "vício" que os bovinos adquirem com ingestões repetidas e compulsivas. Um terceiro fator é a carência de alimentos fibrosos, em dietas com alta quantidade de concentrados. Os bovinos suprem a necessidade das fibras comendo caules e folhas da planta. Por fim, os animais se intoxicam pelo fornecimento de feno contaminado com a samambaia (MARÇAL, 2003).

Os mais importantes princípios tóxicos conhecidos são: tanino, quercetina, ácido chiquímico, canferol (PEDROSA & BOHLAND, 2008), ptaquilosídeo ou aquilídeo (MARÇAL et al., 2002; MARÇAL, 2003; CRUZ & BRACARENSE, 2004) que possuem principalmente atividade carcinogênica e mutagênica; a prumasina, com atividade cianogênica e a tiaminase, que provoca alterações neurológicas em eqüinos. Os ptaquilosídeos em condições ácidas degradam-se rapidamente em pterosina B, já em condições alcalinas pode dar origem a um conjugado denominado dienona que é considerada o verdadeiro componente tóxico (CRUZ & BRACARENSE, 2004).

Os princípios tóxicos acima citados exercem, em bovinos, efeitos radio miméticos responsáveis por três quadros clínicos-patológicos diferentes: uma forma aguda conhecida como diátese hemorrágica, e duas crônicas caracterizadas por neoplasias na bexiga, conhecidas como hematúria enzoótica, ou no trato digestivo superior (TOKARNIA et al., 2000; ANJOS et al., 2008). Em todos os casos a letalidade é de 100% (PEDROSA & BOHLAND, 2008). Neste resumo será discutido apenas a forma aguda da doença.

A intoxicação aguda afeta principalmente animais com até dois anos, podendo ocorrer em bezerros de seis meses de idade e em adultos. É desencadeada após ingestão de quantidades diárias superiores a 10g/kg de peso, por períodos que variam de três semanas a poucos meses, em geral, até o peso da planta ingerida igualar-se ao peso do animal (MARÇAL et al., 2002; PEDROSA & BOHLAND, 2008).

As toxinas da planta afetam a medula óssea, onde ocorre depressão da granulopoiese e trombopoiese, com grave redução das plaquetas circulantes e dos leucócitos granulócitos. A série eritrocitária na medula óssea é afetada somente nos estágios terminais (RADOSTITS et al., 2002; MARÇAL, 2003; PEDROSA & BOHLAND, 2008). A fragilidade capilar, ulceração intestinal e edema da laringe que ocorrem em alguns casos, se devem à lesão nos mastócitos dos tecidos, com liberação de histamina (RADOSTITS et al., 2002; PEDROSA & BOHLAND, 2008).

Os sinais clínicos podem surgir três semanas após o início do consumo, e até dois meses após a última ingestão do *Pteridium aquilinum* (TOKARNIA et al., 2000; PEDROSA & BOHLAND, 2008).

Os sinais manifestam-se repentinamente com hipertermia (40,5 a 43°C), salivação, diarreia e/ou melena, hemorragias espontâneas por cavidades naturais. Úlceras naso-labiais e hematúria podem ser observadas, além de petéquias, equimoses e víbices podem ser visíveis nas mucosas, pele, e câmara anterior do olho (TOKARNIA et al., 2000; ANJOS et al., 2008; PEDROSA & BOHLAND, 2008). Há taquicardia e taquipnéia (RADOSTITS et al., 2002; ANJOS et al., 2008), além de perda da condição corporal, com anorexia e parada da ruminação (PEDROSA & BOHLAND, 2008). A forma laríngea, com dispnéia acentuada devido ao edema de laringe, não é incomum (RADOSTITS et al., 2002). Devido à trombocitopenia e fragilidade capilar pode-se observar o quadro de hematidrose (MARÇAL et al., 2002; MARÇAL, 2003). A morte geralmente ocorre em um a três dias (RADOSTITS et al., 2002), mas os animais podem sobreviver por até 15 dias (PEDROSA & BOHLAND, 2008).

A contagem de plaquetas varia entre 20.000 e 58.000 / μ l (ANJOS et al., 2008). O número total de leucócitos baixa, no princípio gradualmente e depois, rapidamente para cerca de 1.000/ μ l nos estágios terminais. A quantidade de polimorfonucleares cai drasticamente e, com frequência, não são vistos num esfregaço. Há redução do número de eritrócitos e do conteúdo de hemoglobina nos estágios finais da doença (RADOSTITS et al., 2002). O tempo de coagulação está aumentado (PEDROSA & BOHLAND, 2008) e há fragilidade capilar e retração defeituosa do coágulo (RADOSTITS et al., 2002). Além disso, os níveis de heparina e histamina séricas aumentam (TOKARNIA et al., 2000).

A urinalise pode revelar a presença de eritrócitos e muitas células epiteliais. A biopsia da medula óssea pode ser usada como método auxiliar importante (RADOSTITS et al., 2002).

Na necropsia, as mucosas e vísceras estão pálidas, as hemorragias variam de petéquias a grandes extravasamentos, além de hemoperitônio, hemotórax e hemopericárdio. Na mucosa do trato alimentar ocorre necrose nas áreas hemorrágicas, com ulcerações e presença de coágulos de sangue na luz intestinal (MARÇAL, 2003; PEDROSA & BOHLAND, 2008). A medula óssea é mais pálida do que o normal. São encontradas diversas áreas pequenas, brancas ou vermelhas, indicando áreas de infarto e necrose no fígado, rins e pulmões (RADOSTITS et al., 2002).

Na histopatologia há rarefação da medula óssea, áreas de hemorragia e necrose de coagulação no fígado e necrose no miocárdio. Há aumento no número de mastócitos no subcutâneo (TOKARNIA et al., 2000; MARÇAL, 2003; PEDROSA & BOHLAND, 2008).

O diagnóstico é baseado nos sinais clínicos, na presença da planta na propriedade, exames laboratoriais, achados de necropsia e histopatológicos que revelam aplasia de medula óssea (PEDROSA & BOHLAND, 2008). O ptaquilosídeo pode ser detectado nos tecidos do animal, se houver disponibilidade desse tipo de teste (RADOSTITS et al., 2002).

Deve ser feito o diagnóstico diferencial com carbúnculo hemático, pasteurelose septicêmica, babesiose, anaplasmoses, hemoglobinúria bacilar, intoxicação por *Crotalaria sp*, intoxicação por furazolidona, intoxicação por farelo de soja com tricloroetileno, intoxicação por trevo-de-cheiro ou meliloto, lesão por irradiação ionizante, ingestão crônica de polpa cítrica e intoxicação por trevo-doce (MARÇAL et al., 2002; RADOSTITS et al., 2002; PEDROSA & BOHLAND, 2008).

Na tentativa de tratamento pode ser usado o álcool batílico (5g em 50 ml de óleo de oliva), um conhecido estimulante da medula óssea, na dose de 10 ml da solução (1g por dia) por via subcutânea, diariamente, por cinco dias. Deve ser combinado o uso de antibiótico de amplo espectro para impedir infecções secundárias devido à neutropenia (TOKARNIA et al., 2000). É pouco provável que o tratamento tenha sucesso nos casos avançados devido aos efeitos secundários da invasão bacteriana e hemorragia (RADOSTITS et al., 2002).

A transfusão sanguínea pode ser realizada quando houver redução acentuada de eritrócitos e leucócitos (RADOSTITS et al., 2002), mas sua eficácia é baixa, pois os princípios tóxicos continuam agindo no organismo, além do que seria necessário um volume muito grande de reposição para debelar o problema, o que a tornaria inviável economicamente (MARÇAL, 2003).

O sulfato de protamina (10 ml da solução a 1%) tem sido usado com a finalidade de neutralizar o efeito anticoagulante da heparina, por formar um complexo inativo estável, mas sem sucesso (PEDROSA & BOHLAND, 2008). Outros autores ressaltam o uso de corticosteróides, por se tratar de uma condição inflamatória aguda (TOKARNIA et al., 2000).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram atendidos, na Clínica de Grandes Animais do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP de Botucatu, dois bovinos com sinais clínicos de intoxicação aguda por *Pteridium aquilinum*. O primeiro (animal 1), uma fêmea, mestiça, de um ano de idade, e o outro (animal 2), uma fêmea, Nelore, de três anos de idade.

Segundo relato do proprietário do animal 1, há três dias a vaca apresentava secreção nasal sanguinolenta e dificuldade respiratória. Além deste animal, outros dois de mesma idade apresentavam mesmo quadro clínico e um deles veio a óbito após três semanas de evolução do quadro. Os 120 animais da

propriedade viviam em pasto de 35 alq. com *Brachiaria decumbens*, e recebiam concentrado e sal mineral no cocho. Os animais tinham acesso à mata com presença de samambaia. Na avaliação clínica realizada no HV, o animal apresentava hipomotilidade rumenal, 5% de desidratação, mucosas pálidas, aumento de linfonodos sub-mandibulares e pré-escapulares, presença de úlceras na mucosa nasal e no muflor, além de epistaxe e dispnéia inspiratória com obstrução parcial das vias aéreas superiores. Foi realizada uma traqueostomia de emergência e transfusão sanguínea com sangue total na proporção de 20% da volemia. Medicação a base de florfenicol 20 mg/kg foi realizada devido à neutropenia. Com esses cuidados o animal permaneceu estável por mais 3 semanas quando apresentou quadro de hematidrose ("suor de sangue") sendo sacrificado *in extremis*. O hemograma revelou anemia com severa leucopenia (2.100 / μ l) com 100% de linfócitos e trombocitopenia (30.300 - referência: 100.000 - 800.000) e aumento do fibrinogênio. O exame de medula óssea foi sugestivo de aplasia. A necropsia revelou palidez de órgãos internos, inclusive do sistema nervoso, hidropericárdio, sufusões no epicárdio dos ventrículos, fígado com moderada degeneração, petéquias na mucosa da bexiga e aplasia de medula óssea.

Segundo relato do proprietário do animal 2, este e mais seis (entre 2 e 12 anos) apresentaram apatia, emagrecimento e desidratação, com morte após cinco a sete dias de evolução dos sinais e alguns dos que morreram apresentaram urina escura e/ou hemorragia vaginal. O lote vivia em 40 hectares de *Brachiaria radicans*, *B. brizantha*, onde havia samambaia, erva-de-rato e taquarinha (cavalinha, bambuzinho). Na avaliação clínica, o animal apresentava taquicardia, hipomotilidade rumenal, 5% de desidratação, mucosas aparentes pálidas, com petéquias em mucosa vaginal e ocular, epistaxe, melena e hematoquesia. O hemograma revelou anemia com hipoproteïnemia, possivelmente pela hemorragia e ausência de sua produção pela medula óssea, aumento do fibrinogênio, severa leucopenia (1200 / μ l) com baixa celularidade o que impediu o exame celular diferencial, trombocitopenia (37.875) e tempo de coagulação de 28 minutos (normal: até 15 min.). O perfil hepático e renal revelou apenas discreto aumento da atividade da enzima hepática AST, o que poderia indicar lesão no parênquima hepático, além da diminuição da proteína total sérica (albumina e globulina). A urinálise apresentou proteinúria, sangue oculto e grande quantidade de hemácias livres devido à hemorragia da mucosa vesical. Não foi realizado nenhum tipo de tratamento. A necropsia mostrou hemorragias em serosas dos órgãos cavitários, principalmente em coração (subepicárdica e subendocárdica), baço e bexiga onde havia hemorragias também em mucosa. Congestão e edema pulmonar moderados. Intestino delgado e grosso com grandes coágulos no lúmen.

Nas duas propriedades foi recomendada a retirada dos animais do pasto e a extinção da samambaia como prevenção de novas intoxicações. Foi alertado para o problema de que este tipo de intoxicação é causado principalmente pela brota da *P. aquilinum*, devendo-se tomar cuidado quando da introdução do gado nas pastagens, pois o broto novo pode se misturar ao capim e ser ingerido em grande quantidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diagnóstico da doença é principalmente clínico-patológico. Os sinais clínicos apresentados de epistaxe, mucosas hipocoradas, petéquias em mucosas aparentes, úlceras em mucosas bucal e nasal e melena

/ hematoquesia (TOKARNIA et al., 2000; ANJOS et al., 2008; PEDROSA & BOHLAND, 2008), assim como os resultados laboratoriais de pancitopenia (RADOSTITS et al., 2002; ANJOS et al., 2008), os achados de necropsia e histopatológicos de hemorragias em serosas e mucosas de diversos órgãos e aplasia da medula óssea (TOKARNIA et al., 2000; MARÇAL, 2003; PEDROSA & BOHLAND, 2008) e o relato da presença da planta nas propriedades, confirmaram o diagnóstico de intoxicação por samambaia.

Até o momento nenhuma terapêutica mostrou-se totalmente eficaz (RADOSTITS et al., 2002), valendo-se apenas de medidas profiláticas que são difíceis de serem executadas.

CONCLUSÃO

Este relato de caso mostra a importância do *Pteridium aquilinum*, na pecuária brasileira, sendo dentre as plantas tóxicas uma das maiores causadoras de morte em animais de produção.

REFERÊNCIAS

- ANJOS, B. L.; IRIGOYEN, L. F.; FIGHERA, A. D.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 10, p. 501 – 507, 2008.
- Cruz, G.D.; Bracarense, A.P.F.R.L. Toxicidade da Samambaia (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) para a Saúde Animal e Humana. **Semina. Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 3, p. 249-258, 2004.
- MARÇAL, W. S.; GASTE, L.; NETTO, N. C. R.; MARQUES, M. C. G.; FERNANDES, R. P.; MONTEIRO, A. A. Ocorrência de intoxicação aguda em bovinos pela samambaia (*Pteridium aquilinum*, L. Kuhn) no norte do Paraná-Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 139 - 144, 2001.
- MARÇAL, W. S.; GASTE, L.; REICHERT NETTO, N. C.; MONTEIRO, F. A. Intoxicação aguda pela samambaia (*Pteridium aquilinum*, L. Kuhn), em bovinos da raça Aberdeen Angus. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 77–81, 2002.
- MARÇAL, W. S. A Intoxicação por samambaia em bovinos criados no Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 197-208, 2003.
- PEDROSA, A. P. B.; BOHLAND, E. Efeitos tóxicos da samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos. **+Ruminantes. Revista de Medicina Veterinária**, v. 1, n. 2, 2008.
- RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 9.ed., 2002, 1737 p.
- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000, 320p.

CALCINOSE ENZOÓTICA EM BEZERROS NO AGRESTE MERIDIONAL DE PERNAMBUCO - RELATO DE DOIS CASOS

Alonso Pereira Silva Filho¹, José Augusto Bastos Afonso², Antônio Flávio Dantas³, Franklin Riet-Correa³, José Cláudio de Almeida Souza⁴, Pedro Leopoldo Jerônimo Monteiro Junior⁵, Carla Lopes de Mendonça², Nivaldo Azevedo Costa².

1. Residente da Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco - (UFRPE). E-mail: cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

2. Médico Veterinário, doutor, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns - UFRPE

3. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Campus Patos, UFCG

4. Médico Veterinário, PhD, Professor da Unidade Acadêmica de Garanhuns - UFRPE

5. Aluno de Mestrado do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - UFRPE

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, calcificação intravascular, plantas calcinogênicas.

ABSTRACT

ENZOOTIC CALCINOSIS IN CALVES FROM THE HINTERLAND OF PERNAMBUCO STATE: TWO CASE STUDIES

Enzootic calcinosis has been reported around the world and is associated with ingestion of calcinogenic plants. In Brazil, *Nierembergia veitchii* and *Solanum malacoxylon* have been found to affect sheep in Rio Grande do Sul and cattle in Mato Grosso's Pantanal, respectively. The active principle of these plants is similar to vitamin D. Cases of disseminated intravascular coagulation of unknown etiology are often observed in Mato Grosso State, affecting both cattle and sheep. This work discusses two cases of enzootic calcinosis that occurred in March 2008 in CBG – UFRPE. They were based on clinical and pathological analysis of two semi-extensively reared calves from the hinterland of Pernambuco State. Clinical findings revealed hindquarter incoordination, quickly evolving to prostration in a period of 10 days, and progressive weight loss that resulted in cachexia, hypophonesis, and tachycardia. Many kinds of treatment were used, such as polivitaminics, antimicrobial and antiinflammatory drugs, and mineralization, all of which were not successful in relieving symptoms.

KEYWORDS: Bovine, calcinogenics plants, intravascular calcification.

INTRODUÇÃO

A calcinose enzoótica, doença com quadro de calcificação sistêmica, já foi relatada em diversas regiões do mundo associada ao consumo de plantas que possuem glicosídeos com atividade análoga a vitamina D. No Brasil já foram encontradas a *Nierembergia veitchii* acometendo ovinos no Rio Grande do Sul e a *Solanum malacoxylon* que é responsável pelo “espichamento” em bovinos no Pantanal do Mato Grosso (BOABAID et al., 2006). As duas plantas ocorrem em áreas diferentes, *S. malacoxylon* em lugares baixos, inundados, afetando, sobretudo bovinos e a *N. veitchii* é uma planta rasteira de lugares elevados e distribuição bastante ampla no Rio Grande do Sul, afetando mais ovinos, porém só as áreas onde ela ocorre em maior quantidade correspondem aos locais de incidência da doença (TOKARNIA et al., 2000).

O princípio ativo da *S. malacoxylon*, já foi determinado e trata-se de um glicosídeo esteroidal, que contém como componente ativo a molécula hormonal da vitamina D (1,25 (OH)₂D₃), onde após hidrólise, atua biológica e cromatologicamente como o metabólito ativo da vitamina D. A *N. veitchii* também, tem princípio tóxico com ação biológica semelhante a esta vitamina (TOKARNIA et al., 2000). Essa substância quando ingerida compromete o mecanismo de regulação, e como consequência, quantidades excessivas de CaBP (*calcium binding protein*) são sintetizados e, quantidades elevadas de cálcio e fósforo são absorvidas. A consequência é hipercalcemia e hiperfosfatemia (WASSERMAN, 1978).

A calcificação dos tecidos moles causada pela ingestão de plantas calcinogênicas, assim como na intoxicação pela vitamina D, parece ser o resultado, em primeiro lugar, da ação direta do 1,25 (OH)₂D₃, sobre determinadas células alvo, como as da parede arterial, do miocárdio e sobre as células musculares lisas da parede do estômago e do intestino. Estas células-alvo assim alteradas seriam as responsáveis pela síntese de uma matriz extracelular modificada, a qual criaria condições propícias à mineralização dos tecidos. (BARROS et al. 1981; MORAÑA et al., 1994). Quadros de Calcinose Enzoótica de etiologia indefinida tem sido observados com frequência em áreas de cerrado no Estado de Mato Grosso, afetando bovinos e ovinos sem uma causa bem definida (GASPARETTO et al. 2009).

O objetivo deste trabalho foi descrever os achados clínicos e anatomo-patológicos da calcinose enzoótica em dois bovinos jovens atendidos na Clínica de Bovinos Campus - Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE).

MATERIAL E MÉTODO

Foram avaliados os dados clínicos de dois bovinos com calcinose enzoótica atendidos na CBG – UFRPE, criados semi-extensivamente, oriundos do agreste de Pernambuco, onde se acompanhou a evolução clínica e os achados anatomo-patológicos dos animais. Na anamnese o proprietário relatou que os animais acometidos apresentavam incoordenação dos membros posteriores evoluindo para prostração em um período de 10 dias. O exame clínico, observando todos os parâmetros vitais, foi realizado de acordo com DIRKSEN et al. (1993). Ambos foram necropsiados e amostras teciduais foram coletadas, conservada em formalina a 10% e enviadas para análise histopatológica, onde foram coradas pela técnica de hematoxilina-eosina (HE).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os casos atendidos foram de duas fêmeas da raça holandesa, de aproximadamente um ano de idade, entretanto, segundo SANTOS (1986), a calcificação primária da túnica média é observada em bovinos com mais de 3-4 anos de idade e em cavalos velhos. Tal enfermidade surge em bovinos intoxicados por *S. malacoxylon*, ocorrendo uma acentuada destruição das fibras elásticas da túnica, com desaparecimento das mesmas. Estudos mais recentes, realizados através de experimentos em bovinos de um a dois anos de idade relatam que foram observadas lesões características da enfermidade, embora se acredite que animais adultos sejam mais sensíveis (TOKARNIA et al., 2000).

A doença ocorreu durante o mês de março no agreste pernambucano, salientando que nesta região não é comum encontrar plantas calcinogênicas conhecidas. BARROS et al. (2001), relatam a observação de casos clínicos de calcinose enzoótica por entre os meses de outubro a fevereiro, quando existe maior quantidade da planta *N. veitchii*. Os casos diferem geográfica e sazonalmente em relação aos descritos associados ao consumo de *S. malacoxylon*, que ocorre na época das secas, em áreas alagáveis e argilosas (WORKER & CARRILHO, 1967; DÖBEREINER et al., 1971). Situação como a relatada neste caso é descrita por Gasparetto et al. (2009), que relataram casos clínicos da calcinose em bovinos em propriedades que não havia a presença de plantas calcinogênicas conhecidas.

Nos casos atendidos os animais eram alimentados com pasto nativo (braquiaria, pangola e palma) e concentrado (farelo de milho e mandioca / dois quilos por dia), recebiam suplementação mineral própria para bovinos, eram vermifugados recentemente e vacinados contra clostridioses, raiva e aftosa, foram medicados com vitamina B1, anti-tóxico e dexametazona por 10 dias, sem apresentar melhora clínica. GASPARETTO et al. (2009), observaram aspectos clínicos e patológicos da calcinose enzoótica em área de cerrado no

Estado do Mato Grosso, onde os animais eram criados extensivamente em pastagens extremamente degradadas com predomínio de plantas invasoras nativas, e também não apresentaram resposta ao tratamento com polivitamínicos, antimicrobianos e mineralização.

Nos achados clínicos os animais apresentavam-se em decúbito externo-lateral, agitados, febre, linfonodos pré-escapulares aumentados, áreas de abafamento no campo pulmonar, taquicardia, emagrecimento progressivo evoluindo para caquexia, além de dificuldade de locomoção com andar rígido, ficando muito tempo deitado. Com agravamento do quadro clínico evoluíram para óbito. Sintomatologias semelhantes foram descritas por DOBEREINER et al. (1971) e TOKARNIA et al. (2000), em casos de calcinose enzoótica, e acrescentam que na palpação pode-se perceber a calcificação das artérias carótidas e femurais e, em alguns casos, na auscultação, constata-se uma acentuada insuficiência da válvula mitral ou das semilunares aórticas. Para TOKARNIA et al. (2000), os primeiros sintomas da intoxicação por *S. malacoxylon* são observados poucas semanas após o início da ingestão de pequenas quantidades da planta, enquanto que o quadro de hipercalcemia e hiperfosfatemia ocorrem rapidamente (em horas).

Na macroscopia observou-se que os principais achados se localizavam no sistema cardiovascular e respiratório. Com variáveis graus de deposição de minerais nas artérias, válvulas bicúspide, semilunares do tronco aórtico e miocárdio, apresentando várias placas de tamanho variáveis, superfície irregular, coloração branco-amarelada, textura firme, espessada e sem elasticidade. Essas placas difundiam-se por grande extensão na íntima dos ramos ascendente e descendente do tronco aórtico, corroborando com TOKARNIA et al. (2000) e GASPARETTO et al. (2009), que relataram lesões semelhantes a estas. Entretanto foi observada ainda a deposição de placas inclusive na artéria pulmonar e espessamento do endocárdio ventricular, diferindo do que é relatado na literatura onde não é citado seu comprometimento. BARROS et al. (2001), descrevem a deposição de minerais em todas estas estruturas com exceção da artéria pulmonar e o endocárdio. Foi possível, ainda, observar que houve comprometimento da porção abdominal e torácica da aorta. Semelhantes às lesões descritas por SANTOS (1986), onde caracterizou a presença de placas salientes, confluentes, umbilicadas e com margens elevadas (lesão em concha) nesta artéria.

Microscopicamente havia mineralização nas camadas íntima e porção interna da média da artéria aorta, com áreas irregulares de desprendimento da íntima e fibras elásticas eosinofílicas e fragmentadas. GASPARETTO et al. (2009) e TOKARNIA et al. (2000), descreveram que na íntima e média da aorta, as fibras elásticas apresentavam tumefeitas, eosinofílicas e fragmentadas, apresentando diferentes graus de mineralização degeneradas,

calcificadas e envoltas por reação granulomatosa (linfócitos, plasmócitos, macrófagos e células gigantes multinucleadas) e fibroplasia.

Na macroscopia o parênquima pulmonar apresentava-se com áreas focais irregulares, de consistência firme e coloração amarelada, discretamente porosa e mineralizadas, distribuídas em grande parte nos lobos pulmonares. Microscopicamente observou-se nos pulmões espessamento dos septos interalveolares contendo material basofílico granular ou fragmentado, característico de deposição de cálcio, associado à discreta fibroplasia e infiltrado de linfócitos e plasmócitos. Em algumas áreas os septos interalveolares estão espessados com material eosinofílico e amorfo, além de proliferação de pneumócitos tipo II. Na luz alveolar observaram-se também macrófagos espumosos, células gigantes multinucleadas, algumas fagocitando cálcio, além de áreas multifocais de enfisema alveolar e espessamento dos septos interlobulares. Tais achados foram relatados por TOKARNIA et al. (2000), descrevendo que a calcificação nos pulmões está associada a enfisema pulmonar e por vezes à ossificação, onde ao corte essas áreas apresentam mineralizadas.

CONCLUSÃO

O surgimento da calcinose enzoótica nesta região do Nordeste, onde não é relatada a existência de plantas calcinogênicas conhecidas, reforça a idéia de que algum fator relacionado à ingestão de alimentos ainda desconhecido e com as mesmas características da calcinose por plantas, podem ser responsáveis por esta doença.

REFERÊNCIAS

- BARROS, C.; TOTIN, E.; RECH, R.; ILHA, M.; VALEIKA, S. Exploring global issues in veterinary medicine in southern Brazil - *Nierembergia veitchii*. Março, 2001. Disponível em: <http://www.vet.uga.edu/vpp/NSEP/toxic_plants/POR/Vetch/index.html>. Acesso em: 20 jul. 2009.
- BARROS, S.; TABONE, E.; SANTOS, M.; ANDUJAR, M.; GRIMAUD, J. A. Histopathological and ultrastructural alterations in the aorta in experimental *Solanum malacoxylon* poisoning. **Virchows Archiv. B. Cell Pathology**, Berlin, v. 35, p. 169-175. 1981.
- BOABAID, F. M.; ANTONIASSI, N. A. B; BOURSCHEID, D.; SOARES, L. M.; SANTOS, C. E. P.; NAKAZATO, L.; COLODEL, E. M. Aspectos clínicos e patológicos da calcinose enzoótica de etiologia desconhecida em rebanhos de ovinos no estado de Mato Grosso. In:

CONBRAVET – CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 33. 2006. **Anais...** Cuiabá – MT, 2006.

DIRKSEN, G.; GRUNDER, H. D.; STÖBER, M. Sistema circulatório **In: Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.126. 1993.

DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H.; COSTA, J. B. D.; CAMPOS, J. L. E.; DAYRELL, M. S. “Espichamento”, intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon*, no Pantanal de Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira - Série Veterinária**, Rio de Janeiro, v.6, p. 91-117. 1971.

GASPARETTO N. D.; ARRUDA L. P.; FERREIRA E. V.; BOABAID F. M.; CRUZ R. A. S.; ROCHA P. R. D.; NETO W. S. P.; COLODEL E. M. **Aspectos clínicos e patológicos de calcinose enzoótica em caprinos em áreas de cerrado no Estado de Mato Grosso**. Laboratório de Patolog. Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá Brasil. Disponível em: <http://www.ufmt.br/patologiavet/endivet2008/calcinose_caprino.pdf>. Acesso, 21 jul. 2009.

MORAÑA, J. A.; BARROS, S. S.; DRIEMEIER, D.; FLÔRES, Y. E. Gastropatia em coelhos experimentalmente induzida por planta calcinogênica (*Solanum malacoxylon*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira - Série Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 35-42. 1994.

SANTOS, J. A. Aparelho circulatório **In:___ Patologia especial dos animais domésticos (mamíferos e aves)**. 2.ed., Rio de Janeiro: Guanabara, p. 216-252. 1986.

TOKARNIA C. H.; DÖBEREINER J.; PEIXOTO P. V. Plantas que causam calcificação sistêmica (Calcinose) **In:___ Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, p. 188 – 198. 2000.

WASSERMAN, R. H. The nature and mechanism of action of the calcinogenic principle of *Solanum malacoxylon* and *Cestrum diurnum* and a comment on *Trisetum flavescens*, p. 545-553. **In: KEELER, R. F.; VAN KAMPEN, K. R.; JAMES, L.F. (ed.) Effects of poisonous plants on livestock**. New York: Academic Press, 1978.

WORKER, N. A.; CARRILLO, B. J. “Enteque seco”, calcification and wasting in grazing animals in the Argentine. **Nature**, London, v.215, p. 72 – 74. 1967.

DESEMPENHO DE BOVINOS ALIMENTADOS COM FENO DE *Brachiaria brizantha* OU CANA-DE-AÇUCAR

Flávia Gontijo Lima¹, Carolina dos Santos Ribeiro², Diogo Di Francescantonio Andrade², Victor Yunes Guimarães², Gustavo Lage Costa¹, Marcus Luciano Rezende¹, Pedrita Carvalho Ferreira Assunção², José Neuman de Miranda Neiva³, Maria Clorinda Soares Fioravanti⁴

1. Acadêmicos do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

2. Acadêmicos do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

3. Professor Doutor da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins

4. Professora Doutora da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás Caixa Postal 131, CEP 74001-97, Goiânia-GO, Brasil. E-mail: clorinda@vet.ufg.br

PALAVRAS-CHAVE: Braquiária, Nelore, ganho de peso.

ABSTRACT

PERFORMANCE OF CATTLE FED *BRACHIARIA BRIZANTHA* HAY OR SUGAR CANE

Cattle herds from Brazil usually have about 170 million animals and their main food source is *Brachiaria* pastures. In beef cattle, weight loss or reduction in weight gain may be due to clinical and subclinical hepatic diseases. Saponins present in *Brachiaria* spp. may be the cause of liver damage. This study assesses 12 eight-month-old Nelore calves fed *B. brizantha* hay and sugar cane by observation of the performance and weight gain, carcass dressing, and body condition score. They were randomly allocated to one of these two experimental diets: hay group (6 calves fed *B. brizantha* hay and concentrates), and sugar cane group (6 calves fed sugar cane and concentrates). The weight gain of animals in the second group (44,42kg) was significantly greater ($p < 0,05$) than those in the first group (12,33kg). Carcass dressing and body score was similar in both groups. Furthermore, results revealed a better performance of cows fed *B. brizantha* hay.

KEYWORDS: Nelore, tropical grass, weight gain.

INTRODUÇÃO

O rebanho bovino nacional possui cerca de 170 milhões de animais dos quais 30% se encontra na região Centro-Oeste. O Estado de Goiás é o segundo em número de confinamentos no Brasil (ANUALPEC, 2009). As cadeias de carne e leite têm nas pastagens a principal fonte de alimento para o rebanho, onde se destacam as gramíneas do gênero *Brachiaria* (ANDRADE et al., 2004).

No Brasil Central, bovinos engordados a pasto apresentam bom desenvolvimento na estação das chuvas e fraco desempenho na época seca, quando mantém ou até mesmo perdem peso, devido à baixa produção e má qualidade das pastagens (THIAGO & COSTA, 1994). A perda em peso ou a redução no ganho em peso nos animais de produção também pode ser decorrente de enfermidades clínicas e subclínicas que afetam o estado de higidez do animal, por vezes podendo causar a morte. Dentre estas enfermidades destacam-se as que causam problemas hepáticos nos animais, como a fotossensibilização hepatógena (FIORAVANTI, 1999).

Alterações histológicas de colangiohepatopatia associada a cristais semelhantes às encontradas nas intoxicações por *Panicum* sp, *Nartheceum ossifragum* (MILES et al., 1991), *Agave lecheguilla* e *Tribulus terrestris* (JACOB & PEET, 1987) têm sido observadas em animais que desenvolvem fotossensibilização em pastagens de *Brachiaria* e também em animais saudáveis. Essas plantas contêm saponinas esteroidais litogênicas, o que leva alguns pesquisadores a acreditarem que as saponinas presentes nas plantas do gênero *Brachiaria*, também, sejam as responsáveis pela enfermidade (LEMOS et al., 1998).

O objetivo deste estudo foi a avaliação de bovinos alimentados com feno de *Brachiaria brizantha* e cana-de-açúcar por meio de determinação do desempenho, com estabelecimento do ganho de peso e rendimento de carcaça.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 12 bovinos da raça Nelore, com oito meses de idade, que constituíram dois grupos experimentais: grupo feno (GF) – seis bovinos alimentados com volumoso feno de *Brachiaria brizantha* e grupo cana (GC) – seis bovinos alimentados com volumoso cana-de-açúcar. Os animais permaneceram durante o período experimental alojados por grupo em baias de chão batido, alimentados com volumoso (feno ou cana), concentrado

(ração), suplementação mineral e água. Foram submetidos a manejo sanitário (vacinação, tratamento com ecto e endoparasiticidas).

O estudo foi realizado na instalação experimental de ruminantes da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, localizada na cidade de Goiânia-Goiás, durante o período de novembro de 2008 a fevereiro de 2009.

Os bovinos foram submetidos a um período de adaptação de sete dias. Para o GF o volumoso foi o feno de *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich.) Stapf. cv. Marandu e para o GC a cana-de-açúcar *in natura* triturada. O concentrado, composto por milho grão e farelo de soja, foi balanceado para atender as exigências nutricionais dos animais e minimizar as diferenças entre as duas dietas, para que fosse nutricionalmente o mais semelhante possível. A quantidade de alimentos fornecida baseou-se em 2% do peso vivo médio dos animais de cada grupo.

O feno de *Brachiaria brizantha* foi produzido e armazenado na Escola de Veterinária da UFG, após a análise da ausência de esporos do fungo *Pithomyces chartarum*.

Os animais eram alimentados duas vezes ao dia, às 8:00h e 16:00h, e as sobras de alimentos retiradas e pesadas antes do próximo fornecimento. A suplementação mineral era feita em cocho separado fornecida à vontade, assim como a água.

As pesagens ocorreram sob jejum alimentar prévio de 14 horas. Os bovinos foram pesados nos dias zero (D0), dia 21 (D21), dia 35 (D35), dia 49 (D49), dia 63 (D63) e dia 84 (D84), possibilitando a análise de ganho de peso por período e total. Após o abate no dia 84, a carcaça foi pesada para obtenção do peso morto e posterior cálculo do rendimento de carcaça.

O escore de condição corporal (ECC) foi medido obedecendo ao mesmo cronograma das pesagens. O ECC foi medido numa escala de 1 a 9, conforme descrito por RICHARDS et al. (1986). Para comparar os resultados entre grupos foi utilizado o teste Mann-Whitney.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os bovinos adaptaram-se satisfatoriamente às condições ambientais e de manejo alimentar, demonstrando comportamento fisiológico para a espécie ao longo de todo o experimento.

A braquiária utilizada para a produção do feno e feno depois de pronto não apresentaram esporos do fungo *Pithomyces chartarum*. A contagem de esporos do fungo na área de pastagem destinada à produção do feno, bem como do feno fez-se necessária uma vez que a fotossensibilização hepatógena também é atribuída à esporidesminotoxicose.

Os animais do grupo feno (GF) apresentaram peso médio inicial (D0) de 127,3kg ($\pm 14,29$) e peso final (D84) de 139,7kg ($\pm 22,31$). O ganho de peso total foi de 12,33kg ($\pm 11,57$), o ganho de peso diário foi de 0,15kg ($\pm 0,14$) e o rendimento de carcaça 41,84 % ($\pm 1,47$). O peso inicial médio dos animais do grupo cana (GC) foi de 128,42kg ($\pm 8,9$), o peso final foi 172,83kg ($\pm 11,74$), o ganho de peso total foi 44,42kg ($\pm 6,19$), o ganho de peso diário foi de 0,53kg ($\pm 0,07$) e o rendimento de carcaça foi de 40,27% ($\pm 1,57$).

O GC apresentou maior peso que o GF em todos os períodos. No último período (D84), os valores do GC foram significativamente superiores aos do GF ($P < 0,05$). O ganho de peso total e diário do GC também foi significativamente superior ao GF ($P < 0,05$). O rendimento de carcaça foi semelhante para os dois grupos. O escore de condição corporal (ECC) do GF variou de 2 a 5. No GC a variação foi de 3 a 6.

O peso médio dos animais ao final do experimento, aos 11 meses de idade, foi semelhante ao peso a desmama (seis meses) para animais da mesma raça, que é de 160,8kg (SOUZA et al., 2000). Demonstrando que ambos os grupos não obtiveram desempenho satisfatório ao longo do experimento, possivelmente porque iniciaram o experimento com peso abaixo do considerado ideal para a raça.

A porcentagem de alimento ingerido em relação à quantidade fornecida no GC foi de 91,12% enquanto que o GF foi de 86,78%, indicando que o GC apresentou maior ganho ingestão de alimentos ao longo do experimento. O GC apresentou maior média de peso ao final do experimento, provavelmente devido à maior ingestão de alimento, pois, devido ao alto teor de umidade, a cana de açúcar possui maior palatabilidade em relação ao feno de braquiária, aumentando o consumo da mesma (SOARES-FILHO, 1999).

As futuras análises da bioquímica clínica e histopatologia hepática destes animais indicarão se a diferença de ganho de peso entre os grupos foi devido à palatabilidade da dieta ou à intoxicação pela saponina presente no feno de *Brachiaria brizantha*.

CONCLUSÕES

Bovinos alimentados com feno de *Brachiaria brizantha* apresentam desempenho inferior quando comparados a bovinos alimentados com cana-de-açúcar.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro e a CAPES pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R. P.; BOAS, H. D. V.; SILVEIRA, G. C.; PAIVA, L. A **parceria Embrapa-Unipastos e seu impacto na pesquisa e desenvolvimento de pastagens tropicais do Brasil**. [online], 2004. Matéria Técnica da Embrapa UNIPASTO. Disponível em: <http://www.abrasem.com.br>. Acesso em 20 de agosto de 2006.
- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: Angra FNP Pesquisas, 2009. 360p.
- FIORAVANTI, M. C. S. **Incidência, avaliações clínica, laboratorial e anatomopatológica da intoxicação subclínica por esporidesmina em bovinos**. 1999. 256f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- JACOB, R. H.; PEET, R. L. Poisoning of sheep and goats by *Tribulus terrestris* (caltrop). **Australian Veterinary Journal**, Queensland, v. 64, n. 9, p. 288-289, 1987.
- LEMOES, R. A. A.; NAKAZATO, L.; HERRERO JR, G. O.; SILVEIRA, A. C.; PORFÍRIO, L. C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 507-510, 1998.
- MILES, C. O.; MUNDAY, S. C.; HOLLAND, P. T.; SMITH, B. L.; EMBLING, P. P.; WILKINS, A. L. Identification of a sapogenin glucuronide in the bile of sheep affected by *Panicum dichotomiflorum* toxicosis. **New Zealand Veterinary Journal**, Palmerston North, v. 39, p. 150-152, 1991.
- RICHARDS, M. W.; SPITZER, J. C.; WARNER, M.B. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.62, p.300-3006, 1986.
- SOARES-FILHO, C. V. **Palatabilidade e seus efeitos na produção de bovinos**. 1999. 24f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.
- SOUZA, J. C.; RAMOS, A. A.; SILVA, L. O. C.; EUCLIDES-FILHO, K.; ALENCAR, M. M.; WESCHSLER, F. S.; FERRAZ-FILHO, P. B. Fatores do ambiente sobre o peso ao desmame de bezerros da raça nelore em regiões tropicais brasileiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.5, p. 881-885, 2000.
- THIAGO, L. R. L. S.; COSTA, F. P. Confinamento na prática: sistemas alternativos. **Comunicado Técnico Embrapa Gado de Corte**, n.50, 1994.

**SINAIS NERVOSOS E MORTE ASSOCIADOS A ACARICIDA CONTAMINADO
POR TORDON[®] (2,4 - D, 64/240 TRIETANOLAMINA) EM BEZERROS, NO
MUNÍCIPIO DE GUARAPARI, NO ESPÍRITO SANTO, BRASIL.**

Maria Aparecida da Silva¹, Talita Maria Pimenta de Paoli¹, Tayse Domingues de Souza²,
Leandro Abreu da Fonseca³, Poliana Salvador Alves Domingues⁴ e Graziela Barioni⁵

1. Programa de Residência em Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha.

2. Professora, MSc, Patologia Animal, Centro Universitário Vila Velha.

3. Professor, MSc, Patologia Clínica, Centro Universitário Vila Velha.

4. Médica Veterinária Autônoma, Piúma, Espírito Santo, Brasil.

5. Professora, MSc, PhD, Clínica de Ruminantes, Hospital Veterinário “Professor Ricardo Alexandre Hippler”,
Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil, CEP: 29.102-606

E-mail: gbarioni@uvv.br (autor correspondente)

PALVRAS-CHAVE: Alterações neurológicas, herbicida, lesão hepática, lesão renal.

ABSTRACT

**NERVOUS SIGNS AND DEATH DUE TO ACARICIDE CONTAMINATED BY
TORDON 2,4-D 64/240 TRIETHANOLAMINE IN CALVES FROM GUARAPARI,
ESPÍRITO SANTO, BRAZIL**

This study investigates a type of neurological syndrome in two calves. They were sprayed with high cis-cypermethrin and chlorpyrifos after the same pump sprayer had been used to apply tordon herbicide to pasture. Clinical findings revealed compulsive licking of hair coat, anorexia, diarrhea, dyspnea, depression, collapse, pale mucous membranes, dehydration, hyperthermia, rotation of the eyeball, third eyelid protrusion, enophthalmos, ventromedial strabismus, costo-abdominal breathing with increased expiratory effort, drooling, ventral position of head during walk, mild incoordination, impaired proprioception related to thorax and pelvis rotation, miosis, as well as absence of consensual and bilateral pupillary reflex, suggesting lesion of the mesencephalon. Laboratory findings indicated reduction in MCHC, absolute lymphocytosis, relative and absolute monocytosis; on the other hand, urea, creatinine, AST, alkaline phosphatase and GGT levels increased. As regards pathological findings, there was evidence of cerebral congestion and neuronal necrosis, hematoma in rete mirabile, multifocal necrosis and hemorrhage in liver and kidneys, multifocal, coagulative necrosis of the renal tubular epithelium, hyaline degeneration, and hypertrophic nuclei. One of the calves showed severe secondary bronchopneumonia with fibrous adhesions between the pleural and pericardial sac. The lesions observed in these cases should not be attributed to the chemicals' individual reactions. It is the combination of acaricide with tordon that may have enhanced each substance's toxicity, leading to poisoning and killing of the calves.

KEYWORDS: Herbicide, liver damage, neurological disorders, renal damage.

INTRODUÇÃO

Em bovinos, os distúrbios do sistema nervoso central (SNC) constituem um grupo importante de enfermidades. Os países exportadores de carne como é o caso do Brasil devem estar, por exigência das autoridades sanitárias internacionais, capacitados a identificar as doenças que afetam o SNC de bovinos. Isso principalmente para evidenciar que o rebanho está livre da BSE (SANCHES et al., 2000).

O tordon[®] é uma associação entre dois herbicidas: o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) e o picloram (ácido 4-amino-3,5,6-tricloropicolínico) e seus sais de potássio (C₆H₂Cl₃KN₂O₂). Possui ação semelhante ao “Agente Laranja” usado como arma química pelos norte-americanos na guerra do Vietnã como desfolhante. (REIS, 1991).

A ação do 2,4-D causando miopatias graves a partir da inibição do potencial elétrico da membrana, diminuindo a recaptação de Ca⁺⁺ e aumentando sua concentração intracelular, é relatada por PEREIRA (1991). Segundo PEREIRA, (1991) o músculo se contrai e, devido a ação direta do 2,4-D sobre a cadeia respiratória, a mitocôndria tem uma diminuição dos níveis de ATP, sem capacidade de manter os níveis normais de recaptação de Ca⁺⁺, o que impede o relaxamento das fibras musculares. Este processo é dependente de ATP e Ca⁺⁺, podendo levar ao extremo de uma paralisia muscular (tetania) seguida de morte (BERWICK, 1970) ou apenas opistótono (contração tetânica em arco) momentâneo (BUCHER, 1946).

Segundo BUCHER (1946) pode aparecer opistótono (contração tetânica em arco) momentaneamente em animais intoxicados com 2,4-D, através de uma injeção subcutânea de 150 a 200 mg/kg, e membros posteriores são comumente mais nocivamente afetados do que membros anteriores. Três pessoas (dois homens com 52 e 65 anos de idade e uma mulher com 50 anos) foram hospitalizadas com sintomas progressivos de dor, parestesias e paralisias graves, algumas horas após o manuseio do 2,4-D para matar ervas daninhas (GOLDSTEIN et al., 1959).

Segundo MENDES et al. (2007) a associação feita entre os princípios ativos do carrapaticida (cipermetrina high-cis e clorpirifós) tem seu efeito acaricida potencializado. Entretanto, nas doses recomendadas, não é relatada toxicidade.

O presente trabalho relata um surto de mortalidade em bezerros com sinais nervosos associado a aplicação de carrapaticida cipermetrina high-cis e clorpirifós contaminado por tordon[®] em uma propriedade localizada no município de Guarapari, ES.

MATERIAL E MÉTODOS

Bezerros de uma propriedade rural com pecuária leiteira, localizada no município de Guarapari – Espírito Santo, foram examinados e posteriormente encaminhados ao setor de Clínica de Grandes Animais do Hospital Veterinário “Professor Ricardo Alexandre Hippler”(HV).

Foram realizados: exame físico com atenção ao exame neurológico, hemograma, bioquímico, exame microbiológico e exame do líquido. Após a morte de dois bezerros, foram realizados necropsia e coleta de fragmentos de diversos órgãos para exame histopatológico, processados segundo técnicas de rotina e corados por hematoxilina e eosina. Amostras de tecido nervoso foram enviadas para diagnóstico de raiva no Instituto Biológico do Estado do Espírito Santo - IBEEs.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A anamnese revelou que há quatro anos o número de animais que morrem na propriedade vem aumentando, e que atualmente morrem cerca de seis bezerros por mês. Na semana da consulta, em um período de três dias, morreram sete bezerros com idade entre um mês e dois anos. Os animais são vacinados apenas para clostridiose. O controle de ectoparasitos é realizado com a aplicação de diferentes compostos acaricidas, utilizando-se a mesma bomba de aspersão empregada para a aplicação de herbicida na propriedade. No mesmo dia em que se iniciou a sintomatologia nervosa nos animais relatados neste trabalho, havia sido realizada a aplicação de carrapaticida (cipermetrina high-cis e clorpirifós) nos bezerros, com a mesma bomba de aspersão empregada para aplicação do herbicida tordon[®] na propriedade no dia anterior.

À inspeção, observou-se que vários animais apresentavam sintomatologia nervosa de incoordenação, lambar compulsivo da pelagem e hábito de ficar próximos à água, associado a incapacidade de ingestão hídrica adequada.

Um bezerro necropsiado na propriedade apresentou congestão cerebral, hemorragia multifocal em rins e piloconcreções em rúmen.

Uma fêmea, mestiça, de um mês de idade, apresentava sintomatologia nervosa avançada, e lambar compulsivo da pelagem, sendo encaminhada ao HV. O exame clínico revelou: estado nutricional ruim, ulceração de pele em focinho, lábio, orelha esquerda e membro pélvico esquerdo; anorexia, sialorréia e presença de úlceras em cavidade oral; diarreia, mucosas pálidas, desidratação de 10%, hipertermia (39,9° C), lacrimejamento sem lesão aparente em córnea; dispnéia, respiração costoabdominal com esforço na expiração, à

auscultação pulmonar havia aumento ventral e bilateral na intensidade de crepitação fina. Ao exame neurológico: depressão, prostração, cabeça posicionada ventralmente ao caminhar, discreta incoordenação, propriocepção diminuída em membros torácicos e pélvicos, com maior acentuação para os membros direito; protusão de terceira pálpebra, enoftalmia, estrabismo ventro-medial, miose, ausência bilateral de reflexo pupilar e reflexo pupilar consensual, sugerindo lesão em mesencéfalo. Os achados laboratoriais foram: no hemograma foi possível observar: CHCM diminuído (26,9%), leucocitose (30200/ μ l), linfocitose absoluta (13590/ μ l) e monocitose relativa (23%) e absoluta (6946/ μ l). No bioquímico: uréia (161,9 mg/dl), creatinina (3,0 mg/dl), AST (137,9 UI), fosfatase alcalina (253,6 UI/l), GGT (42,4 UI/l) estavam aumentadas. Ao analisar o líquido, este não apresentou alterações nem no exame citológico nem no exame microbiológico. À necropsia deste animal, os achados macroscópicos foram: exame externo: estado nutricional ruim, lesão avermelhada medindo 3 x 1 cm na pele da região de fêmur esquerdo; úlcera com área central necrótica, medindo cerca de 1 x 0,5 cm na lateral esquerda da língua; úlcera variando de 1 a 5 mm nos lábios superior e inferior; região perianal com presença de fezes amarela e pastosa. Exame interno: congestão cerebral; hematoma em *rete mirabile*; saco pericárdico aderido a pleura visceral; pleura visceral aderida a pleura parietal; presença moderada de conteúdo caseoso em traquéia; acentuada hepatização pulmonar; presença acentuada de exsudato caseoso em brônquios; baço diminuído de tamanho; presença de tricobenzoares em rúmen; duas úlceras de 5 mm de diâmetro na mucosa ruminal; hiperemia leve na mucosa de abomaso; hiperemia leve na mucosa de duodeno; áreas piramidais pálidas com ápice hemorrágico estendendo-se de córtex a medular renal em rins direito e esquerdo (infartos); conteúdo mucopurulento em bexiga. Os achados microscópicos foram: necrose coagulativa em pele e mucosa multifocal de lábios, face orelha e língua; necrose neuronal multifocal disseminada em encéfalo e neurônios dos gânglios de Gasser; presença de plugues de fibrina intravascular em cérebro; congestão e hemorragia em *rete mirabile*; nos pulmões, congestão moderada a acentuada e hemorragia leve, necrose multifocal moderada, plugues de fibrina intravascular, presença de exsudato fibrinoso moderado, infiltrado inflamatório misto alveolar e bronquial leve, presença moderada de colônias bacterianas compostas por cocos, caracterizando broncopneumonia fibrinosa aguda; fígado, congestão leve e necrose multifocal discreta e mediozonal, presença de plugues de fibrina intravascular; baço, hiperplasia linfóide moderada; intestino, presença de plugues de fibrina intravasculares; rim, congestão moderada e hemorragia leve multifocal; necrose coagulativa tubular multifocal, mais acentuada em túbulos contorcidos proximais, degeneração hialina tubular proximal difusa grave, hipertrofia nuclear epitelial tubular renal

multifocal. A presença de plugues de fibrina em sistema nervoso central, fígado, pulmão e intestino, é compatível com coagulação intravascular disseminada (CID). A *causa mortis* foi determinada pela CID, associada a falência múltipla de órgãos.

O exame de raiva realizado no tecido nervoso de ambos os animais foi negativo, tanto na prova de imunofluorescência quanto na de inoculação direta. Em estudo realizado por Sanches et al. (2000), a raiva foi responsável por aproximadamente 50% das mortes dos bovinos. Portanto, é de extrema importância a consideração da raiva no diagnóstico diferencial das doenças do sistema nervoso central dos bovinos, especialmente diante da ausência de vacinação nesta propriedade. Ainda segundo SANCHES et al. (2000), outras importantes encefalites virais de bovinos a serem consideradas como diagnósticos diferenciais são a febre catarral maligna e a herpesvirose bovina, as quais foram descartadas nos casos relatados devido a total ausência de inflamação nas secções de diferentes áreas dos tecidos nervosos examinados microscopicamente.

GIACOMITTI, (1995) em seu estudo constatou que camundongos com sintomatologia nervosa devido à intoxicação por tordon[®] não apresentaram alterações morfológicas do tecido cerebral, discordando dos achados desse estudo, que demonstraram necrose neuronal disseminada grave, o que provavelmente causou a sintomatologia nervosa nos animais.

O mecanismo de ação do 2,4-D descrito por BUCHER (1946), BERWICK (1970) e PEREIRA (1991), está relacionado a ação direta sobre a cadeia respiratória celular, com diminuição dos níveis de ATP e acúmulo intracelular de Ca^{++} , mecanismos sabidamente responsáveis pela ocorrência de necrose coagulativa celular, lesão observada no sistema nervoso central, pele, rins e fígado dos animais examinados.

Segundo MENDES et al. (2007) a associação entre os princípios ativos do carrapaticida (cipermetrina high-cis e clorpirifós) tem seu efeito acaricida potencializado. O uso da mesma bomba costal com resíduos de Tordon[®] para a aplicação do carrapaticida pode ter ocasionado efeito aditivo de toxicidade, causado a sintomatologia severa observada.

CONCLUSÃO

Os achados clínicos, juntamente com a anamnese, e os achados anatomopatológicos foram imprescindíveis para o diagnóstico de intoxicação por tordon[®]. Os achados macro e microscópicos foram característicos de lesão anóxica, típica de mecanismos que interferem com a produção de ATP celular. É de fundamental importância que se utilizem os instrumentos adequados ao manejo dos animais e sejam tomados os devidos cuidados de

biossegurança ao se aplicar compostos tóxicos agropecuários, tanto para garantir a integridade dos animais quanto das pessoas que os manuseiam.

REFERÊNCIAS

BERWICK, P. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid poisoning in man. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 214, n. 6, p. 1114-17, 1970.

BUCHER, N.L.R. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on experimental animals. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 63, p. 204-205, 1946.

GIACOMITTI, P. **Efeitos do herbicida “Tordon 2,4-d 64/240 trietanolamina br” em filhotes de mães contaminadas durante a gestação e lactação**. 1995. Dissertação. (Mestrado em Ciências Morfológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

GOLDSTEIN, N. P.; JONES, P. H.; BROW, J. R.; ROCHESTER, M. Peripheral neuropathy after exposure to an ester of dichlorophenoxyacetic acid. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.7, n.10, p.1306-09, 1959.

MENDES, M. C.; LIMA, C. K. P.; PRADO, Â. P. Determinação da frequência de realização de bioensaios para o monitoramento da resistência do carrapato *Boophilus microplus* (acari: ixodidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 2, p. 87-93, 2007.

PEREIRA, L. F. **Efeitos do herbicida Tordon 2,4-D 64/240 trietanolamina BR sobre o metabolismo energético de mitocôndrias de fígado e córtex renal**. 1991. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

REIS, J. Norte-americanos discutem uso do componente do "agente laranja". **Folha de São Paulo**, 15 de março de 1991.

SANCHES, A. W. D.; LANGOHR, I. M.; STIGGER, A. L.; BARROS C. S. L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 113-118, 2000.

INDUÇÃO DE NECROSE CEREBROCORTICAL EM BEZERROS COM DIETA RICA EM ENXOFRE

Paulo Henrique Jorge da Cunha¹, Peres Ramos Badial², José Paes de Oliveira Filho², Didier Quevedo Cagnini², Ana Claudia Gorino², Mariana Fontanetti Marinheiro², Renée Laufer Amorim², Alexandre Secorun Borges²

1- Departamento de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia (Campus II), Caixa postal 131, Goiânia - GO. CEP: 74001-970.

E-mail: phcunhavet@yahoo.com.br (autor correspondente)

2 - Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP - Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior s/n, Botucatu - SP, Brasil.. CEP: 18618-000

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, gás sulfídrico ruminal, polioencefalomalacia.

ABSTRACT

EXPERIMENTAL CEREBROCORTICAL NECROSIS IN CALVES FED A HIGH SULPHUR DIET

Polioencephalomalacia (PEM) is a common degenerative neurologic disease of ruminants around the world. This study evaluates clinical parameters, ruminal hydrogen sulfide concentrations and histopathological features of 6 calves weighing 120 kg and fed sulphur supplements with 0,5% of diet dry matter. Body temperature measurements as well as respiratory and cardiac rates remained within the normal range. Ruminal hydrogen sulfide levels increased after ingestion of the experimental diet. One animal showed severe neurologic signs. Necropsy findings of 2 calves revealed necrosis of cerebrocortical neurons. Clinical and histopathological analyses reported high levels of hydrogen sulfide, confirming the induction of neuronal necrosis in calves with dietary supplementation of sulphur.

KEYWORDS: Bovine, polioencephalomalacia, ruminal sulfide.

INTRODUÇÃO

PEM é uma síndrome cerebrocortical degenerativa dos ruminantes e o termo é utilizado para descrever uma alteração morfológica caracterizada por amolecimento (malacia) da substância cinzenta (polio) do encéfalo (GOULD, 2000).

A primeira descrição da PEM foi em 1956 e durante os 25 anos subsequentes, a etiologia foi atribuída à deficiência de tiamina associada à alta ingestão de grãos na ração (GOULD, 2000). Pesquisas têm indicado que a PEM não apresenta somente uma etiologia única, pois vários fatores têm sido associados à sua ocorrência, tais como, alterações no metabolismo da tiamina, intoxicação por chumbo, privação de água e/ou intoxicação por cloreto de sódio, ingestão excessiva de enxofre (GOULD, 2000), infecção pelo herpesvirus bovino tipo 5 e intoxicação por *Phalaris* spp. (BARROS et al., 2006).

As principais fontes de enxofre relatadas que ocasionaram PEM foram melão e uréia (MELLA et al., 1976), aditivos alimentares como o gesso (RAISBECK, 1982), água com sulfatos (HAMLEN et al., 1993), subprodutos de grãos (NILES et al., 2002) e cevada (KUL et al., 2006).

O diagnóstico da PEM decorrente de dietas ricas em enxofre deve ser realizado com base na epidemiologia, quadro clínico, na dosagem do teor de gás sulfídrico ruminal, do enxofre na dieta e pelas alterações macroscópicas e microscópicas no SNC (GOULD, 2000).

O presente trabalho avaliou os parâmetros clínicos e determinou os valores da concentração do sulfeto de hidrogênio ruminal e os achados histopatológicos de bovinos mestiços suplementados com 0,5% de enxofre na matéria seca visando induzir necrose cerebrocortical.

MATERIAL E METODOS

Foram utilizados seis bezerros mestiços com idade aproximada de sete meses e peso vivo médio de 120 Kg, sendo mantidos durante todo o período experimental em baias individuais destinada para pesquisa de animais de médio porte da Clínica de Grandes Animais do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ/UNESP/Botucatu).

O protocolo de intoxicação foi adaptada de SAGER et al. (1990) com as modificações descritas a seguir. O período experimental foi dividido em três fases. A fase 1 constituiu a adaptação dos bovinos com suplementação exclusiva de feno por um período de quatorze dias, enquanto a Fase 2 compreendeu um período de sete dias de transição do feno para ração, retirando-se 1 Kg do feno/dia/bezerro e adicionando-se 1 Kg da ração/dia/bezerro. Na ultima fase (fase 3), os animais receberam durante quatorze dias exclusivamente ração.

A ingestão do feno coast-cross (*Cynodon dactylon*) foi *ad libitum*, enquanto o consumo da ração foi de no máximo 2,5% do peso vivo. Como fonte de enxofre foi adicionada diariamente à ração sulfato de sódio totalizando 0,5% de enxofre na matéria seca.

A análise bromatológica do feno de coast-cross (*Cynodon dactylon*) (91,07% matéria seca; 10,32% proteína bruta; 1,11% extrato etéreo; 2,47% minerais; 42,6% fibra bruta; 113,50% extrato não nitrogenado; 53,37% nutrientes digestíveis totais; 85,49% fibra detergente neutra; 43,48% fibra detergente ácida) e da ração (90,45% matéria seca; 21,19% proteína bruta; 4,31% extrato etéreo; 10,7% minerais; 3,92% fibra bruta; 59,88% extrato não nitrogenado; 87,27% nutrientes digestíveis totais; 29,34% fibra detergente neutra; 13,25% fibra detergente ácida) foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da FMVZ/UNESP/Botucatu.

As análises de elementos minerais do feno de coast-cross (*Cynodon dactylon*) (14 g/Kg de nitrogênio, 1,1 g/Kg de fósforo, 15 g/Kg de potássio, 2 g/Kg cálcio, 1,0 g/Kg de magnésio, 2,6 g/Kg de enxofre, 14 mg/Kg de boro, 9 mg/Kg de cobre, 190 mg/Kg de ferro, 156 mg/Kg de manganês e 16 mg/Kg de zinco) e da ração (3,95 g/Kg de fósforo, 18 g/Kg de potássio, 3 g/Kg cálcio, 1,5 g/Kg de magnésio, 1,5 g/Kg de enxofre, 12,5 mg/Kg de boro, 462 mg/Kg de ferro e 102,5 mg/Kg de manganês) foram realizadas, respectivamente, nos Laboratórios de Nutrição Mineral de Plantas da FMVZ/UNESP/Botucatu e no Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo Ltda. A dosagem de enxofre da água (11 mg/L) do poço semi-artesiano foi conduzida no Laboratório de Fertilizantes e Corretivos da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP/Botucatu.

Os bezerros foram examinados na fase 1 no primeiro, sétimo e décimo quarto dias, na fase 2 no sétimo dia e na fase 3 no sétimo e décimo quarto dias, porém, eram observados diariamente visando detectar a presença de sinais específicos de encefalopatia.

As dosagens do sulfeto de hidrogênio ruminal foram realizadas nas fases 1 e 2 semanalmente, enquanto na fase 3 no terceiro, sétimo, décimo e décimo quarto dias. A técnica utilizada foi adaptada de GOULD et al. (1997) com as modificações descritas a seguir. Inicialmente foi realizada a tricotomia da fossa paralombar esquerda e anti-sepsia com iodopovidona (PVPI), sendo que a punção ruminal foi realizada no ponto médio da porção mais dorsal da fossa paralombar esquerda utilizando-se agulha do cateter intravenoso 14G sem a cânula externa de teflon. Em seguida, foi encaixado ao conector da agulha um equipo intravenoso com 15 cm de comprimento, cortando e desprezando-se a extremidade com o gotejador. A ponta cortada do equipo adaptado foi acoplada ao tubo colorimétrico de dosagem de gás sulfídrico, que já estava previamente inserido na bomba manual de vácuo (modelo AP-20S, Sensidyne®, Florida, USA). As mensurações foram realizadas de acordo com o manual do fabricante da bomba de vácuo, padronizando em 100 mL de gás para valores entre 25 a 1.000 ppm (modelo 120 SF, Sensidyne®, Florida, USA) e de 1.000 a

40.000 ppm (modelo 120 SH, Sensidyne[®], Florida, USA) de sulfeto de hidrogênio com tempo de amostragem de 1,5 minutos.

Após a morte natural ou eutanásia foi realizada a necrópsia, onde foram registradas as alterações macroscópicas. No exame histopatológico as amostras do SNC foram fixadas em formol tamponado a 10%, submetidos à desidratação em soluções crescentes de álcoois, diafanização em xilol, inclusão em parafina, cortadas com 5 µm de espessura e coradas pelo método de hematoxilina-eosina (HE).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores da temperatura corpórea, frequência cardíaca e respiratória permaneceram dentro da faixa de normalidade para a espécie bovina, independente da fase experimental. A hipomotricidade ruminal observada na fase 3 foi ocasionada pelo fornecimento de uma dieta contendo exclusivamente ração. A motricidade ruminal é estimulada pela presença de fibra efetiva e o fornecimento de uma dieta sem qualquer tipo de volumoso e com FDN baixo, como observado, proporcionou baixa motricidade ruminal (RADOSTITS et al., 2007).

Os valores da dosagem de gás sulfídrico ruminal da fase 1 na primeira e segunda colheitas foram inferiores a 500 ppm, sendo considerados por GOULD (2000) como normais. Já na terceira colheita a média e o desvio padrão do gás sulfídrico ruminal aferido foi de $1.171,6 \pm 1.013,97$ ppm, ou seja, elevados para bovinos alimentados somente com feno sem suplementação de sulfato de sódio e com concentração de enxofre na matéria seca dentro dos valores normais pelo NRC (2005).

Os resultados observados da determinação do gás sulfídrico ruminal da fase 2 ($803,33 \pm 610,4$ ppm) e da Fase 3 ($3.750 \pm 341,17$ ppm) foram acima dos valores normais (GOULD, 2000). Estes resultados associados com as concentrações de enxofre na dieta (5.000 mg/Kg na matéria seca) e na água (11 mg/L), indicaram que a ingestão dos bovinos estava acima do nível recomendado pelo NRC (2005), criando condições favoráveis para ocorrência da necrose cerebrocortical nos bovinos confinados.

No sexto dia da fase 2 um bezerro com dosagem de gás sulfídrico ruminal de 1.250 ppm apresentou sinais clínicos de encefalopatia como apatia, ataxia, tremores de cabeça, déficit proprioceptivo e nistagmo vertical, vindo a óbito com evolução clínica de dez horas. Estes sinais clínicos também foram descritos por GOULD (2000) como compatíveis com necrose cerebrocortical ocasionada por ingestão excessiva de enxofre. Os demais animais não apresentaram alterações neurológicas durante o período experimental.

Ao realizar o exame macroscópico necroscópico do encefálico do bezerro com sinais de encefalopatia observou-se redução dos giros cerebrais nos lobos occipital e parietal esquerdo e

compressão da porção lateral esquerda do cerebelo. No exame histopatológico evidenciou-se principalmente no córtex parietal e occipital esquerdo a presença de edema e necrose neuronal difusa acentuada, neuronofagia e gliose moderada com presença de vacúolos nas fibras neuronais de algumas porções da substância cinzenta e, principalmente, nestas regiões a necrose neuronal e a gliose estavam mais intensas caracterizando um quadro de necrose cerebrocortical conforme descrito também por GOULD (2000). Dos outros cinco animais, foi realizada necropsia em dois sendo que somente um apresentou necrose cerebrocortical.

CONCLUSÃO

Os achados clínicos e histopatológicos associados com os elevados teores de sulfeto de hidrogênio ruminal confirmaram a indução de necrose cerebrocortical nos bovinos mestiços suplementados com 0,5% de enxofre na matéria seca.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Programa Institucional de Capacitação Docente e Técnica (PICDT) de doutorado concedida ao primeiro autor e pela bolsa Programa de Demanda Social (DS) de mestrado concedida ao segundo autor. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP Processo n°. 2006/05836-6) pelo apoio financeiro e concessão de bolsa para o terceiro (Processo n°.2009/00763-9) e quarto autores (Processo n°.2007/05008-9) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade ao último autor.

REFERÊNCIAS

BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS, R. A. A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. Montes Claros: Vallée, 2006.

GOULD, D. H. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. In: OSWEILER, G. D.; GALEY, F.D. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 16, n. 3, p.481-496, 2000.

GOULD, D. H., CUMMINGS, B. A., HAMAR, D.W. In vivo indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 9, p. 72-76, 1997.

HAMLEN, H., CLARK, E., JANZEN, E. Polioencephalomalacia in cattle consuming water with elevated sodium sulfate levels: a herd investigation. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 34, p. 153-158, 1993.

KUL, O., KARAHAN, S., BASALAN, M., KABAKCI, N. Polioencephalomalacia in cattle: a consequence of prolonged feeding barley malt sprouts. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, Berlin, v. 53, n. 3, p. 123-128, 2006.

MELLA, C. M., PEREZ-OLIVA, O., LOEW, F. M. Induction of bovine polioencephalomalacia with a feeding system based on molasses and urea. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 40. n. 1, p.104-10, 1976.

NILES, G. A., MORGAN, S., EDWARDS, W. C., LALMAN, D. Effects of dietary sulfur concentrations on the incidence and pathology of polioencephalomalacia in weaned beef calves. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 44, n. 2, p. 70-72, 2002.

NRC. **Mineral tolerance of animals**. 2 ed. Washington: National Academy Press. 2005. 385p.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary medicine. A textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Saunders Elsevier: USA, 2007. 2156p.

RAISBECK M. F. Is polioencephalomalacia associated with high-sulfate diets? **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 180, p. 1303-1305, 1982.

SAGER, L. R., HAMAR, D. W., GOULD, D. H. Clinical and biochemical alterations in calves with nutritionally induced polioencephalomalacia. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 51, n. 12, p. 1969-1974, 1990.

CALCINOSE ENZOÓTICA EM *BUBALUS BUBALIS* NO PANTANAL NORTE MATOGROSSENSE, BRASIL

Carlos Eduardo Pereira dos Santos¹, Luiz Carlos Marques², Celso Figueiredo³, Daniele Costa Borges³, Nilton Ferreira Borges³ e Cláudio José de Assis³

1. Programa de pós-graduação em Clínica Médica Veterinária da UNESP campus de Jaboticabal. São Paulo. Brasil. E-mail: cep.vet@ig.com.br (autor correspondente)
2. Professor titular da Universidade Estadual de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho” campus de Jaboticabal. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária. São Paulo. Brasil.
3. Médicos Veterinários autônomos

PALAVRAS-CHAVE: Bubalino, calcinogênica, *Solanum malacoxylon*.

ABSTRACT

ENZOOTIC CALCINOSIS IN *BUBALUS BUBALIS* IN NORTHERN PANTANAL, MATO GROSSO, BRAZIL

This study reports the epidemiological, clinical and biochemical analysis as well as postmortem and histological changes observed in buffaloes with weight loss, which were raised in a farm in northern Pantanal region, in Mato Grosso State, Brazil. These results were consistent with the diagnosis of enzootic calcinosis. *Solanum malacoxylon* was found in the pastures. During rainy seasons, female buffaloes developed locomotion abnormalities and reduced milk production. Other evidence included arched backs and difficulty as regards rising, kneeling while rising, and feeding. Two out of four female buffaloes revealed high serum concentrations of phosphorus. Severe changes were observed, such as poor body condition and large rigid arteries with irregular intimal surface. Histological exams detected extensive chondroid metaplasia and discreet signs of calcification along the aorta.

KEYWORDS: Bubaline, calcinosis, *Solanum malacoxylon*.

INTRODUÇÃO

Diversas plantas com atividade calcinogênica são descritas em todo o mundo, sendo que no Brasil a enfermidade assume importância econômica em grandes ruminantes na região do Pantanal de Mato Grosso, e tem como etiologia a ingestão de *Solanum malacoxylon* com quadro clínico denominado regionalmente como “espichamento” (TOKARNIA & DÖBEREINER, 1974). Na região Sul quadros de calcinose acometem pequenos ruminantes e relaciona-se ao consumo de *Nierembergia veitchii* (BARROS et al. 1992; RISSI et al. 2007).

Síndromes envolvendo quadros de calcinose tem sido relatadas no Centro Oeste em áreas de cerrado, acometendo tanto pequenos quanto grandes ruminantes porém de etiologia ainda incerta, considerando que não existiam espécies botânicas com atividade calcinogênica conhecida nas investigações das ocorrências (BOABAID et al. 2003; SANTOS et al. 2005).

Segundo MELLO (2003), a maioria do princípio ativo presente em plantas calcinogênicas, derivado glicosídico do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (calcitriol), é hidrolisado no intestino, rúmen e outros tecidos, ou pela flora bacteriana. O excesso de vitamina D estimula absorção de cálcio e fósforo, produzindo hipercalcemia e/ou hiperfosfatemia. Os minerais absorvidos excessivamente não podem ser acomodados fisiologicamente e a deposição em tecidos moles resulta em calcinose.

Quadros espontâneos de calcinose enzoótica são descritos somente em bovinos, ovinos e caprinos. O objetivo deste trabalho é descrever os aspectos clínicos, bioquímicos e patológicos de bubalinos desenvolvendo naturalmente calcinose enzoótica relacionado ao consumo de *S. malacoxylon* no Pantanal Norte de Mato Grosso.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados epidemiológicos e clínicos foram subsidiados por visitas em conjunto com proprietários e Médicos Veterinários em estrato rural no município de Poconé – Mato Grosso. Realizou-se necropsia em um dos animais e coletaram-se alíquotas de sangue de quatro sintomáticos para análise bioquímica. Fragmentos de vísceras do búfalo necropsiado foram acondicionados em formalina a 10%, sendo rotineiramente processados para exame histológico, corados pela técnica de hematoxilina e eosina e observados em microscopia óptica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas diligências a campo observou-se que nos piquetes onde os búfalos eram criados, havia quantidades variadas de *Solanum malacoxylon*, ressaltando-se maior densidade nos

locais que permaneciam alagados na maior parte do ano, locais preferidos pelos animais, onde o rebanho ficava a maior parte do tempo ora ociosos, ora pastando. A morbidade foi em torno de 10%. Observou-se ocorrência de sinais clínicos em diferentes graus e por dois anos consecutivos de dezembro a fevereiro, correspondendo ao período chuvoso, diferentemente dos bovinos, que normalmente apresentam sinais durante o período de estiagem por consumirem planta desfolhada em meio a pastagem (TOKARNIA et al. 2000). Esta particularidade pode relacionar-se ao hábito do bubalino em pastar plantas em áreas semi ou completamente submersas (FORD, 1992).

Animais afetados tratavam-se de bubalinos, fêmeas, paridas, sem raça definida, com idades variando entre 3 e 6 anos. Os sinais precoces verificados eram caquexia progressiva, com diminuição ou supressão da produção láctea. Marcada redução na produção de leite já foi observada em casos naturais oriundos da ação de outras plantas calcinogênicas em cabras (BRAUN et al. 2000). Vale relatar que ocorreram dois óbitos em bezerros bubalinos de um mês de idade e restrita a progênie de mães sintomáticas com sinais mais acentuados, sendo consistente a hipótese de que as mortes tiveram relação com baixo aporte alimentar aos lactentes, embora não seja possível descartar outras causas, em face de não avaliação dos neonatos mortos. Em casos mais avançados, além da acentuada perda de peso os animais apresentavam cifose, dificuldade para se deitar e levantar, permanecendo pastando apoiando-se na articulação cárpica. Quando em estação permaneciam com membros anteriores ligeiramente fletidos e apoiando-se sobre as pinças, com rigidez a marcha. Estes sinais são semelhantes aos descritos por outros autores em animais com calcinose enzoótica (TOKARNIA et al. 2000; RIET-CORREA et al. 2007).

Os constituintes sanguíneos de quatro animais sintomáticos envolvendo dosagem de cálcio variaram entre 8,6 e 10,3 mg/dl, fósforo entre 6,5 e 8,6 mg/dl e fosfatase alcalina entre 65 e 107 UI. Ressalta-se que os animais com sinais mais acentuados e irreversíveis de calcinose apresentaram os níveis de cálcio próximo aos limites superiores relativos a padrões de normalidade e fósforo além dos limites normais para espécie, de acordo com padrões elencados por FAGLIARI et al. (1998). Este estudo indica que o nível sorológico de fósforo pode ser um importante marcador para se determinar prognóstico, embora existam poucos estudos em bubalinos neste contexto, de modo a permitir comparações.

Os principais achados de necropsia foram espessamentos das cordas tendíneas, calcificação e espessamento da cúspide atrioventricular esquerda, espessamento e presença de placas brancacentas das cúspides de valva aórtica e aorta ascendente. De modo geral grandes e pequenas artérias apresentavam rigidez e superfície interna irregular, por vezes com placas

brancacentas e opacas. A microscopia, o achado mais representativo foi metaplasia condróide focalmente extensa com áreas discretas de calcificação. Estes achados são comuns em quadros de calcinose e relatados por diversos autores (TOKARNIA et al. 2000; RIET-CORREA et al. 2007; RISSI et al. 2007).

Apesar da maioria dos animais afetados não morrerem, as perdas econômicas nas propriedades são expressivas pela acentuada caquexia nos búfalos sintomáticos, pela diminuição ou supressão láctea das fêmeas recém paridas e por incrementos acerca das mortes em bezerros bubalinos jovens, provavelmente relacionados a baixa produção de leite das parturientes.

CONCLUSÕES

O conjunto de dados epidemiológicos, clínicos, patológicos e laboratoriais caracteriza quadro de calcinose enzoótica natural em bubalinos devido ingestão de *Solanum malacoxylon*. O hábito da espécie animal, em conjunto ao habitat palustre da espécie botânica, incrementou a emergência de calcinose no rebanho. Uma vez que não há tratamento efetivo para esta intoxicação fitógena, adequações nas práticas de manejo devem direcionadas a minimizar ingestão das folhas, sejam estas dessecadas ou verdes, alocando animais em áreas alagadas distribuídas em solo arenoso, considerando-se grande dimensionamento das propriedades rurais na região e distribuição da planta limitando-se a solos argilosos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a CAPES pela concessão da bolsa de estudos Programa PRODOUTORAL e a André von Thuronyi pela cessão dos bubalinos.

REFERÊNCIAS

BARROS, S. S. et al. Evolução clínica e reversibilidade das lesões da calcinose enzoótica dos ovinos induzida por *Nierembergia veitchii*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1/2, p. 5-10, 1992.

BOABAI, F. M.; ANTONIASSI, N. A. B.; BOURSCHEID, D.; SOARES, L. C. M.; SANTOS, C. E. P.; NAKASATO, L.; COLODEL, E. M. Aspectos clínicos e patológicos da calcinose enzoótica de etiologia desconhecida em rebanhos de ovinos do estado de Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23, 2006, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá, 2006.

BRAUN, U.; DIENER, M.; CAMENZIND, D.; FLÜCKIGER, M.; THOMA, R. Enzootic calcinosis in goats caused by golden oat grass (*Trisetum flavescens*). **Veterinary Record**, London, v. 146, p. 161-162, 2000.

FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos lactantes, desmamados e adultos das raças Nelore (*Bos indicus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, n. 3, p. 263-271, 1998.

FORD, B. D. Swamp buffaloes in large scale ranching systems. In: TULLOH, N. M.; HOLMES, J. H. G. **Buffalo production**. Amsterdam: Elsevier. p. 465-481. 1992.

MELLO, J. R. B. Calcinosis – calcinogenic plants. **Toxicon**, Elmsford, v. 41, n. 1, p. 1-12, 2003.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. Intoxicação por plantas e micotoxinas. In: **Doença de ruminantes e eqüídeos**. 3.ed. Santa Maria: Pallotti, 2007.v.2. p. 182.

RISSI, D. R.; RECH, R. R.; PIEREZAN, F.; KOMMERS, G. D.; BARROS, C. S. L. Intoxicação em ovinos por *Nierembergia veitchii*: observações em quatro surtos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1393-1398, 2007.

SANTOS, A. S. et al. Calcinose em ruminantes de etiologia desconhecida no Estado de Goiás – GO. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, supl. 1, p. 76, 2005.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. “Espichamento”, intoxicação de bovinos por *Solanum malacoxylon*, no Pantanal de Mato Grosso. II. Estudos complementares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Série Veterinária, Rio de Janeiro, v. 9, p. 53-62, 1974.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Plantas que causam calcificação sistêmica (calcinose). In: **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus. 2000. p. 189-199.

FOTOSSENSIBILIZAÇÃO HEPATÓGENA EM CAPRINOS ASSOCIADA À INGESTÃO DE *Brachiaria brizantha* NO ESTADO DO PARÁ

José Alcides Sarmiento da Silveira¹, Tatiane Teles Albernaz¹, Natália da Silva e Silva²,
Cinthia Távora de Albuquerque Lopes³, Valéria Duarte Cerqueira⁴, Carlos Magno Chaves
Oliveira⁴, Marcos Dutra Duarte¹, José Diomedes Barbosa⁵

1. Médico Veterinário, MSc, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Pará (UFPA)

2. Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação Saúde Animal na Amazônia, Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)

3. Acadêmica da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)

4. Médico Veterinário, MSc, professor da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)

5. Médico Veterinário, doutor, professor da Faculdade de Medicina Veterinária (UFPA)

Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Campus Castanhal, Rua Maximino Porpino da Silva, nº 1000, 68740-080, Castanhal - PA, Brasil.

E-mail: jalcides@ufpa.br (autor correspondente)

PALAVRAS – CHAVE: *Brachiaria* spp., caprinocultura, epidemiologia, saponinas.

ABSTRACT

HEPATOGENOUS PHOTOSENSITIZATION IN GOATS ASSOCIATED WITH *BRACHIARIA BRIZANTHA* INGESTION IN PARÁ

This study investigates two isolated cases of photosensitization in goats in Pará. Goat number 1 was kept in a confined system in a suspended wooden stall, and was exclusively fed breast milk, salt and mineral water *ad libitum* up to 30 days of age. Then, it was introduced in *Brachiaria brizantha* pastures, and after 15 days, it showed clinical signs of photosensitization. Goat number 2 was originally kept in *B. brizantha* pastures. Five months after arriving at another farm, which also presented pastures of the same type, the animal fell ill. Clinical signs included apathy, anorexia, ear edema, icterus, restlessness, seeks shade, and shedding of skin followed by crust formation in some areas of the body. Furthermore, increased levels of GGT, AST and bilirubin were observed. Analysis of *B. brizantha* samples revealed protodioscin isomers. Necropsy findings reported subcutaneous edema, jaundice, and orange color liver. Histological examination detected liver damage due to hepatocellular swelling and cholestasis with foam cell and crystal formation. It also evidenced dark brown renal tubules, tubular degeneration, and the presence of crystals.

KEYWORDS: *Brachiaria* spp.; caprinoculture; epidemiology; saponins.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui um rebanho caprino de aproximadamente 10 milhões de animais (MAPA, 2007). No período de 1997 a 2007, a caprinocultura, na região Norte, avançou em 54,4%, sendo ainda incipiente quando comparada a alguns estados da região nordeste, como Bahia e Pernambuco, que possuem o maior rebanho brasileiro (IBGE, 2007).

No Pará, o rebanho efetivo está em torno de 65.800 animais (ADEPARÁ 2008, dados não publicados); e os fatores responsáveis por perdas econômicas na caprinocultura estão relacionados à hemoncosse, mastite, linfadenite caseosa e *footrot*. Além dessas enfermidades, outras vêm sendo diagnosticadas, como a fotossensibilização hepatógena associada à ingestão de *Brachiaria brizantha*.

A fotossensibilização caracteriza-se por uma sensibilidade exagerada dos animais aos raios solares e pode ser classificada como primária ou secundária (hepatógena), ambas relacionadas à presença do agente fotossensibilizador na corrente sanguínea (TOKARNIA et al., 2000). Atualmente, a fotossensibilização hepatógena, em animais que pastam *Brachiaria* spp., é atribuída à presença de saponinas esteroidais litogênicas na própria gramínea (LEMOS et al., 1997).

No estado do Pará, casos de fotossensibilização associada à ingestão de *B. brizantha* têm sido observados de forma isolada em bovinos (BARBOSA 2007, dados não publicados) e em surtos na espécie ovina (ALBERNAZ et al., 2008). Nas espécies eqüina (BARBOSA et al., 2006) e bubalina (BARBOSA 2007, dados não publicados) foram observados surtos de fotossensibilização associados à ingestão de *B. humidicola*.

O objetivo deste trabalho é descrever dois casos de fotossensibilização associada à ingestão de *B. brizantha* em caprinos no Estado do Pará.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados dois casos isolados de fotossensibilização em caprinos pertencentes a duas propriedades localizadas nos municípios de Castanhal e Santa Luzia do Pará, onde os dados epidemiológicos foram obtidos. Na propriedade de Castanhal, foi coletada amostra da pastagem, que foi seca à sombra, para determinação qualitativa e quantitativa de saponinas, pelo método de cromatografia de camada delgada (GJULEMETOWA et al., 1982) e por HPLC, utilizando o detector de evaporação por dispersão de luz (WANG et al., 2004). Esta análise foi realizada no Instituto Biológico de São Paulo.

O exame clínico dos animais foi feito de acordo com DIFFAY (2004). E amostras de sangue foram coletadas para determinação dos níveis séricos de gama glutamiltransferase

(GGT), asparto aminotransferase (AST), bilirrubina direta, bilirrubina indireta e bilirrubina total, por meio de espectrofotômetro (BioPlus - Bio - 2000). Essas análises foram realizadas no laboratório de Patologia Clínica da Central de Diagnóstico Veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará (UFPA).

À necropsia foram coletados fragmentos de diversos órgãos e fixados em formol a 10%, para realização de exames histopatológicos, realizados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

RESULTADOS

Em novembro de 2007, foi atendido, em uma propriedade do município de Santa Luzia do Pará, o caprino 1, macho, mestiço de Boer e Saanen, de três meses de idade, pertencente a um lote de 140 animais. Este animal, até os 30 dias de idade foi mantido confinado em baia suspensa e alimentado exclusivamente com leite materno, sal mineral e água *ad libitum*. Após esse período, foi introduzido em piquete de *Brachiaria brizantha*, apresentando sinais clínicos de fotossensibilização 15 dias depois.

Em setembro de 2008, foi atendido, em uma propriedade no município de Castanhal, o caprino 2, fêmea, mestiça de Boer e Saanen, com aproximadamente três anos de idade, pertencente a um lote de 10 animais. Esta fêmea apresentou sinais clínicos de fotossensibilização cinco meses após sua chegada a esse local, onde era mantida em pastagem de *B. brizantha* e recebia sal mineral e água *ad libitum*, pois pertencia a outra propriedade do estado do Pará, cuja pastagem também era de *B. brizantha*.

Ambos os casos ocorreram durante a época seca, na qual a pastagem de *B. brizantha* se encontrava com massa residual reduzida e senescente. Na amostra de *B. brizantha*, coletada onde pastava o caprino 2, foram determinadas níveis de 1,54% de isômeros de protodioscina.

Os sinais clínicos apresentados pelo caprino 1 foram apatia, anorexia, edema nas orelhas, mucosas amareladas e desidratação, vindo a óbito cinco dias após o início desses sinais. Além desses sinais, o caprino 2 apresentou inquietação, procura por sombra, edema na vulva, desprendimento da pele seguido por formação de crostas em algumas áreas do corpo e morte 22 dias após o início dos sinais clínicos.

Os achados laboratoriais revelaram aumento, nos dois animais, dos níveis séricos de gama glutamiltransferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST) e bilirrubina.

Os achados de necropsia consistiam em edema subcutâneo, fígado alaranjado, icterícia e vesícula biliar distendida com bile escura e espessa. Histologicamente, o fígado apresentava tumefação hepatocelular acentuada, colestase, com cristais e macrófagos

espumosos; o rim apresentava pigmento marrom escuro nos túbulos, degeneração tubular e presença de cristais.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de fotossensibilização hepatógena associada à ingestão de *B. brizantha*, neste estudo, baseou-se nos achados epidemiológicos, clínicos e patológicos, como aqueles descritos por outros autores (LEMOS et al., 1996).

Em diversas regiões do Brasil, as pastagens de *Brachiaria* spp. são responsáveis por surtos de fotossensibilização hepatógena, causados por saponinas esteroidais litogênicas (LEMOS et al., 1996). Segundo esse autor, os animais jovens são mais suscetíveis à intoxicação, o que foi observado neste trabalho, visto que o caprino 1, foi o único animal que adoeceu em um lote de animais de diferentes faixas etárias; e apresentou sinais clínicos mais severos em relação ao caprino 2. Isso ocorreu, provavelmente, pelo fato do mesmo ter sido mantido em baia desde o nascimento até os 30 dias de idade e, posteriormente, ser introduzido na pastagem de *B. brizantha*, o que possivelmente não possibilitou uma adaptação prévia; fato semelhante ao relatado por ALBERNAZ et al. (2008) em um surto de fotossensibilização hepatógena em ovinos no estado do Pará.

Os isômeros de protodioscina, determinados na amostra de *B. brizantha* neste estudo, também foram observados em outros estudos com *B. brizantha* (BRUM et al., 2009).

A quantidade de saponina pode variar em pastagens com forragens de mesma espécie cultivadas em locais diferentes (MEAGHER et al., 1996) devido a fatores como o estresse ambiental, idade da planta e sua fase de desenvolvimento (OLESZEK, 2002). Isso explica, possivelmente, o fato do caprino 2 adoecer após mudança de propriedade, mesmo sendo mantido no mesmo tipo de pastagem da propriedade de origem.

A característica da pastagem, com massa residual reduzida e senescente, em ambos os casos, neste estudo, constitui aspecto digno de nota, uma vez que esta característica epidemiológica é semelhante à descrita em ovinos por ALBERNAZ et al. (2008) também no Pará.

A elevação dos níveis sanguíneos de AST, GGT e bilirrubina, indicam lesão hepática, o que justifica o quadro clínico observado e confirma fotossensibilização hepatógena.

Os mesmos achados de necropsia observados, também foram relatados em surtos de fotossensibilização hepatógena associada à pastagens de *Brachiaria* spp., em outras espécies (ALBERNAZ et al., 2008; LEMOS et al., 1997).

A presença de cristais nos hepatócitos também é descrita por LEMOS et al. (1996) em ovinos e em bovinos, nos relatos de fotossensibilização hepatógena associada à ingestão de *B. decumbens* (LEMOS et al., 1997). A tumefação hepatocelular também foi um achado predominante descrito por DRIEMEIER et al. (2002) em ovinos com fotossensibilização.

No presente estudo foi verificada uma maior toxicidade da *B. brizantha* no período seco e com o capim em fase de maturação, estando de acordo com o observado por BRUM et al. (2009). Nessa época, o capim se encontrava com poucos centímetros de altura, o pastejo era intensivo e foi observada alta toxicidade.

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados apresentados, concluiu-se que a fotossensibilização hepatógena, nos caprinos do presente estudo, foi causada pela ação tóxica de *B. brizantha*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERNAZ, T. T. et al. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no Pará. In: ENCONTRO NACIONAL DO DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO, 2008, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Ed. Oeste, 2008. p. 73-74, 2008.
- BARBOSA, J. D. et al. Fotossensibilização hepatógena em equinos pela ingestão de *Brachiaria humidicola* (Gramineae) no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 3, p. 147-153, 2006.
- BRUM, K. B. et al. Concentrações de saponina esteroidal em diferentes fases do desenvolvimento de *Brachiaria decumbens* e *B. brizantha*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, 2009.
- DIFFAY, B. C. et al. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: PUGH, D.G. (Ed). **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, p.1-19. 2004.
- DRIEMEIER, D. et al. Estudo histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (“foam cells”). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 1, p. 29-34, 1998.
- GJULEMETOWA, R. et al. Über die bestimmung von furostanolsaponinen im präparat tribestan®. **Pharmazie**, v. 37, p. 296, 1982.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Rebanho efetivo**. 2007. Disponível em: <[http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: 15 jan. 2009.
- LEMOS, R. A. A. et al. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem com *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria humidicola*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, n. 1, p. 109-113, 1996.

LEMOS, R. A. A.; SALVADOR, S. C.; NAKAZATO, L. Photosensitization and crystal associated cholangiohepatopathy in cattle grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 39, n. 6, p. 376-377, 1997.

MEAGHER, L. P. et al. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 38, p. 271-274, 1996.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Rebanho ovino brasileiro – efetivo por Unidade de Federação**. 2007. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 12 dez. 2007.

OLESZEK, W. A. Chromatographic determination of plant saponins. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 967, p. 147-162, 2002.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310p.

WANG, H.; PROVAN, G. J.; HELLIWELL, K. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. **Food and Chemistry**, London, v. 87, p. 307-311, 2004.

INTOXICAÇÃO POR MONENSINA EM OVINOS NO SEMI-ÁRIDO PARAIBANO

RELATO DE CASO

Islaine de S. Salvador¹; Clarice R. M. Pessoa¹; Tatiane R. Silva¹; Adriana C. O. de Assis¹; Kézia Carvalho dos Santos², João Marcos Araújo Medeiros¹, Antônio Flávio Medeiros Dantas³

1. Alunos do Curso de Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000, Patos, PB, Brasil. E-mail: islaine_vet@yahoo.com.br (autor correspondente).

2. Professora de Patologia Animal do CESMAC, Macéio, AL, Brasil.

3. Professor do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, CEP: 58700-000 Patos, PB, Brasil

PALAVRAS-CHAVE: Antibióticos ionóforos, ruminantes.

ABSTRACT

MONENSIN POISONING IN SHEEP IN THE SEMIARID REGION OF PARAÍBA: CASE REPORT

Monensin is an antibiotic that has been widely used as coccidiostat as well as a feed additive to improve livestock performance. It is safe to use such drug as long as the species-objective and manufacturer's recommended dosage are considered – 3mg/kg in horses, 12mg/kg in sheep, 22mg/kg in cattle, and 200mg/kg in chicken. An outbreak of monensin poisoning was reported in a sheep flock in the semiarid region of northeast Brazil. It was caused by the ingestion of chicken litter originated from a farm where chickens were treated with the same antibiotic. Clinical signs were apathy, anorexia, muscular weakness, and locomotion disorders. Further evidence revealed a high increase on serum creatine kinase (CPK) levels. One of the animals was euthanized. At necropsy, the liver was yellowish and skeletal and cardiac muscles were pale. Histological evaluation of these muscles revealed hyaline and floccular degeneration and the liver had centrilobular fatty degeneration. Epidemiological and clinical signs, histopathological lesions, and CPK levels all indicated monensin poisoning. This is the first report of ionophore antibiotic poisoning in sheep in Brazil's semiarid region.

KEYWORDS: Ionophore antibiotics, ruminants.

INTRODUÇÃO

O antibiótico monensina é produzido pela bactéria *Streptomyces cinnamonensis* e tem sido usado na produção animal como promotor de crescimento, facilitando o transporte iônico através de membranas biológicas, e como antimicrobiano e coccidiostático. É uma droga considerada segura se usada na espécie-alvo e nas dosagens recomendadas pelo fabricante. Sua dose tóxica é de 3mg/kg em equinos, 12 mg/kg em ovinos, 22mg/kg em bovinos e 200mg/kg em aves (RIET-CORREA et al., 2007).

A intoxicação ocorre geralmente em bovinos e ovinos alimentados com cama de frango proveniente de granjas onde aves são tratadas com esse antibiótico, já que a dose recomendada para aves é muito superior à utilizada para outras espécies (SMITH, 2006). O curso clínico da intoxicação varia conforme a dose e o tempo de ingestão. Em ovinos frequentemente a doença começa com recusa do alimento, estase ruminal, fraqueza muscular, andar lento e decúbito. Os casos crônicos apresentam atrofia dos músculos dos membros posteriores e um andar rígido (RADOSTITS et al., 2002). As lesões associadas à intoxicação são caracterizadas por degeneração nos músculos esqueléticos e no miocárdio. Entre os achados laboratoriais há aumento da atividade de enzimas séricas como creatina fosfoquinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase em consequência das lesões musculares (RIET-CORREA et al., 2007).

Esse trabalho tem como objetivo descrever um surto de intoxicação por monensina em ovinos consumindo cama de frango ocorrido no município de Santa Terezinha, no semi-árido paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados epidemiológicos e clínicos do surto foram obtidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina, localizado no Município de Patos - PB, ao qual foram encaminhados três animais acometidos. Após a identificação dos animais e obtenção da anamnese foi realizado o exame físico geral. Durante o exame físico coletou-se sangue para realização de hemograma e dosagens enzimáticas. Um dos três animais examinados foi eutanasiado *in extremis* e encaminhado ao setor de Patologia Animal para realização da necropsia. Amostras de fígado, coração, pulmão, rim, baço, linfonodos, músculos (diafragma, glúteos e língua), assim como encéfalo e medula foram coletadas e fixadas em formol a 10%. Os

fragmentos dos diferentes órgãos foram processados rotineiramente e corados pela hematoxilina-eosina para estudo histológico.

RESULTADOS

Na anamnese foi informado que de um lote de 50 ovinos SRD, de ambos os sexos, submetidos às mesmas condições de criação e alimentação, em um período de 20 dias ocorreram três óbitos e mais seis animais apresentaram sinais clínicos. A alimentação fornecida era pastagem nativa, que no período em que ocorreu a intoxicação (agosto) encontrava-se escassa, e uma mistura de cama de frango e farelo de milho na proporção de 2:1 e. A mistura da cama de frango com o farelo de milho era administrada *ad libitum* uma vez ao dia, a água consumida era de poço artesiano. A cama de frango era proveniente da própria fazenda, que também era produtora de frangos de corte. A ração fornecida aos frangos continha o antibiótico ionóforo monensina sódica, em concentrações 1,56 gramas em cada kg de ração, misturados com farelo de trigo, na proporção de 40:60 kg respectivamente.

No exame dos animais acometidos foram identificados sinais como depressão, diminuição do apetite ou anorexia, debilidade e tremores musculares e incoordenação. Os animais permaneciam a maior parte do tempo em decúbito esternal. Ao serem colocados em decúbito lateral demonstravam incapacidade de retornar ao decúbito esternal. Um dos animais apresentava sinais mais intensos que incluíam diminuição do reflexo de flexão dos membros, emboletamento dos membros torácicos e relutância ao exercício e foi eutanasiado *in extremis*. Foram encontrados níveis séricos elevados da creatina fosfoquinase sérica (CPK), tendo o animal que foi eutanasiado apresentado valores de 2857 UI/ L. Nos outros dois animais foram encontrados níveis de 1850 e 2328 UI/L respectivamente.

Na necropsia os músculos esqueléticos apresentavam-se com áreas pálidas irregulares, incluindo o diafragma. O fígado estava difusamente amarelado e o coração apresentava áreas pálidas.

Na histologia foram observadas nos músculos esqueléticos áreas multifocais a coalescentes de vacuolização e eosinofilia citoplasmática com perda da forma poligonal, associada a picnose, sendo essas lesões características de degeneração hialina, degeneração flocular e necrose. Nas áreas de necrose observou-se proliferação de células satélites e presença de infiltrado inflamatório constituído predominantemente por macrófagos e alguns linfócitos. No

músculo cardíaco foram observadas áreas de necrose hialina. Na região centro lobular do fígado havia vacuolização no interior do citoplasma dos hepatócitos e núcleos deslocados periféricamente, característica de degeneração gordurosa discreta. Havia presença de algumas células inflamatórias mononucleares e também foram observados macrófagos espumosos predominantemente na região periportal e em menor quantidade no espaço porta.

DISCUSSÃO

Os achados epidemiológicos, clínicos, as lesões histológicas e a acentuada elevação da CPK, que na espécie ovina tem valores normais de 52 ± 10 UI/litro, são compatíveis com a intoxicação por antibióticos ionóforos. A utilização de monensina na ração dos frangos cuja cama era utilizada para alimentar os ovinos e a oferta de grande quantidade de cama de frango são indícios de que ocorreu a intoxicação. A intoxicação por antibióticos ionóforos é mais freqüentemente relatada em bovinos e foi reproduzida experimentalmente em ovinos na proporção de 10% de narasina diluído em água e administrado oralmente a 13 ovinos (WOUTERS et al., 1997). Surtos espontâneos em ovinos não foram registrados no semi-árido paraibano sendo este o primeiro relato na região.

Dentre os sinais clínicos observados chama atenção a marcada anorexia, que de acordo com NOVILLA (1992) é um dos sinais clínicos mais constantes na intoxicação por antibióticos ionóforos. É sugerido que a perda parcial ou total do apetite seja devida à alteração na palatabilidade da ração, causada pela presença do antibiótico ionóforo e que funcionaria como um fator de defesa do animal (SHLOSBERG et al., 1986).

A congestão do jejuno identificada nos achados macroscópicos na ocasião da necropsia é ocasionalmente interpretada como gastroenterite difusa (COLLINS & MCCREA, 1978).

Os distúrbios relacionados à incapacidade muscular e a dificuldade de locomoção, são devidos à degeneração e necrose muscular que ocorreram em função da exposição aos ionóforos. Além disso, há uma maior sensibilidade dos tecidos musculares esqueléticos aos agentes ionóforos tóxicos porque essas substâncias tendem a ligar-se a estas estruturas (JONES et al., 2000). As áreas de necrose com proliferação de células satélites e infiltrado inflamatório geralmente são demarcadas do tecido normal circundante; esses focos são associados à inflamação que tendem a isolar o tecido necrótico, pois a liberação de peptídeos das células mortas estimulam a inflamação (CHEVILLE, 1993). Essas células inflamatórias fagocitam e

dissolvem os detritos celulares necróticos. As células satélites são fontes de núcleos para que ocorra a mitose, formando mionúcleos necessários para o início da produção de sarcoplasma, ocorrendo assim a regeneração (CARLTON & MCGAVIN, 1998). As alterações histológicas foram mais evidentes no músculo esquelético e estão de acordo com os achados comumente encontrados na intoxicação por antibióticos ionóforos em ovinos, espécie em que os músculos esqueléticos são mais seriamente acometidos (RADOSTITS et al., 2002).

A vacuolização no interior do citoplasma dos hepatócitos com núcleos deslocados perifericamente, caracterizou a degeneração gordurosa, que é uma exacerbação da produção de triglicerídeos que ocorre em doenças tóxicas (CHEVILLE, 1993).

A elevação da atividade sérica da CPK é consequência da necrose da membrana plasmática da miofibrila que permite que parte do conteúdo da miofibrila passe para a circulação sangüínea. As concentrações de alguns desses componentes são usadas como índices da extensão do dano da miofibrila, sendo o mais comumente utilizado a CPK (CARLTON & MCGAVIN, 1998).

Os sinais clínicos apresentados podem ser vistos na deficiência de vitamina E e selênio, enfermidade já relatada no semi-árido bem como nas intoxicações por *Senna occidentalis*, *A. glazioviana* e *Tretaptyrys spp*, porém na epidemiologia da deficiência de vitamina E e selênio destaca-se a ocorrência em animais jovens superalimentados e de crescimento rápido. A possibilidade da intoxicação por plantas foi descartada, pois estas não foram encontradas na propriedade e as lesões cardíacas características da intoxicação por *A. glazioviana* e *Tretaptyrys spp* não foram identificadas (RIET-CORREA et al., 2007).

CONCLUSÃO

O consumo de cama de frango ocasionou intoxicação por monensina em ovinos e a prática de sua utilização na alimentação de ruminantes na região semiárida devido à escassez de forragens deveria ser abolida por este e outros problemas que esta pode vir a ocasionar a exemplo do botulismo e intoxicação por cobre, já diagnosticados e relacionados ao consumo ilegal da cama de frango.

REFERÊNCIAS

- CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomsom**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas Sul, cap. 9, pág. 636, 1998.
- CHEVILLE, F. N. **Introdução a patologia veterinária**. São Paulo: Manole, cap. 1, p. 61-72, 1993.
- COLLINS, E. A.; MCCREA, C. T. Monensin sodium toxicity in cattle. **Veterinary Record**, London, v. 103, n. 17, p. 386, 1978.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6.ed. Manole: São Paulo, p. 1352, 2000.
- NOVILLA, M. N. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 34, n. 1, p. 66-70, 1992.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária. um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3.ed. v.2. Santa Maria: Pallotti, 2007. 694 p.
- SHLOSBERG, A.; PERL, S.; YAKOBSOM, B.; KLOPFER, U.; EGYED, M. N.; NOBEL, T. A. The chronic course of a probable monensin toxicosis in cattle. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 23, n. 3, p. 230-233, 1986.
- SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728 p.
- WOUTERS, F.; WOUTERS, A. T. B.; BARROS, C. S. L. Intoxicação experimental por narasina em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p.82-88, 1997.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE ERITRÓCITOS DE OVINOS SUBMETIDOS A INTOXICAÇÃO CÚPRICA ACUMULATIVA

Wanderson Adriano Biscola Pereira¹, Mário Roberto Hatayde², Joice Lara Maia Faria³

¹ Médico Veterinário. Doutor. Professor do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba, CEP: 38055-460, Uberaba – MG, Brasil. E-mail: wabpereira@yahoo.com.br (autor correspondente)

² Médico Veterinário. Doutor. Professor do departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal.

³ Médica Veterinária. Mestre. Professora do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba.

PALAVRAS – CHAVES: Acantócitos, corpúsculos de Heinz, fase hemolítica.

ABSTRACT

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY STUDY OF ERYTHROCYTES IN CUMULATIVE COPPER POISONING IN SHEEP

Chronic copper poisoning is rather common in sheep and has three phases: pre-hemolytic, hemolytic, and post-hemolytic. Therefore, this study investigates abnormalities in red blood cell (RBC) morphology by using electron microscopy during pre-hemolytic and hemolytic intoxication periods. A total of 6 sheep were divided into two groups: control group (GI); and experimental group (GII). EDTA blood samples were collected weekly and prepared for observation with the scanning electron microscope. During the pre-hemolytic period, the intoxicated group showed a predominance of discocytes, although an increase in the proportion of macrocytes, knizocytes and dacryocytes was evidenced between weeks 11 and 17 of poisoning trials. These changes were similar to those found in the control group. However, hemolytic findings revealed a decrease in the number of discocytes and predominance of acanthocytes, as well as the presence of codocytes, keratocytes and Heinz bodies. Therefore, RBC morphological changes were limited to the hemolytic phase of intoxication.

KEYWORDS: Acanthocytes; heinz bodies; hemolytic phase.

INTRODUÇÃO

O microelemento cobre (Cu) é um importante componente de algumas metaloproteínas, muitas das quais são enzimas vitais, quase todas participando de reações de óxido-redução. (McDOWELL, 1992; UNDERWOOD & SUTTLE, 2001).

O cobre solúvel disponível é absorvido principalmente no intestino delgado. No organismo o cobre se liga a albumina e é carregado para o fígado, que é o principal órgão de estoque. De acordo com as necessidades orgânicas, o cobre é incorporado a ceruloplasmina, sendo distribuído para toda economia animal (ORTOLANI, 2002).

A deficiência e toxicidade do Cu em ruminantes ocorrem freqüentemente em muitas partes do mundo (MILTIMORE & MASON, 1971).

Entre as espécies de animais, os ovinos são os mais sujeitos a apresentarem tanto quadros de deficiência quanto de intoxicação pelo cobre (ORTOLANI, 1996; GOONERATNE et al., 1989). A intoxicação cúprica deve-se a uma menor capacidade de conjugação entre o cobre e a metalotioneína, diminuindo a excreção deste elemento no organismo, pela via biliar, e permitindo que o mesmo acumule-se no fígado (SOARES, 2004).

A intoxicação cúprica pode ser dividida em duas formas: intoxicação aguda, decorrente da ingestão abrupta de grandes quantidades de cobre, em um curto espaço de tempo; e intoxicação cúprica acumulativa, onde o acúmulo de cobre hepático é progressivo, podendo durar de meses a anos, até o desencadeamento da fase hemolítica (ORTOLANI, 2003 apud SOARES, 2004).

A intoxicação crônica por cobre pode ser dividida em três fases distintas: a pré-hemolítica, a hemolítica e a pós-hemolítica. Durante a fase pré-hemolítica, ocorre o acúmulo de cobre no fígado, sem aparecimento de sinais clínicos. O cobre se acumula inicialmente nos hepatócitos periféricos às células da veia central e posteriormente em outras áreas do fígado. Durante o acúmulo, os hepatócitos aumentam consideravelmente seu número de lisossomos, organela na qual também se acumula o cobre. Atingindo o limiar máximo de acúmulo de cobre nos hepatócitos, ocorre a morte celular difusa, promovendo a liberação maciça de cobre e de lisosimas com grande poder de destruição. O cobre livre se desloca para a corrente circulatória, onde após entrar nas hemácias oxida a glutatona, substância responsável pela integridade destas células, culminando com a hemólise, cerca de 24 horas após (ORTOLANI, 1996).

Durante a crise hemolítica observa-se neutrofilia e anemia. Há aumento dos níveis sanguíneos de cobre e dos níveis séricos de sorbitol desidrogenase (SDH), arginase, aspartato amino transferase (AST), glutamato desidrogenase (GD), ceruloplasmina, uréia e bilirrubina

(MÉNDEZ, 2001). Uma crise hemolítica aguda com hemoglobinemia e hemoglobinúria são achados importantes. Corpúsculos de Heinz podem ser encontrados nas hemácias através de esfregaços sangüíneos (INABA, 2000).

O mecanismo da hemólise promovida pela intoxicação cúprica não está bem elucidado. Segundo JAIN (1993) e INABA (2000) os efeitos citotóxicos ocorrem devido à interação do cobre com uma série de compostos presentes nas membranas dos eritrócitos gerando neste processo a formação de agentes oxidantes, além da inibição de enzimas importantes para os eritrócitos como a glutathione redutase e a piruvato quinase, levando ao aumento na formação de metahemoglobina. A ação direta dos ânions superóxido e peróxido de hidrogênio no interior das hemácias culmina na formação dos corpúsculos de Heinz.

Conhecendo-se a importância do microelemento cobre e embora vários trabalhos tenham indicado o comprometimento hepático (LEMOS et al., 1997; AUZA et al., 1999; MÉNDEZ, 2001; SOARES, 2004) e alterações nas células sangüíneas, faltam estudos que demonstrem a relação entre a intoxicação cúprica crônica e as anormalidades morfológicas que ocorrem nas membranas dos eritrócitos, quando vistas à microscopia eletrônica de varredura (MEV).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 06 ovinos, adultos, castrados, sem raça definida, alojados individualmente em gaiolas metabólicas, equipadas com comedouros e bebedouros plásticos, situados em área coberta, junto ao Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, UNESP/ Jaboticabal.

Os animais receberam uma dieta composta de 700g de matéria seca de feno de tifton 85 (*Cynodon spp*), água *ad libitum* e 200g da ração comercial (Nutriovinos – Purina). Os alimentos foram submetidos à análise bromatológica antes do início do experimento, verificando-se principalmente as concentrações de cobre, molibdênio, zinco, enxofre e ferro para que não houvesse interferência na absorção de cobre .

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, G-I e G-II, contendo três animais em cada um. O grupo G-I, representou o grupo controle recebendo apenas a alimentação diária. O grupo G-II além da alimentação diária recebeu uma dose inicial de 3mg/kg PV dia de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (VETEC) em solução a 5%, pela via oral, com auxílio de uma seringa, na primeira semana, e semanalmente aumentando 3mg/kg do agente toxicante na dose diária seguindo as recomendações de SOARES (2004) até o aparecimento de hemoglobinúria macroscópica.

Foram colhidas semanalmente, amostras de sangue da veia jugular de cada um dos ovinos, utilizando-se EDTA, como anticoagulante. Para realização da MEV 100 µl de sangue foram colocados em glutaraldeído 1,5% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,4. Após a fixação por uma hora a 4°C, as células foram lavadas três vezes com tampão fosfato (0,1M e pH 7,4), desidratadas em uma série ascendente de acetona (25% a 100%), permanecendo 15 minutos em cada solução e com duas passagens na acetona absoluta. Posteriormente as células foram suspendidas com 100 µl de acetona absoluta e duas gotas desta suspensão foram colocadas sobre lamínulas de vidro e secas rapidamente por evaporação. As lamínulas foram cobertas com fina camada de ouro (15nm) e examinadas no microscópio eletrônico de varredura em uma angulação de 33 a 45 graus negativos e voltagem de 15 kV, sendo os melhores campos fotografados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a fase pré-hemolítica da intoxicação cúprica verificou-se que 85% das hemácias visualizadas através da MEV apresentavam-se com o padrão normal, também denominado discóide. Entretanto entre a 11°. e a 17°. semana desta fase o padrão morfológico dos eritrócitos começou a se alterar e outros formatos de hemácias, como macrócitos, kinizócitos e dacriócitos passaram a ser visualizados em maiores proporções.

Segundo JAIN (1993) e FELDMAN (2000) a presença de dacriócitos deve-se a alterações no citoesqueleto protéico das hemácias, associadas a eventos deformantes. Estas alterações são observadas principalmente nas anemias associadas com a presença de corpúsculos de Heinz, talassemias e mielofibrose. Cabritos normais também podem apresentar células com este padrão. Os macrócitos representam eritrócitos morfolologicamente normais possuindo apenas um volume corpuscular médio (VCM) acima do normal, enquanto os kinizócitos compreendem eritrócitos com uma faixa central de hemoglobina formando dois ou mais espaços livres na superfície das hemácias, dando um aspecto de uma célula tricôncava, e, têm sido relatados como achados comuns em quadros anêmicos em humanos e cães.

Entretanto essas variações na morfologia das hemácias mantiveram-se presentes tanto nas hemácias dos animais do grupo controle e dos animais experimentalmente intoxicados, sugerindo que as alterações morfológicas durante a fase pré-hemolítica da intoxicação estão associadas ao processo de metabolismo e constante renovação de células eritrocitárias.

No momento em que foi desencadeada a crise hemolítica pode-se através da MEV evidenciar alterações marcantes e persistentes na morfologia das hemácias, como a presença

de acantócitos, estomatócitos, codócitos e keratócitos. Dentre estes os acantócitos predominaram, representando cerca de 70% das células avaliadas. Os acantócitos são eritrócitos espiculados, com várias projeções em sua superfície, devido às alterações nos fosfolipídeos de membrana dos eritrócitos, e geralmente estão associados à presença de doenças hepáticas difusas, e dietas com altos níveis de colesterol. Os estomatócitos são evidenciados nos casos de doença hepática obstrutiva e nas anemias crônicas em cães. Os codócitos, comumente chamados de células alvo (*target cells*) são eritrócitos com uma área central densa de hemoglobina, devido a alterações da membrana celular ou pelo decréscimo dos níveis de hemoglobina celular ou ambas, e são encontrados nas anemias hipocrômicas e em doenças hepáticas colestáticas. Além destes, evidenciou-se keratócitos, que são eritrócitos irregulares com espículas, e estão relacionados à coagulação intravascular disseminada, anemia hemolítica microangiohepática e falência renal com congestão.

A visualização de hemoglobina precipitada na membrana dos eritrócitos, assim como a presença de corpúsculos de Heinz foi possível apenas durante a fase hemolítica da intoxicação, mostrando que o cobre apresenta um efeito citotóxico sobre as hemácias, seja por ação direta, pela formação de agentes oxidantes ou simplesmente pela inibição do metabolismo oxidativo celular, lesionando a membrana eritrocitária, e alterando sua morfologia e gerando assim um quadro hemolítico (JAIN, 1993; ORTOLANI, 1996, INABA, 2000 e MÉNDEZ, 2001).

CONCLUSÃO

Com esse estudo pode-se concluir que durante a fase pré-hemolítica da intoxicação não ocorrem alterações marcantes na morfologia eritrocitária, e que após a liberação de cobre os eritrócitos sofrem sérios danos em suas membranas permitindo predomínio de acantócitos como padrão celular durante esta fase.

REFERÊNCIAS

AUZA, N. J.; OLSON, W. G.; MURPHY, M. J.; LINN, J. G. Diagnosis and treatment of copper toxicosis in ruminants. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 214, n. 11, p. 1624-1628, 1999.

GOONERATNE, S. R., BUCKLEY, W. T., CHRISTENSEN, D. A. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.69, p.819-845, 1989.

INABA, M. Red blood cell membrane defects. In: FELDMAN, B. F.; JOSEPH, G. Z.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**, 5.ed., Canada: Lippincot Williams & Wilkins, 2000. p. 1012 – 1020.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. 524p.

MÉNDEZ, M. C. Intoxicação crônica por cobre. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001, p. 181-186.

MILTIMORE, J. E., MASON, J. L. Cooper to molybdenum ratio and molybdenum and copper concentration in ruminant feeds. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 51, p. 193–200, 1971.

ORTOLANI, E. L. Intoxicações e doenças metabólicas em ovinos: intoxicação cúprica, urolitíase e toxemia da prenhez. In: SOBRINHO, A. G. S. et al. **Nutrição de ovinos**. Jaboticabal: Funep, 1996. p. 241–258.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 641-651.

SOARES, P. C. **Efeitos da intoxicação cúprica e do tratamento com tetratiomolibdato sobre a função renal e o metabolismo oxidativo de ovinos**. São Paulo, 2004, 117.f. (Doutorado em Clínica Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed., Wallingford: Cabi Publishing, 2001. 614 p.

PROTEINOGRAMA SÉRICO DE OVINOS INTOXICADOS POR COBRE

Wanderson Adriano Biscola Pereira¹, Joice Lara Maia Faria², Paulo César da Silva³,
Mário Roberto Hatayde⁴; José Jurandir Fagliari⁴

¹Médico Veterinário. Doutor. Professor do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba –
UNIUBE, CEP:38055-460, Uberaba-MG, Brasil.

E-mail:wabpereira@yahoo.com.br (autor correspondente)

²Médica Veterinária. Mestre. Professora do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba.

³Biólogo. Doutor. Bolsista de Apoio Técnico a Pesquisa do CNPq –nível 1A. Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – UNESP – *Campus* de Jaboticabal.

⁴Médico Veterinário. Doutor. Professor do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – *Campus* de Jaboticabal.

PALAVRAS – CHAVE: Ceruloplasmina, eletroforese de proteínas, transferrina.

ABSTRACT

SERUM PROTEINOGRAM IN COPPER-POISONED SHEEP

Sheep have a tendency to accumulate copper in the body. When the liver storage capacity is exhausted, there is a sudden release of the accumulated copper into the blood causing clinical signs of poisoning. This study investigates the changes in serum proteins during pre-hemolytic and hemolytic phases of chronic copper poisoning. A total of 6 lambs were randomly divided into two groups: control group (Group 1); and experimental group (Group 2). In addition to the daily diet, animals from the second group received 3mg of CuSO₄ 5H₂O/Kg LW per day during the first week, after which it was increased at weekly intervals. Blood biochemical components were assessed at various times: M0, M1, M2, M3, M4, M5 and M6. Serum analysis revealed reduction of ceruloplasmin levels, whereas transferrin levels, the 35,000 Da protein, and IgG light chains increased in M2.

KEYWORDS: ceruloplasmin; protein electrophoresis; transferring

INTRODUÇÃO

Dentre os minerais, o cobre (Cu) é um elemento essencial para sobrevivência dos animais por atuar como componente de muitas metaloproteínas como a ceruloplasmina, a superóxido dismutase (CuZnSOD) e a citocromo oxidase (McDOWELL, 1992; UNDERWOOD & SUTTLE, 2001; BRADBERRY, 2007; ZHANG, et. al., 2008).

Após a ingestão, o cobre é absorvido principalmente no intestino delgado e seu transporte através da mucosa intestinal é controlado por uma metaloproteína chamada metalotioneína. Quanto maior a concentração desta, menor a absorção de cobre (ORTOLANI, 2002). Após a passagem pela mucosa intestinal o cobre liga-se à albumina e é transportado via circulação porta-hepática ao fígado para ser incorporado à ceruloplasmina e posteriormente atingir a circulação sistêmica distribuindo-se para todo organismo (BRADBERRY, 2007).

O acúmulo de cobre pode ocorrer em três circunstâncias: na intoxicação primária causada pela ingestão de quantidades excessivas de Cu; na intoxicação secundária fitógena, na qual, apesar do Cu ser ingerido em quantidades normais, se produz o acúmulo do microelemento em consequência dos baixos níveis de molibdênio; na intoxicação secundária hepatógena, na qual o Cu, ingerido em níveis normais, se acumula no fígado em consequência de lesões hepáticas causadas por plantas que contêm alcalóides pirrolizidínicos (RIET-CORREA et al., 1989).

Após qualquer injúria tecidual, o organismo animal desenvolve uma reação complexa e inespecífica conhecida como resposta de fase aguda. A origem desta resposta pode ser atribuída a causas infecciosas, imunológicas, neoplásicas, traumáticas, ou outras e o seu propósito é restaurar a homeostase e remover a causa do desequilíbrio. A resposta de fase aguda é muito rápida, e por esse motivo as proteínas de fase aguda podem ser consideradas marcadores precoces de qualquer processo patológico ou doença. Além disso, essas proteínas podem ser muito úteis na detecção antecipada de enfermidades subclínicas ou de alterações no estado de saúde do animal, além de servirem como importantes ferramentas no manejo do paciente e monitorização do tratamento (CERÓN et al., 2005).

Baseado nestes aspectos este estudo objetivou identificar o perfil de proteínas séricas em eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), verificando o comportamento das proteínas de fase aguda e de outras frações protéicas em ovinos intoxicados experimentalmente por cobre.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados seis ovinos adultos castrados hígidos, sem raça definida, alojados individualmente em gaiolas metabólicas, equipadas com comedouros e bebedouros plásticos, situados em área coberta, junto ao Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP/ *Campus* de Jaboticabal (FCAV/ UNESP/ *Campus* de Jaboticabal). Antes do início do experimento os ovinos foram submetidos a um período de adaptação de quinze dias. Durante esse período, além do fornecimento da dieta realizou-se a desverminação desses animais com albendazole (15 mg/kg de peso corporal).

Os animais receberam diariamente uma dieta composta de 700g de matéria seca de feno de tifton 85 (*Cynodon* spp), água à vontade e 200g de concentrado (Nutriovinos - PURINA – Brasil). Os alimentos foram submetidos à análise bromatológica antes do início do experimento, verificando-se principalmente as concentrações de cobre, molibdênio, zinco, enxofre e ferro.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (G-1 e G-2), sendo: G-1: três ovinos que receberam apenas a dieta mencionada (controle) e G-2: três ovinos que receberam a dieta de G-1 + 3mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (VETEC) / Kg PV/ dia, em solução aquosa 5%, por via oral, com auxílio de uma seringa, na primeira semana, seguido de aumentos semanais de 3mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ / Kg PV na dose diária, seguindo as recomendações de Soares (2004) até o aparecimento de hemoglobinúria macroscópica.

Para a obtenção do soro sanguíneo para realização do proteinograma sérico, foram colhidas amostras de sangue nos momentos: M0 – Momento basal; M1 – ± 30 dias anteriores à crise hemolítica; M2 – ± 15 dias anteriores à crise hemolítica; M3 – ± 7 dias anteriores à crise hemolítica; M4 – Dia da crise hemolítica; M5 – 24 horas após a crise hemolítica; M6 – 48 horas após crise hemolítica.

Os teores de proteína total (método do Biureto) foram obtidos com utilização de conjuntos de reagentes comerciais (Labtest); as leituras foram realizadas em analisador bioquímico semi-automático LABQUEST em comprimento de onda adequado. Para o fracionamento das proteínas, utilizou-se eletroforese em gel de poliacrilaminada contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica descrita por LAEMMLI (1970). Após o fracionamento, o gel foi corado durante 10 min em solução de azul de coomassie e, em seguida, colocado em solução de ácido acético a 7% para retirar o excesso de corante, até que as frações protéicas se apresentassem nítidas. As concentrações dessas proteínas foram determinadas em densitômetro

computadorizado (Shimadzu CS 9301 - Tokio, Japan). Como referência, utilizou-se solução marcadora (Sigma - Saint Louis, EUA) com pesos moleculares 29.000, 45.000, 66.000, 97.400, 116.000 e 205.000 dáltons (Da), além de proteínas purificadas - albumina, IgG, haptoglobina, α_1 -antitripsina e transferrina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de eletroforese SDS-PAGE permitiu a identificação de diferentes frações protéicas com pesos moleculares que variaram de 22.000 a 260.000 daltons (Da) em seis ovinos.

Dentre as frações protéicas identificadas ficou evidente que a proteína com peso molecular de 122.000 Da (ceruloplasmina) apresentou redução de seus teores séricos nos ovinos do G2 durante os momentos M1 a M4, quando comparados aos valores basais, e no M5 (24 horas após a crise hemolítica) sua atividade aumentou 37%. FLORIS et al. (2000) descrevem que em pacientes humanos que apresentam desordens, como a doença de Wilson (intoxicação crônica por cobre) apresentam teores circulantes de ceruloplasmina reduzidos ou indetectáveis. O aumento de ceruloplasmina observado no M5 ocorre pelo fato da ceruloplasmina ser uma proteína de fase aguda e responder ao processo inflamatório desencadeado pela hemólise. GUTTERIDGE et al. (1980) relatam que esta proteína atua como um importante antioxidante, inibindo processos de peroxidação lipídica de forma muito mais potente que a superóxido dismutase e a catalase. Assim durante a crise hemolítica a ceruloplasmina executa um papel de proteção celular contra radicais livres corroborando com o trabalho de SOARES (2004) que encontrou a presença de maior atividade antioxidante durante o auge da crise hemolítica.

As proteínas com peso molecular de 83.000 Da (transferrina), 35.000 Da e 27.000 Da (IgG de cadeia leve) também sofreram aumentos que antecederam a crise hemolítica.

A transferrina é uma proteína de fase aguda negativa, cujos teores séricos tendem a diminuir na presença de condição inflamatória (KANEKO, 1997). Entretanto neste estudo essa proteína apresentou-se com atividade elevada nos ovinos do G-2 nos momentos M1 a M6 da intoxicação cúprica acumulativa, tendo seu aumento máximo no M2, quando atingiu 326% quando comparado ao M0. O aumento da transferrina no M2 coincidiu com o momento em que ocorreu a maior redução sérica da ceruloplasmina nos ovinos do G-2. No M4 a transferrina apresentou um aumento de 76% nos ovinos do G-2. O aumento dos teores séricos de transferrina pode estar associado à lesão hepática (KANEKO, 1997) relacionada com o acúmulo de cobre.

A IgG de cadeia leve aumentou em 22% no M2. Este aumento pode estar relacionado tanto às lesões hepáticas quanto à anemia hemolítica presente (KANEKO, 1997). A proteína de 35.000 Da apresentou-se elevada durante os momentos M1 a M6 da intoxicação cúprica acumulativa, apresentando uma elevação de 328% em sua atividade no M2.

Os teores séricos de proteína total mantiveram-se semelhantes entre os ovinos do G-1 e G-2 durante todas as fases da intoxicação crônica por cobre.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que os teores séricos de ceruloplasmina apresentaram-se diminuídos e os teores de transferrina, proteína de 35.000 Da e IgG de cadeia leve apresentaram-se aumentados 15 dias antes da crise hemolítica, devido ao dano ao dano hepático provocado pelo acúmulo de cobre.

REFERÊNCIAS

BRADBERRY, S. Copper. **Medicine**, v. 35, n. 11, p. 608, 2007.

CERÓN, L.L.; ECKERSALL, P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 34, n.2, p. 85-99, 2005.

FLORIS, G.; MEDDA, R.; PADIGLIA, A.; MUSCI, G. The physiopatological significance of ceruloplasmin/ a posible therapeutic approach. **Bio. Pharm.**, v. 60, p. 1735 – 1741, 2000.

GUTTERIDGE, J. M. C.; RICHMOND, R.; HALLIWELL, B. Oxygen free-radicals and lipid peroxidation: inhibition by the protein caeruloplasmin. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 112, n. 2, p. 269-271, 1980.

KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997, cap. 5, p. 117 - 138.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680- 685, 1970.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. 524p.

ORTOLANI, E. L. Intoxicações e doenças metabólicas em ovinos: intoxicação cúprica, urolitíase e toxemia da prenhez. In: SOBRINHO, A. G.; BATISTA, A. M. V.; SIQUEIRA, E. R.; ORTOLANI, E. L.; SUSIN, I.; SILVA, J. I. C.; TEIXEIRA, J. C.; BORBA, M. F. S. **Nutrição de Ovinos**. Jaboticabal: Funep, 1996. p. 241 – 258.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 641-651.

RIET-CORREA, F.; OLIVEIRA, J. A.; MENDEZ, M. C. Intoxicação crônica por cobre em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 3/ 4, p. 51-54, 1989.

SOARES, P. C. **Efeitos da intoxicação cúprica e do tratamento com tetratimolibdato sobre a função renal e o metabolismo oxidativo de ovinos**. São Paulo, 2004, 117.f. (Doutorado em Clínica Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. Wallingford: Cabi Publishing, 2001. 614 p.

ZHANG, Y.; LI, B.; CHEN, C.; GAO, Z. Hepatic distribution of iron, copper, zinc and cadmium-containing proteins in normal and iron overload. **Biometals**. Disponível em: < <http://www.springerlink.com/content/j2r36602217kt481/>> Acesso em: setembro de 2008

AVALIAÇÃO HISTOPATOLOGICA HEPÁTICA E DESEMPENHO OVINOS ALIMENTADOS COM FENO DE *Brachiaria brizantha* OU CANA-DE-AÇUCAR

Flávia Gontijo Lima¹, Carolina Santos Ribeiro², Diogo Di Francescantonio Andrade², Victor Yunes Guimarães², Gustavo Lage Costa¹, Antônio Souza Silva³, Maria Clorinda Soares Fioravanti⁴

1. Pós-Graduandos em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

2. Graduandos em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

3. Técnico em Histologia Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

4. Professora Doutora da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás Caixa Postal 131, CEP 74001-97, Goiânia-GO, Brasil. E-mail: clorinda@vet.ufg.br

PALAVRAS-CHAVE: Santa Inês, colangite, ganho de peso.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF HEPATIC HISTOPATHOLOGY AND PERFORMANCE OF LAMBS FED *BRACHIARIA BRIZANTHA* HAY OR SUGAR CANE

Brachiaria spp. are important forages in tropical regions, especially in the Cerrado of Central Brazil. Some *Brachiaria* species have been described as a cause of hepatic lesions in ruminants. Initially, the disease was attributed to *Pithomyces chartarum* spores, but recent studies suggest that the steroidal saponins contained in the forage are responsible for intoxication. This study evaluates liver histopathology and performance of lambs fed *B. brizantha* hay or sugar cane. A total of 12 Santa Inês lambs were randomly allotted to two experimental groups: hay group (six lambs fed *B. brizantha* hay and concentrates) and sugar cane group (six lambs fed sugar cane and concentrates). *B. brizantha* hay used to feed the animals did not contain *Pithomyces chartarum* spores. The amount of food supplied was based on 4% of body weight and roughage/concentrate ratio was 62:38. After 93 days, the lambs were slaughtered and carcass dressing was measured. The initial average weight of animals in the hay group was 28,00kg ($\pm 3,16$), the final average weight reached was 33,55kg ($\pm 5,13$), the total average weight gain was 5,55kg ($\pm 4,23$), and the average carcass dressing was 46,14% ($\pm 6,55$). The initial weight in the sugar cane group was 27,17kg ($\pm 2,40$), the final average weight reached was 36,92kg ($\pm 3,68$), the total average weight gain was 9,75kg ($\pm 4,80$), and the average carcass dressing was 46,17% ($\pm 1,41$). Lambs in both groups showed similar performances, and liver histopathology revealed the presence of mild and nonspecific hepatic injuries suggestive of cholangitis.

KEYWORDS: Saint Inês breed; cholangitis; weight gain

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem sido observado um crescimento significativo da ovinocultura no país e comparada à criação de bovinos, provavelmente devido às inúmeras vantagens que apresentam como a necessidade de uma área menor de criação, menor consumo de alimento, facilidade de manejo e fornecimento de produtos como leite, carne e couro de boa qualidade (OLIVEIRA, 2001). As cadeias de carne e leite têm nas pastagens a principal fonte de alimento para o rebanho, onde se destacam as gramíneas do gênero *Brachiaria* (ANDRADE et al., 2004).

Algumas espécies de braquiária como *Brachiaria brizantha*, *B. humidicola* e, especialmente, *B. decumbens* têm sido descritas como causadoras de intoxicações em ruminantes podendo provocar até a fotossensibilização hepatógena (LEMOS et al., 2002). O termo fotossensibilização refere-se à sensibilidade exagerada da pele a luz solar, induzida pela presença de um agente fotodinâmico. O tipo de fotossensibilização mais observado em bovinos é a hepatógena, sendo que os principais agentes envolvidos nos casos espontâneos descritos no Brasil são plantas tóxicas e algumas micotoxinas (TOKARNIA et al., 2000).

Inicialmente, a doença foi atribuída à presença do fungo *Pithomyces chartarum*, produtor da toxina esporidesmina (FIORAVANTI, 1999). Alterações histológicas de colangiohepatopatia associada a cristais têm sido observadas em animais que desenvolvem fotossensibilização em pastagens de *Brachiaria*. Essas plantas contêm saponinas esteroidais litogênicas, também responsáveis pela enfermidade (LEMOS et al., 1998).

As saponinas são compostos secundários da planta, geralmente encontrados nos tecidos de maior vulnerabilidade ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos. Conseqüentemente, um de seus papéis é atuar como uma barreira química ou um protetor do sistema de defesa da planta (WINA et al., 2005).

Foi conseguida a reprodução de sinais clínicos de colangiopatia associada a cristais em uma ovelha que ingeriu *B. decumbens* por 89 dias e lesões histológicas, sem sinais clínicos, compatíveis com a enfermidade em outros ovinos que ingeriram a planta por 77 e 150 dias (DRIEMEIER et al., 2002).

É fato que as plantas relacionadas com a fotossensibilização associada a cristais contêm saponinas esteroidais e que os cristais biliares são produto de seus metabolismos, mas

isso não implica que elas sejam as únicas responsáveis pelas lesões hepáticas. É possível que outros fatores, tais como outras plantas ou micotoxinas tenham efeito sinérgico ou levem ao metabolismo anormal que resulte na formação de cristais biliares (MUNDAY et al., 1993).

O objetivo deste estudo foi a avaliação de histopatológica hepática e desempenho de ovinos alimentados com feno de *Brachiaria brizantha* e cana-de-açúcar por meio de histopatologia do fígado e determinação do desempenho, com estabelecimento do ganho de peso e rendimento de carcaça.

MATERIAL E MÉTODOS

No experimento foram utilizados 12 ovinos da raça Santa Inês, com idade aproximada de três meses, que constituíram dois grupos experimentais: GF – seis ovinos alimentados com volumoso feno de *B. brizantha* (presença de saponina) e concentrado e GC – seis ovinos alimentados com cana-de-açúcar (ausência de saponina) e concentrado. Os ovinos foram submetidos a um período de adaptação de 14 dias e 93 dias de experimento. As duas dietas obedeceram à proporção entre volumoso e concentrado de 62:38. O concentrado foi balanceado para atender as exigências nutricionais dos animais e minimizar as diferenças entre as duas dietas, para que fosse nutricionalmente o mais parecido possível.

A quantidade de alimentos fornecida baseou-se em 4% do peso vivo médio dos animais de cada grupo. Esta quantidade foi recalculada a cada nova pesagem.

O feno de *Brachiaria brizantha* foi produzido e armazenado na Escola de Veterinária da UFG, após a determinação da concentração de saponina e análise da ausência de esporos do fungo *Pithomyces chartarum*.

Para a avaliação histopatológica as amostras de fígado foram fixadas em formalina a 10% tamponada e, depois de 48 horas, armazenadas em álcool a 70%. Posteriormente foram processadas de acordo com a rotina do laboratório e coradas técnica da hematoxilina.

Para a avaliação do desempenho as pesagens ocorreram sob jejum alimentar prévio de 14 horas. Os ovinos foram pesados nos dias zero (D0), 21 (D21), 49 (D49), 77 (D77) e 93 (D93). Após o abate no dia 93 a carcaça foi pesada para obtenção do peso morto e posterior cálculo do rendimento de carcaça. Para comparar os resultados entre grupos foi utilizado o teste Mann-Whitney.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adaptação às condições ambientais e de manejo alimentar foi satisfatória e os ovinos demonstraram comportamento fisiológico para a espécie ao longo do período do estudo.

Os animais apresentaram ingestão adequada de alimentos ao longo de todo o experimento, ocorrendo redução no último período, quando teve início o período chuvoso. Como as baias eram descobertas, o alimento e o piso ficavam úmidos, o que afetou consideravelmente o consumo e o conforto ambiental dos animais.

A braquiária utilizada para a produção do feno e feno depois de pronto não apresentaram esporos do fungo *Pithomyces chartarum*. A contagem de esporos do fungo na área de pastagem destinada à produção do feno, bem como do feno fez-se necessária uma vez que a fotossensibilização hepatógena também é atribuída à esporidesminotoxicose.

A avaliação histológica dos animais do GF e do GC revelou hepatócitos preservados e a presença de infiltrados celulares mononucleares multifocais no parênquima hepático e também no espaço porta. Nos animais do GC também se constatou, em quatro animais, degenerações micro e macrovacuolares sugestivas de esteatose hepática, restritas às zonas 1 e 2 do ácino hepático.

Em nenhum dos grupos foi evidenciada a presença de macrófagos espumosos, cristais ou pigmentos biliares. A presença de infiltrado mononuclear no espaço porta, quase sempre em torno dos ductos biliares, caracterizou colangite.

A presença de infiltrados celulares mononucleares também foi observada por CRUZ et al. (2001) em experimento com a administração de extratos fracionados de *B. decumbens* com níveis não detectáveis de esporos do fungo *P. chartarum* em ovinos. Estes pesquisadores relataram além da presença de infiltrados de macrófagos e linfócitos no parênquima e espaço porta, a proliferação de ductos biliares, evidenciando áreas multifocais de colangite. Constataram também a presença de cristais dentro dos ductos biliares e macrófagos, alterações não observadas no presente estudo.

Os ovinos alimentados com feno de *Brachiaria brizantha*, apesar da presença de infiltrados mononucleares multifocal no parênquima e espaço porta, mostraram a estrutura dos hepatócitos e ductos biliares preservada. Resultados diferentes, foram descritos por BRUM et al. (2007) em um surto de fotossensibilização hepática em ovinos causada pela ingestão de *Brachiaria decumbens* sem a presença de esporos do fungo *P. chartarum*, que observaram degeneração epitelial, necrose e hiperplasia de ductos biliares, tumefação e vacuolização difusas dos hepatócitos, discreta quantidade de macrófagos e cristais dentro dos ductos biliares e macrófagos espumosos. MENDONÇA et al. (2008) em um surto de

fotossensibilização hepática em ovinos causada pela ingestão de *Brachiaria decumbens* sem a presença de esporos do fungo *P. chartarum*, relataram o acúmulo de pigmentos biliares, hepatócitos binucleares, alguns com núcleo picnótico e proliferação de ductos biliares.

DRIEMEIER et al. (2002), ao induzirem a intoxicação de ovinos por pastagem *Brachiaria decumbens*, sem a presença de esporos do fungo *P. chartarum*, mantiveram os animais sob pastejo por 77, 89 e 150 dias. A análise microscópica de áreas de palidez no fígado foram observadas áreas multifocais de colangite, com proliferação de ductos biliares, presença de cristais no interior dos ductos biliares, células gigantes, hepatócitos com degeneração hidrópica e em necrose. Nos animais abatidos com 150 dias os infiltrados inflamatórios apresentavam macrófagos espumosos. Somente o animal abatido aos 89 dias apresentou sinais clínicos de fotossensibilização hepática. Neste presente estudo as lesões foram mais brandas, pois os animais não possuíam sinais clínicos da doença, ao contrário dos anteriormente por DRIEMEIER et al. (2002), que apresentaram sinais clínicos de fotossensibilização hepática.

O peso médio inicial dos animais do GF foi de 28,0kg ($\pm 3,16$), peso final 33,55kg ($\pm 5,13$), ganho de peso 5,55kg ($\pm 4,23$) e rendimento de carcaça 46,14% ($\pm 6,55$). No GC o peso médio inicial foi de 27,17kg ($\pm 2,4$), peso final 36,92kg ($\pm 3,68$), ganho de peso 9,75kg ($\pm 4,8$) e rendimento de carcaça 46,17% ($\pm 1,41$).

Não houve diferença estatística entre os valores médios de cada pesagem entre os grupos ($P > 0,05$). O GC apresentou maior média de peso ao final do experimento, provavelmente devido à maior ingestão de alimento, pois, devido ao alto teor de umidade, a cana de açúcar possui maior palatabilidade em relação ao feno de braquiária, aumentando o consumo da mesma (SOARES-FILHO, 1999). O rendimento de carcaça foi semelhante entre os grupos, indicando que as dietas fornecidas aos grupos eram equivalentes e que ambos sofreram as mesmas interferências do ambiente.

CONCLUSÕES

Ovinos alimentados com feno de *Brachiaria brizantha* ou cana-de-açúcar apresentam alterações histológicas características de colangite discreta.

A alimentação de ovinos com feno de *Brachiaria brizantha* promove desempenho semelhante a ovinos alimentados com cana-de-açúcar.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro e a CAPES pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R. P.; BOAS, H. D. V.; SILVEIRA, G. C.; PAIVA, L. **A parceria Embrapa-Unipastos e seu impacto na pesquisa e desenvolvimento de pastagens tropicais do Brasil**. [online], 2004. Matéria Técnica da Embrapa UNIPASTO. Disponível em: <http://www.abrasem.com.br/>. Acesso em 20 de agosto de 2006.
- BRUM, K. B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTI, M. C. S. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v.27, n.1, p.39-42, 2007.
- CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V. S.; COLODEL, E. M.; TAKETA, A. T. C.; SCHENKEL, E. P. Isolation of steroidal sapogenins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazin *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v. 42, n. 3, p. 142-145, 2000.
- CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V. S.; SCHENKEL, E. P. Experimentally induced cholangiopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Stillwater, v. 13, p. 170-172, 2001.
- DRIEMEIER, D.; COLODEL, E. M.; SEITZ, A. L.; BARROS, S. S.; CRUZ, C. E. F. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. **Toxicon**, Oxford, v. 40, p. 1027-1031, 2002.
- FIORAVANTI, M. C. S. **Incidência, avaliações clínica, laboratorial e anatomopatológica da intoxicação subclínica por esporidesmina em bovinos**. 1999. 256f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO, L.; HERRERO JR, G. O.; SILVEIRA, A. C.; PORFÍRIO, L. C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 507-510, 1998.
- LEMOS, R. A. A.; PURISCO, E. Plantas que causam fotossensibilização hepatógena. In: LEMOS, R. A. A.; BARROS, N.; BRUM, K. B. (Org.). **Enfermidades de interesse econômico em bovinos de corte: perguntas e respostas**, Campo Grande: UFMS, 2002. p. 147-155.
- MENDONÇA, F. S.; CAMARGO, L. M.; FREITAS, S. H.; DÓRIA, R. G. S.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; JOAQUIM EVÊNCIO-NETO, J. Aspectos clínicos e atológicos de um surto de fotossensibilização hepatógena em ovinos pela ingestão de *Brachiaria decumbens* (Gramineae) no município de Cuiabá, Mato Grosso. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.9, n.4, p.1034-1041, 2008.
- MUNDAY, S. C.; WILKINS, A. L.; MILES, C. O.; HOLLAND, P. T. Isolation and structure elucidation of dichotomin, a furostanol saponin implicated in hepatogenous photosensitization of

sheep grazing *Panicum dichotomiflorum*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 41, p. 267-271, 1993.

OLIVEIRA, C. A. A. **Influência da temperatura e do tempo de estocagem nas avaliações dos níveis séricos das proteínas totais, albumina, uréia e creatinina em ovinos e caprinos**. 2001. 41f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SOARES-FILHO, C. V. S. **Palatabilidade e seus efeitos na produção de bovinos**. 1999. 24f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310 p.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant productions: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, p.8093-8105, 2005.

BRAQUIÁRIA: FATORES QUE INTERFEREM NOS NÍVEIS DE SAPONINA

Flávia Gontijo Lima¹, Carolina Santos Ribeiro², Diogo Di Francescantonio Andrade², Victor Yunes Guimarães², Harry Léo Wysocki Júnior³, Mitsue Haraguchi⁴, Maria Clorinda Soares Fioravanti⁵

1. Pós-Graduanda em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás
2. Graduandos em Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás
3. Graduando em Farmácia na Universidade do Grande ABC
4. Pesquisadora Doutora do Instituto Biológico
5. Professora Doutora da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás Caixa Postal 131, CEP 74001-97, Goiânia-GO, Brasil. E-mail: clorinda@vet.ufg.br

PALAVRAS-CHAVE: Gramíneas tropicais, fígado, intoxicação, protodioscina

ABSTRACT

STUDY OF BRACHIARIA SPECIES AND SAPONIN LEVELS

Saponins are found in plants that are vulnerable to fungal or bacterial attack, or insect predation. They serve as chemical barriers in the plant's defense system. A total of 24 experimental plots with dimensions of 3x4m were manually planted, half *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, half *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Treatment combinations consisted of three levels of nitrogen (0, 50, 100 kg/ha) and their development was observed during 12 months. Sample analysis was carried out 60, 120, 180, 240, 300 and 360 days after planting. Saponin concentrations were higher in *B. decumbens* than *B. brizantha*, It was also true during growth phases in both plants, although there was some variation along the rest of the year. Levels of nitrogen fertilizers did not alter saponin production.

KEYWORDS: Liver; poisoning; protodioscin; tropical grasses

INTRODUÇÃO

As saponinas são compostos originários do metabolismo secundário das plantas, geralmente encontrados nos tecidos de maior vulnerabilidade ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos. Conseqüentemente, um de seus papéis é atuar como uma barreira química ou como um protetor do sistema de defesa da planta (WINA et al., 2005).

São glicosídeos com núcleo tipo furostanólico ou espirostanólico, que contém uma ou várias cadeias de açúcares, possuem 6 isoprenos e 30 átomos de carbono, chamando-se de triterpenos. Como o próprio nome indica, as saponinas são prontamente reconhecidas pela formação de espuma persistente e abundante quando em solução aquosa (PERES, 2004).

Segundo PIRES et al. (2002), existem quatro saponinas esteroidais e três sapogeninas das partes aéreas de *B. decumbens*. A gramínea pertence ao grupo de plantas capazes de induzir fotossensibilização hepatógena semelhantes aquelas descritas por *Panicum spp.*, *Tribulis terrestris*, *Agave lecheguilla* e *Nartheceum ossifragum*. Essas espécies são todas conhecidas por conterem saponinas esteróides que tem sido associada com a deposição de material cristalóide no sistema biliar e fotossensibilização.

Diante de várias lacunas quanto a etiopatogenia de lesões hepáticas detectadas em ruminantes saudáveis ou com sinais de fotossensibilização alimentados com gramíneas do gênero *Brachiaria*, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos controlados efetuando-se a quantificação da saponina nas pastagens.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram plantados manualmente 24 canteiros de dimensões 3x4 metros, 12 com *B. decumbens* cv. Basilisk e 12 com *B. brizantha* cv. Marandu, em um terreno da Universidade Federal de Goiás (UFG). Cada canteiro de 12m² foi dividido em 14 linhas de 4m lineares, de modo que em cada colheita foram retiradas duas linhas, sobrando duas linhas como margem de segurança. Foi aplicado no solo, calcário para a correção de acidez e fósforo, potássio e micro minerais para correção das deficiências de acordo com análise do solo. Para cada espécie de braquiária foram utilizados três níveis crescentes de nitrogênio (0, 50, 100 kg/ha), com quatro repetições de cada nível, que foram aplicados a partir de uréia fertilizante diluída em água e aspergidos sobre as plantas 30 dias após o plantio.

O desenvolvimento das plantas foi acompanhado por 12 meses. Cada canteiro foi amostrado aos 60, 120, 180, 240, 300 e 360 dias, após o plantio, para a determinação da concentração de saponina durante esse período (crescimento, florescimento, frutificação), de modo a acompanhar as variações na quantidade de saponina protodioscina ao longo do ano.

Os canteiros foram plantados no dia 19/12/2007 e as colheitas de capim foram realizadas a cada 60 dias até completar um ano de acompanhamento nos dias: 18/02/2008 (1ª colheita 60 dias após o plantio), 17/04/2008 (2ª colheita 120 dias após o plantio), 16/06/2008 (3ª colheita 180 dias após o plantio), 15/08/2008 (4ª colheita 240 dias após o plantio),

14/10/2008 (5ª colheita 300 dias após o plantio) e 13/12/2008 (6ª colheita 360 dias após o plantio).

Para a determinação da quantidade de saponina as plantas foram cortadas rente ao solo (5cm) em a quantidade de pastagem fresca suficiente para a análise. As folhas secas moídas, de *B. decumbens* e *B. brizantha* ficaram em maceração no etanol (EtOH) 92%, sendo posteriormente submetidas ao rotaevaporador para extração dos respectivos extratos etanólicos brutos (EE). Cada EE foi suspenso em água e sucessivamente fracionado por partição, em funil de decantação, com éter sulfúrico, etil acetato e butanol saturado com H₂O com o objetivo de produzir as frações solúveis em éter, etil acetato e butanol (BuR), respectivamente. Todas as frações foram evaporadas por secagem em câmara de vácuo. Cada resíduo EE e BuR das amostras e uma mistura de protodioscina e seus isômeros (controle) foram aplicados em placas de cromatografia de camada delgada (CCD) com sílica gel no seguinte sistema de solventes: clorofórmio, metanol e água (64:36:8) e butanol, ácido acético e água (4:1:2). Posteriormente as placas foram aspergidas com H₂SO₄ 10% e com o reagente de Ehrlich. As amostras positivas foram submetidas à determinação espectrofotométrica para saponina furostanol segundo o método descrito por GJULEMETOWA et al. (1982).

Os dados referentes às precipitações pluviométricas mensais (mm), temperatura (°C) e insolação (horas de exposição à radiação solar ao longo do dia) do município de Goiânia, do período de dezembro de 2007 a dezembro de 2008 foram fornecidos pelo Setor de Engenharia Rural da Escola de Agronomia da UFG, uma estação evaporimétrica de primeira classe.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As porcentagens de saponina encontradas variaram de 0,48% a 3,88%. A quantidade de saponina detectada na *Brachiaria decumbens* foi significativamente maior ($P<0,05$) que na *Brachiaria brizantha*, em todos os momentos avaliados. Ambas as espécies de braquiária apresentaram a maior concentração média de saponina na primeira colheita (BB= 2,39% e BD= 3,15%) e a menor média foi observada na quinta colheita (BB= 0,61% e BD= 1,06%).

A porcentagem de saponina protodioscina nos diferentes níveis de adubação, considerando os canteiros de *B. decumbens* (BD) e *B. brizantha* (BB) não apresentou diferença significativa ($P>0,05$), o que permitiu o agrupamento dos dados por gramínea e por período, desconsiderando os três níveis de adubação.

Os resultados deste estudo mostraram variação da saponina protodioscina entre as espécies e dentro da mesma espécie considerando a idade da gramínea. Resultados

semelhantes são apontados por MEAGHER et al. (1996) em um estudo com *Panicum* sp e *B. decumbens* que mostrou que os níveis de saponinas e sapogeninas podem variar entre as espécies e dentro da mesma espécie, de acordo com a idade da planta e o local de colheita. Observações similares foram feitas por FLAØYEN et al. (2004) que avaliaram a concentração de sapogeninas em amostras de *Narthecium ossifragum* e descreveram variação entre os locais, ao longo de uma estação do ano e possivelmente entre as plantas.

O clima no Estado de Goiás caracteriza-se por duas estações bem definidas, o período seco (abril a setembro) e o período chuvoso (outubro a março). A maior média de precipitação pluviométrica no período deste experimento ocorreu entre a primeira colheita (19 de fevereiro) e a segunda (17 de abril) e diminuiu consideravelmente nas colheitas posteriores à voltando a subir a partir do mês de setembro, próximo à quinta colheita (14 de outubro). A temperatura se manteve constante durante todo período experimental e a insolação foi maior nos meses de abril a outubro.

Durante a quinta colheita, feita posteriormente ao período de menor precipitação pluviométrica (meses de julho, agosto e setembro) notou-se uma menor porcentagem de saponina nas pastagens. Já na primeira colheita, realizada no período de maior precipitação pluviométrica (meses de janeiro, fevereiro e março), foi quando se obteve maior porcentagem de saponina na pastagem, entretanto este comportamento não se repetiu nos meses de outubro e dezembro, onde a precipitação pluviométrica também estava alta.

Neste estudo o maior teor de saponina observado foi em pastagem de *B. decumbens* durante o período de crescimento. BRUM et al., 2004 e BRUM (2006) revelaram que a fase de maior concentração de saponina protodioscina foi a fase final do ciclo de vida de *B. brizantha* e *B. decumbens*. Evidenciando, portanto, que os teores de saponinas nas plantas não são constantes.

A menor concentração de saponina ocorreu no mês de outubro (final do período seco e início das chuvas). O estresse hídrico pode ter relação com a redução na produção de saponina pelas gramíneas (OLESZEK, 2002). No momento desta colheita as plantas apresentavam alta quantidade de folhas secas, o que também pode ter contribuído para a diminuição nos teores de saponina. Segundo BARBOSA-FERREIRA et al. (2009) as folhas secas contêm quatro vezes menos saponinas do que as folhas verdes. A partir dessas observações, pode-se sugerir que a época do ano influenciou significativamente ($P<0,05$) a concentração de saponinas nas amostras de plantas avaliadas.

Considerando que a maior concentração das saponinas nas pastagens foi encontrada durante a fase inicial do ciclo de vida da planta, esse resultado foi corroborado por SEN et al. (1998) que encontraram maior conteúdo de saponinas nas plantas de *Medicago lupulina* imaturas do que nas maduras.

A maior quantidade de saponina foi observada neste estudo foi na primeira colheita, onde predominava maior número de folhas jovens. BARBOSA-FERREIRA et al. (2009) estudando a concentração de saponina protodioscina em folhas de *B. brizantha* encontraram que folhas jovens apresentaram maior teor de saponinas do que as maduras, tornando-se condizente com este trabalho. No entanto, os autores correlacionaram positivamente a concentração de saponina em folhas jovens com a insolação e nas folhas maduras com a temperatura. No presente estudo não houve relação entre concentração de saponina e insolação ou temperatura.

CONCLUSÕES

A quantidade de saponina observada na *B. decumbens* é maior do que na *B. brizantha*. As quantidades de saponina são maiores durante a fase de crescimento das braquiárias e variam ao longo do ano. O nível de adubação nitrogenada não interfere na quantidade de saponina da *Brachiaria spp.*

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro e a CAPES pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS

BARBOSA-FERREIRA, M., BRUM, K. B., FERNANDES, C., E., MARTINS, C., F., PINTO, G., S., CASTRO, V., S., REZENDE, K., G., RIET-CORREA, F., HARAGUCHI, M., JUNIOR, H., L., W., LEMOS, R., A., A. Variations of saponin level X maturation in *Brachiaria brizantha* leaves: Preliminary data. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POISONOUS PLANTS, 8., 2009, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: ISOPP, 2009. P.13.

BRUM, K. B. **Papel das saponinas e do *Pithomyces chartarum* como agentes hepatotóxicos para ruminantes em sistema de pastejo.** 2006. 93f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

BRUM, K. B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R. A. A.; FIORAVANTI, M. C. S. 2004, Colangiopatia associada a cristais em ovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens*. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE PLANTAS TÓXICAS, 1., 2004, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Pesquisa Veterinária Brasileira, 2004. 24 (supl): 14.

FLAØYEN, A.; WILKINS, A. L.; Di MENNA, M. E.; SANDVIK, M. The concentration of steroidal sapogenins in the degree of fungal infection on *Narthecium ossifragum* plants in Møre and Romsdal Country, Norway. In ACAMOVIC, T.; STEWART, C. S.; PENNYCOTT, T. **Poisonous plants and related toxins**. Wallingford, Oxon: CABI Publishing, 2004. 608p.

GJULEMETOWA, R.; TOMOWA, M.; SIMOWA, M.; PANGAROWA, T.; PEEWA, S. Über die bestimmung von furostanolsaponinen im präparat tribestan. **Die Pharmazie**, Eschborn, v. 37, p. 296, 1982.

MEAGHER, L. P.; MILES, C. O.; FAGLIARI, J. J. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. **Veterinary and Human Toxicology**, Manhattan, v.38, n.4, p.271-274, 1996.

OLESZEK, W. A. Chromatographic determination of plant saponins. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 967, p. 147-162, 2002.

PERES, L. P. **Metabolismo secundário**. [online], 2004. Disponível em: <http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp/FisioVegGradBio/MetSec.pdf#search=%22SAPONINA%20diosgenina%22>. Acesso em: 20 de agosto de 2006.

PIRES, V. S.; TAKETA, A. T. C.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Saponins and sapogenins from *Brachiaria decumbens* Stapf. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v.13, n.2, p.135-139, 2002.

SEN, S.; MAKAR, H. P. S.; BECKERPLANT, K., Alfalfa saponins and their implication in animal nutrition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 1, p. 131–140, 1998.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The Impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant productions: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, p.8093-8105, 2005.

**EXTRATO DA CASCA DO BARBATIMÃO (*Stryphnodendron barbatiman Martius*)
ASSOCIADO AO TRATAMENTO CIRÚRGICO E TOALETE DOS CASCOS NA
RECUPERAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE COM DERMATITE DIGITAL**

Luiz Antônio Franco da Silva¹, Maria Ivete de Moura², Camille Bastos Persiano³, Jalily Bady Helou³, Caroline Rocha de Oliveira Lima², Sabrina Lucas Ribeiro de Freitas³, Jordanna de Almeida e Silva³, Daniel Silva Goulart², Luma Tatiana Silva Castro⁴

1. Professor Associado de Clínica Cirúrgica Animal, EV/UFG, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil, CEP 74001-970, – E-mail: lafranco@vet.ufg.br (autor correspondente)
2. Aluno(s) do Programa de Pós- Graduação EV/UFG- Bolsista CNPQ
3. Acadêmicas de Medicina Veterinária EV/UFG- Bolsista CNPQ
4. Acadêmica de Medicina Veterinária

PALAVRAS CHAVE: Casqueamento, doença digital, fitoterapia

ABSTRACT

**EFFECT OF EXTRACT OF *STRYPHNODENDRON BARBATIMAN MARTIUS* ON
THE SURGICAL TREATMENT AND HOOF CARE OF NELORE CATTLE WITH
DIGITAL DERMATITIS**

Digital diseases of cattle may cause significant economic losses, so a lot of attention needs to be paid to them. Hoof care is a preventive measure that helps lessen the chances of lameness. It consists of removing excess dead tissue by trimming, which ensures better weight distribution on the claws. This study evaluates the therapeutic properties of barbatimão bark extract solutions and unguents for surgical use, hoof care, and healing of digital dermatitis lesions in Nelore cattle. A total of 120 animals presenting footwart lesions at different stages of development were investigated. They were divided into three groups of 40 animals each (GI, GII, and GIII) and received different types of treatment: application of barbatimão solution; application of unguent; and use of pediluvium, respectively. Comparison of treatments and lesions was carried out by a chi-square test with significance of $p < 0,05$. We observed that the use of barbatimão extract in the surgery and hoof care of healthy and sick animals contributed in some degree to the healing process of digital dermatitis lesions, especially the solution form, which resulted in rapid recovery.

KEYWORDS: Corrective trimming; digital lesions; phytotherapy.

INTRODUÇÃO

O melhoramento genético e a introdução de métodos inovadores de criação e manejo trouxeram melhorias expressivas à bovinocultura brasileira, mas, em contrapartida, ocasionaram enfermidades que antes não existiam ou apresentavam-se sob controle. Dentre as mais importantes encontram-se as doenças digitais, as quais oneram substancialmente o sistema de produção.

Para GREENOUGH et al. (1981) as úngulas ou cascos servem como barreira protetora das estruturas internas contra traumatismos e agentes infecciosos, que participam na etiopatogenia das enfermidades digitais, portanto devem possuir dimensões adequadas. Segundo VAN AMSTEL (1995) o toailete do casco é uma forma efetiva de prevenir ou mesmo tratar doenças digitais. Consiste em cortar e aparar o excesso de tecido córneo, ajustando corretamente suas proporções para melhor distribuição do peso do animal sobre os dígitos e proteger as estruturas internas do casco. A pesquisa empregando produtos naturais para auxiliar a cicatrização de feridas tem sido intensificada por se tratar de uma alternativa de baixo custo e grande disponibilidade para a população de baixa renda. O barbatimão é uma leguminosa nativa do cerrado brasileiro, considerado como planta medicinal (CORRÊA, 1984). Sua utilização em enfermidades digitais dos bovinos foi descrita por MITIDIERO (2002), que, ao utilizar a fitoterapia como uma opção alternativa para manutenção da sanidade do rebanho leiteiro, obteve resultados satisfatórios. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação tópica do extrato da casca do barbatimão nas formas de solução e ungüento, associado ao tratamento cirúrgico e ao toailete dos estojos córneos digitais, saudáveis e doentes, na recuperação de lesões de dermatite digital em bovinos da raça nelore.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado após submissão do Projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFG, seguindo os preceitos de ética e bem-estar animal recomendados pelo COBEA, sob o protocolo N° 018, com parecer favorável. A pesquisa se desenvolveu entre 2007 e 2008, empregando 120 bovinos, da raça Nelore, com dermatite digital em diferentes graus de evolução clínica, sexo masculino, peso médio de 360 kg e idade aproximada de 28 meses. Independente do ano estipulou-se o período compreendido, entre os meses de maio e outubro, para a realização do estudo, momento que coincidia com a estação seca do ano na região onde o trabalho se desenvolveu. Os animais foram distribuídos, em três grupos contendo 40 bovinos cada, (GI, GII e GIII), constituídos a partir da evolução clínica da enfermidade, gravidade das lesões e no protocolo terapêutico adotado no pós-operatório. Cada grupo era

composto por animais que apresentavam a dermatite digital em diferentes fases de evolução clínica e com lesões digitais variando de intensidade. Quanto à apresentação clínica, a doença foi classificada em inicial, erosiva e papilomatosa e no que se referem à gravidade, as lesões foram distribuídas em discretas, moderadas e intensas. Para o tratamento cirúrgico das lesões realizou-se a tranquilização dos animais com cloridrato de xilazina 2% e bloqueio loção com cloridrato de lidocaína a 2%. Na seqüência fez-se o toalete dos estojos córneos digitais, doentes e saudáveis, removendo-se o excesso do tecido córneo da extremidade das pinças, região axial, muralha e talões, ajustando as dimensões dessas estruturas anatômicas aos padrões de normalidade. Imediatamente após o tratamento cirúrgico, de uma solução a base de percloroeto de ferro, iodo metálico e salicilato de metila, associada à oxitetraciclina pó. Na seqüência, a ferida foi protegida com algodão hidrófilo e sobre este se polvilhou sulfato de cobre. Continuando, sobrepôs faixas elásticas que foram impermeabilizadas com um produto a base de dicloro divinil pivolidona, orto-ortodimetil para-nitrofenil-fosforodiato e alcatrão vegetal esterelizado. Por último, realizou-se antibióticoterapia via parenteral utilizando um medicamento contendo oxitetraciclina. No sétimo dia do pós-operatório o curativo foi removido, iniciando-se a aplicação tópica e diária do extrato da casca do barbatimão a 10% nos animais alocados nos grupos GI e do ungüento contendo extrato da casca do barbatimão também a 10% nos bovinos pertencentes aos grupos GII. As feridas cirúrgicas dos bovinos que compuseram o grupo GIII não receberam tratamento medicamentoso tópico após a remoção das faixas, no entanto as feridas foram higienizadas em pedilúvio contendo água. Os dados foram analisados pelo teste do Qui - Quadrado (χ^2), com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) por meio do software computacional SPSS 15.0. Os demais resultados foram analisados descritivamente conforme recomendação de (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os resultados obtidos verifica-se que houve diferença significativa ($p < 0,001$) quando comparou os grupos GI, GII e GIII. Do total de 40 bovinos com dermatite digital distribuídos em cujo tratamento das feridas cirúrgicas empregou o extrato da casca do barbatimão recuperou 29 (72,5%) animais. Mas o número reduziu para 27 (67,5%) aplicando o ungüento e quando se empregou apenas a água em pedilúvio, somente cinco (12,5%) bovinos se recuperaram. Tanto os animais submetidos ao tratamento com extrato da casca de barbatimão quanto aqueles nos quais se utilizou o ungüento, o índice de recuperação foi superior àquele encontrado para os animais do grupo controle. Segundo VASCONCELOS et al. (2004) o barbatimão apresenta como constituintes químicos alcalóides, flavonóides,

terpenos, estilbenos, esteróides, inibidores de proteases, como a tripsina e taninos sendo que a atividade farmacológica do barbatimão como cicatrizante se deve a esta riqueza destes compostos, justificando, em parte, os achados encontrados.

Quanto à apresentação clínica das lesões não houve diferença significativa, quanto aos animais do GI e GII, porém no GIII, existiu diferença quando a lesão se encontrava na fase inicial comparando com a fase papilomatosa recuperando assim maior número de animais. Deste modo, quando as lesões que se encontravam na fase inicial, de um total de oito animais cujas feridas receberam o extrato da casca do barbatimão (Grupo GI), sete (87,5%) se recuperaram e apenas um (12,5%) não se recuperou. Quanto aos dez bovinos distribuídos no grupo GII nos quais as feridas receberam ungüento contendo extrato da casca do barbatimão, oito (80%) ficaram curados e em dois (20%) não houve recuperação. Dos 17 animais contendo lesões erosivas e pertencentes ao grupo GI, 13 (76,47%) se recuperaram e quatro (23,53%) não se recuperaram. No grupo GII de um total de 12 bovinos que receberam o tratamento, em nove (75%) ocorreu recuperação completa e em três (25%) o problema não se resolveu. Dentre os 15 bovinos com lesões papilomatosas alocados no grupo GI, em nove (60%) a enfermidade foi solucionada e em seis (40%) não ocorreu à cura. Já no grupo GII dos 18 animais tratados a cura completa ocorreu em dez (55,56%) e em oito (44,44%) o tratamento não foi totalmente eficaz. NICOLETTI (2004), porém não estabeleceu o índice de recuperação de acordo com a evolução clínica da doença.

Houve diferença significativa quanto a recuperação dos animais entre quanto aos diferentes grau de gravidade ($p < 0,019$) das lesões, seja do GI, GII ou GIII, assim as lesões discretas e moderadas apresentaram índice de recuperação igual ou superior a 50%, independente de ser tratadas com extrato da casca do barbatimão ou com ungüento contendo o extrato. Entretanto, ocorreu o inverso quando as feridas foram higienizadas apenas com água em pedilúvio, reforçando a necessidade de se empregar produtos com ação terapêutica tópica sobre as lesões decorrentes do tratamento cirúrgico da dermatite digital em bovinos. Dentre os 40 animais que compuseram o grupo GI, em 12 (30%) a enfermidade foi diagnosticada nos membros torácicos e em 28 (70%) nos membros pélvicos. No grupo GII, nos membros torácicos, a doença esteve presente em 10 (25%) bovinos e em 30 (75%) nos membros pélvicos. Entre os animais do grupo GIII, oito (20%) bovinos apresentaram a dermatite digital nos membros torácicos e 32 (80%) nos membros pélvicos. Quanto aos membros acometidos observou-se que, independente do grupo ao quais os animais pertenciam, o membro pélvico direito foi o mais afetado, totalizando 54 (45%) bovinos. Estes resultados encontram respaldo nos trabalhos de ROMANI (2003) e CHIQUETTO (2004) os quais também verificaram que o

membro pélvico direito e o dígito lateral foram os mais afetados, independente do grupo em que os animais foram alocados.

Os achados relativos a evolução clínica da cicatrização das feridas cirúrgicas indicam que não se observou diferença estatística entre os grupos GI e GII, mas a recuperação dos animais distribuídos no primeiro grupo foi antecipada, sugerindo que a distribuição e o contato do extrato da casca do barbatimão com a ferida cirúrgica foi mais eficaz. Apesar da formulação na forma de unguento ter apresentado resultados semelhantes ao do extrato, pela consistência mais sólida do produto, é possível que nem sempre o medicamento atingia a ferida em sua plenitude. Assim, acredita-se que o medicamento na forma de extrato, se utilizado em pedilúvio, poderia apresentar melhores resultados, além de facilitar o manejo dos animais e a aplicação do medicamento.

Mesmo ficando comprovado o efeito medicamentoso das formulações empregadas, não se pode negligenciar que os ajustes nas medidas dos cascos também foram importantes para a recuperação dos animais. A lixadeira BOSCH[®] Modelo 7081-5, adaptada para se realizar os ajustes nas dimensões das pinças, muralha e talões às medidas anatômicas mostrou-se ser funcional, pois os resultados obtidos apontaram que a adaptação realizada propiciou a remoção do excesso do estojo córneo, ajustando as dimensões dos cascos, tanto do dígito enfermo como dos saudáveis, de forma precisa e sem anfractuosidades.

Os resultados obtidos indicam a importância de praticar o toalete dos estojos córneos, paralelamente ao tratamento cirúrgico das lesões, mas sugerem que isoladamente não soluciona o problema, sendo necessário o uso tópico de formulações farmacêuticas para a recuperação clínica das feridas ser satisfatória. Argumentos semelhantes foram empregados por FERREIRA et al.(2005) que também atribuíram vantagens ao toalete do casco, como a manutenção da saúde dos dígitos, pois o processo restabelece a forma e as proporções normais do estojo córneo, facilitando a locomoção dos animais.

Os maiores índices de recuperação foram observados entre os bovinos distribuídos em todos os grupos após completar 45 dias do pós-operatório, resultados que encontram sustentação nas afirmações feitas por DIRKSEN (1993), que considera de grande importância a conformação e o aprumo dos membros, pois, quando estes estão comprometidos podem influenciar diretamente no aparecimento de outras complicações ou lesões do casco.

CONCLUSÃO

O uso tópico do extrato da casca do barbatimão nas formas, de solução e unguento, associado ao tratamento cirúrgico e ao toalete dos estojos córneos digitais, saudáveis e

doentes auxiliou na recuperação de lesões de dermatite digital em bovinos da raça Nelore, mas a solução antecipou a recuperação.

REFERÊNCIAS

CHIQUETO, C. E. **Efeitos da dermatite digital sobre características andrológicas de touros da raça Holandesa**. 2004. 48f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. p. 267-269.

DIRKSEN, G. Sistema locomotor. In: DIRKSEN, G. GRÜNDER, H-D.; STRÖBER, M. Rosenberger, **Exame clínico dos bovinos**. 3.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. P.3 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.315-340.

FERREIRA, P. M.; CARVALHO, A. U.; FILHO, E. J. F.; FERREIRA, M. G.; FERREIRA, R. G. Afecção do sistema locomotor dos bovinos. In: **SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA**, 2, 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, 2005.

GREENOUGH, P. R.; MACCALLUM, F. J.; WEAVER, A. D. **Lameness in cattle**. 2.ed. Bristol: Wright Sciencetchnica, 1981. 471p.

MITIDIERO, A.M.A. **Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterápicos como opção na bovinocultura leiteira: avaliação dos aspectos sanitários e de produção**. 2002. 119f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

NICOLETTI, J. L. M. **Manual de podologia bovina**. São Paulo: Manole, 2004. 126p.

ROMANI, A. F. **Aspectos epidemiológicos de lesões podais, fatores de risco e caracterização da inflamação do tecido interdigital em bovinos de aptidão leiteira no Estado de Goiás**. 2003. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

VAN AMSTEL, S. R., VAN VUUREN, S., TUTT, C. L. C. Digital dermatitis: report of an outbreak. **South Africa Veterinary Association**, v. 66, n. 3, p. 177-181, 1995.

VASCONCELOS, M. C. A; RODOVALHO, N. C. M.; POTT, V. J.; FERREIRA, A. M. T.; ARRUDA, A. L. A.; MARQUES, M. C. S.; CASTILHO, R. O.; BUENO, N. R. Avaliação de atividades biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum* Benth (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 121-127, 2004.

ADEQUAÇÃO NAS MEDIDAS DO CASCO ASSOCIADO AO TRAMENTO CIRÚRGICO E APLICAÇÃO TÓPICA DO EXTRATO DA CASCA DO BARBATIMÃO (*Stryphnodendron barbatiman Martius*) NA RECUPERAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE COM DERMATITE DIGITAL

Luiz Antônio Franco da Silva¹, Maria Clorinda Soares Fioravanti², Maria Ivete de Moura³,
Marco Augusto Machado da Silva⁴, Jalily Bady Helou⁵, Sabrina Lucas Ribeiro Freitas⁵
Caroline Rocha de Oliveira Lima³

1. Professor Doutor Associado de Clínica Cirúrgica Animal EV/UFG E-mail: lafranco@vet.ufg.br
2. Professora Doutora de Clínica Médica Animal EV/UFG
3. Aluna(s) do Programa de Pós- Graduação EV/UFG
4. Aluno de doutorado do Programa de Pós-Graduação - UNESP
5. Acadêmicas de Medicina Veterinária EV/UFG- Bolsista CNPQ

PALAVRAS CHAVE: Casqueamento, doença digital, fitoterapia.

ABSTRACT

HOOF TRIMMING AS SURGICAL TREATMENT AND TOPICAL APPLICATION OF EXTRACT OF *STRYPHNODENDRON BARBATIMAN MARTIUS* TO NELORE CATTLE RECOVERING FROM DIGITAL DERMATITIS

Digital dermatitis is a multifactor disease that has various kinds of lesions, therefore requiring different treatment and control protocols. Clinical injuries of 180 Nelore cattle with digital dermatitis were assessed. Cows were randomly distributed in 6 groups of 30 animals each and submitted to the process of hoof care, in which lesions were surgically removed and then treated with 5% barbatimão extract and 3% copper sulfate solutions. Hoof health management varied across groups: trimming of injured claws only (Groups I and III); trimming of both healthy and injured claws from affected hooves only (Groups III and IV); and trimming of all claws from healthy and affected hooves (Groups V and VI). During the post-surgery period, wounds were treated with a 5% barbatimão extract solution (Groups I, III and V), and 3% copper sulfate pediluvium (Groups GII, GIV and GVI). Data was statistically analyzed through a chi-square test at $p < 0,05$ significance level. Highest recovery rates were observed after therapeutic treatment, which included trimming of healthy and lesioned hooves, surgical treatment of the injuries, and barbatimão extract application.

KEYWORDS: Corrective trimming; digital lesions; phytotherapy.

INTRODUÇÃO

Os bovinos com enfermidades digitais apresentam sérios problemas para executar atividades normais, como deitar, levantar, andar, alimentar-se, beber água e demonstrar estro (CASTRO, 2006; DIAS, 2007). Para minimizar esses problemas, segundo MERIDITH & GUY (1996) é fundamental realizar ajustes nas medidas dos estojos córneos digitais acompanhado do tratamento cirúrgico das doenças digitais seguido da condução adequada do pós-operatório. No cerrado brasileiro algumas espécies de plantas com propriedades medicinais tem sido objetivo de estudo, entre estas se encontra o barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman Martius*), esta apresenta efeito adstringente, propriedades antiinflamatórias, anti-hemorragica, anti-séptica, antioxidante e antimicrobiana (SOUZA et al., 2007) mas a principal ação farmacológica é atribuída aos taninos (SANTOS et al., 2006). Quanto ao uso do extrato da casca do barbatimão no tratamento de doenças digitais de bovinos o assunto foi descrito apenas por MITIDIERO (2002). O objetivo deste estudo foi avaliar a recuperação de bovinos da raça Nelore com dermatite digital, após promover ajustes na conformação anatômica dos estojos córneos digitais, realizarem o tratamento cirúrgico das lesões e aplicar nas feridas cirúrgicas o extrato da casca do barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman Martius*) e solução de sulfato de cobre.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado após submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa, seguindo os preceitos de ética e bem-estar animal recomendados pelo COBEA, sob o protocolo N° 018, com parecer favorável. A pesquisa se desenvolveu entre 2006 e 2008, empregando 180 bovinos, da raça Nelore e independente do ano estipulou-se o período compreendido entre os meses de maio e outubro para a realização do estudo, momento que coincidia com a estação seca na região onde o trabalho se desenvolveu. Os animais foram distribuídos em seis grupos contendo 30 bovinos cada, considerando os ajustes realizados no estojo córneo digital e o protocolo terapêutico adotado no pós-operatório. A adequação à conformação anatômica dos cascos para o mais próximo das medidas originais se deu nos bovinos alocados nos grupos GI e GII envolvendo apenas o(s) dígito(s) enfermo(s). Nos animais pertencentes aos grupos GIII e GIV o toalete foi realizado no dígito(s) enfermo(s) e saudável (is), mas apenas do membro com lesão. Quanto aos bovinos distribuídos nos grupos GV e GVI, os ajustes nas dimensões dos cascos foram realizados em todos os dígitos do animal, saudáveis e com doença digital. Quanto ao pós-operatório, nos bovinos distribuídos em GI, GIII e GV aplicou-se na ferida extrato da casca de barbatimão a 5% e nos animais pertencentes aos grupos GII, GIV e GVI

empregou-se sulfato de cobre a 3%. Quanto à apresentação clínica a doença foi classificada em inicial, erosiva e papilomatosa e no que se referem à gravidade, as lesões foram distribuídas em discretas, moderadas e intensas. Para o tratamento cirúrgico das lesões realizou-se a tranquilização dos animais com cloridrato de xilazina 2% e bloqueio loção com cloridrato de lidocaína a 2%. Imediatamente a intervenção cirúrgica aplicou-se na ferida uma solução a base de perclorato de ferro, iodo metálico e salicilato de metila, associada à oxitetraciclina em pó e sulfato de cobre. Protegeu-se a ferida com faixas elásticas impermeabilizadas e realizou-se antibioticoterapia via parenteral com oxitetraciclina. No sétimo dia do pós-operatório o curativo foi removido, iniciando-se a aplicação tópica e diária, nos animais alocados nos grupos GI, GIII e GV do extrato da casca do barbatimão a 5% e nos bovinos pertencentes aos grupos GII, GIV e GVI do sulfato de cobre a 3%, sendo que nestes, o tratamento foi realizado em pedilúvio. Os dados foram analisados pelo teste do Qui - Quadrado (χ^2), com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) por meio do *software* computacional SPSS 15.0. Os demais resultados foram analisados descritivamente conforme recomendação de (SAMPAIO, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os resultados obtidos verifica-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) quanto ao número de animais recuperados considerando a apresentação clínica das lesões e o tratamento com extrato de barbatimão ou sulfato de cobre. Porém independente do protocolo terapêutico no pós-operatório, de um total de 45 animais com dermatite digital na fase inicial 38 (84,4%) se recuperaram e sete (15,5%) não se recuperaram. Quando a apresentação clínica era erosiva de 70 bovinos, 52 (74,2%) apresentaram cura completa e em 18 (25,7%) o processo mórbido não se resolveu. Dentre os 65 animais com dermatite digital papilomatosa, 42 (64,6%) se recuperaram e em 23 (35,38%) os tratamentos não obtiveram sucesso, ficando evidente que o índice de recuperação diminui com a evolução da enfermidade, provavelmente porque estruturas internas dos dígitos, como articulações e ligamentos são atingidas. CASTRO et al. (2008) afirmaram que os animais na fase proliferativa apresentam destruição tecidual da camada córnea, epiderme e necrose tecidual, justificando, em parte, os resultados obtidos neste estudo. Comparando o tratamento com extrato de barbatimão e o sulfato de cobre, independente da gravidade das lesões, não verificou diferença significativa ($p > 0,05$). O tratamento com o extrato de barbatimão resultou na recuperação de 68 (75,5%) dos animais enquanto sulfato de cobre o número de animais recuperados atingiu 64 (71,1%). A evolução clínica satisfatória da cicatrização das lesões foi

atribuída, em parte, a ação adstringente do tanino existente no extrato. HASLAM (1996) e MITIDIERO (2002) sugerem que a capacidade dos taninos de formar complexo com íons metálicos, atividade antioxidante e a capacidade de formar complexos com outras moléculas como proteínas.

Entre aos tipos de toaleta realizados foram observadas diferenças significativas entre os valores comparados ($p=0,012$). Considerando os índices de recuperação dos animais verificou-se que houve cura completa de 20 (66,7%) bovinos do grupo GI, 18 (60%) do GII, 21 (70%) do GIII, 21 do GIV (70%), 27 do GV (90%) e de 25 (83,3%) do GVI. O protocolo com extrato de barbatimão associado com a realização do toaleta de todos os dígitos foi o mais eficiente recuperando 27 (90%) bovinos, não apresentando a eficácia desejada em apenas três (10%) animais. Ainda Comparando entre si todos os protocolos terapêuticos avaliados observou-se diferença significativa quando se analisou os resultados obtidos para GI em relação ao GV e GII com os achados de GVI. A diferença foi significativa quando se confrontou os dados encontrados para GII em relação ao GV ($p<0,05$), entretanto não se observou diferença significativa ao comparar-se o GI com o GII, GIII, GIV e GVI. Ao confrontar os resultados de GI com GV verificou-se diferença significativa quanto à realização do toaleta de todos os dígitos comparado com a realização do toaleta apenas do dígito enfermo, apesar de esses bovinos terem recebido o mesmo tratamento no pós-operatório.

Não se observou diferença entre os animais pertencentes ao GI aos alocados no grupo GVI ($p>0,05$), apesar de que o GVI 25 (83,3%) ter tido maior número de recuperados. Esse resultado pode estar relacionado mais ao tipo de toaleta realizado e não ao tratamento medicamentoso empregado. Assim, infere-se que o toaleta dos dígitos doentes e saudáveis pode minimizar o efeito da gravidade das lesões, aumentando o índice de cura dos animais. Para FERREIRA et al. (2005) o processo restabelece a forma e as proporções normais do estojo córneo, facilitando a locomoção dos animais. Quanto ao menor número de animais, 18 (60%), alocados no grupo GII que obtiveram recuperação completa, tal fato ocorreu provavelmente devido, ao tipo de toaleta realizado somente no dígito enfermo. Mais confrontando os resultados do grupo GII com GV e GII com GVI observou-se diferença significativa, sendo que os animais submetidos apenas a realização do toaleta do dígito enfermo e tratado com sulfato de cobre recuperou menor número, comparando ao GV, que foi realizado o toaleta de todos os dígitos e tendo como coadjuvante o uso do extrato de barbatimão. Esses achados são condizentes com os de VERMUNT (2004), o qual atribuiu a essa conduta o apoio uniforme dos membros do animal ao solo durante a locomoção.

Portanto, é possível inferir que o protocolo terapêutico empregando extrato de barbatimão associado à realização do toalete de todos os estojos córneos digitais, enfermos e saudáveis, auxiliou na recuperação de um maior número de animais quando comparado aos ajustes realizados apenas no dígito doente ou no doente e enfermo do mesmo membro. Dentre os animais alocados nos grupos GV e GVI, mais de 29 (48,33%) haviam se recuperado ao completar 45 dias do tratamento cirúrgico e do toalete dos estojos córneos. Assim sendo, argumenta-se que estes achados sugerem que o toalete dos cascos realizados nos dígitos de todos os membros, sejam eles enfermos ou não, influenciou positivamente na recuperação dos animais. Ao final do período experimental 52 (86,66%) bovinos distribuídos nesses grupos estavam recuperados. Portanto, esses resultados sugerem que além do tratamento cirúrgico das lesões e aplicação tópica de medicamentos, o toalete dos cascos é uma medida auxiliar importante na recuperação dos animais com dermatite digital.

CONCLUSÃO

A maior frequência de recuperação de bovinos da raça Nelore com dermatite digital ocorreu quando se realizou os ajustes na conformação anatômica dos estojos córneos digitais, doentes e saudáveis e tratamento cirúrgico das lesões acompanhado da aplicação tópica do extrato da casca do barbatimão, sendo que o comportamento semelhante e o fato de ser orgânico, em algumas regiões do país, esse fitoterápico pode substituir o sulfato de cobre no pós-operatório da dermatite digital em bovinos.

REFERÊNCIAS

- BORGES, N. C. **Caracterização do fluido rumenal, dos parâmetros clínicos-laboratoriais e de aspectos epidemiológicos de bovinos com pododermatite.** 1998. 63f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia
- CASTRO, G. R. S. **Estudo anatomopatológico de lesões de dermatite digital em bovinos.** 2006. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- CASTRO, G. R.; BRITO, L. A.; FIORAVANTI, M. C. S.; SILVA, L. A. F.; ARAÚJO, E. G.; ORLANDO, C. F. P.; FRANCO, L. G.; MOURA, M. I. Estudo anatomopatológico de lesões de dermatite digital em bovinos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 4, p. 1159-1166, 2008.
- DIAS, R. O. S. Conceitos e aplicações práticas fundamentais para a saúde do casco. [2007]. Disponível em http://www.nucleovet.com.br/materias_arquivos/01.doc. Acesso em 20/07/08.
- GREENOUGH, P. R. **Bovine laminitis and lameness: a hands-on approach.** Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. 311p.

FERREIRA, P. M.; LEITE, R. C.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; SOUZA, R. C., FERREIRA, M. G. Custo e resultados do tratamento de seqüelas de laminite bovina: relato de 112 casos em vacas em lactação no sistema *free-stall*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 5, p. 589-594, 2004.

FERREIRA, M. P.; CARVALHO, Ú. A.; FILHO, E. J. F., FERREIRA, M. G.; FERREIRA, R. F. Afecções do sistema locomotor dos bovinos. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, 2, 2005. **Anais...** Belo Horizonte, p.1-26, 2005.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 59, p. 205-215, 1996.

LEÃO, M. A. **Aspectos epidemiológicos, evolução clínica e controle da dermatite digital bovina em duas propriedades de exploração leiteira no estado de Goiás**. 2006. 91f. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

MARTINS, P. S.; ALVES, A. L. G.; HUSSNI, C. A.; SEQUEIRA, J. L.; NICOLETTI J. L. M.; THOMASSIAN, A. Comparação entre fitoterápicos de uso tópico na cicatrização de pele em eqüinos. **Archives of Veterinary Science**, Paraná, v.8, n.2, p. 1-7, 2003.

MEREDITH, L. M.; GUY, ST J. Clíical application of the bovine distal limb anatomy. **Agri-practice**, Istanbul, v17, n. 9, 1996.

MITIDIERO, A. M. A. **Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterápicos como opção na bovinocultura leiteira: avaliação dos aspectos sanitários e de produção**. 2002. 119f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MOORE, D.A., BERRY, S. L., TRUCOTT, M. L., KOZIY, V. Efficacy of a nonantimicrobial cream administered topically for treatment of digital dermatitis in dairy cattle. **Journal of American Medical Association**, Chicago, v.219, p.1435-1438, 2001.

NICOLETTI, J. L. M. **Manual de podologia bovina**. São Paulo: Manole, 2004. 126p.

SANTOS, S. C.; COSTA, W. F.; BATISTA, F.; SANTOS, L. R, FERRI, P. H.; FERREIRA, H. D.; SERAPHIN, J. C. Seasonal variation in the content of tannins in barks of barbatimão species. **Rev Bras Farmacogn**, São Paulo, v.16, p.552-556, 2006.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SILVA, L. A. F.; GARCIA, A. M.; FRANCO, L. G.; ARAÚJO, I. F. L.; SOUZA, M. A.; SOUSA, J. N.; SEVERINO, S. R. Utilização do extrato da casca de barbatimão em cicatrização de feridas em éguas em comparação com outros tratamentos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 32, 2005. Uberlândia. **Anais eletrônicos...** [CD ROM], Uberlândia. 2005.

SILVA, L. A. F.; SOARES, L. K.; MOURA, M. I.; BATISTA, L. C.; RIBEIRO, G. H. C. Enfermidades digitais em bovinos: efeito do toalete do estojo córneo saudável e enfermo na recuperação dos animais. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO, 2, 2007 Goiânia. **Anais Eletrônicos...** [CD-ROM], Goiânia: UFG, 2007.

SILVA, L. A. F.; MOURA, M. I.; GOULART, D. S.; ORLANDO, C. F. P.; BATISTA, B. P. S; BARBOSA, M. M.; JUNQUEIRA, S. L. M.; EURIDES, D. comportamento diário de vacas mestiças (Gir X Holandesa) paridas e com dermatite digital manejadas extensivamente (resultados parciais). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35, 2008. Gramados. **Anais eletrônicos...** [CD ROM], Gramados/RS. 2008.

SOUZA, T. M.; SEVERI, J. A.; SILVA, V. Y. A.; SANTOS, E. PIETRO, R. C. L. R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Revista de Ciência Farmacêutica Básica Aplicada**, São Paulo, v. 28, n.2, p.221-226, 2007.

VERMUNT, J. Herd lameness – a review, major casual factors and guidelines for prevention and control. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 13 and CONFERENCE ON LAMENESS IN RUMINANTS, 5., 2003. Malibor. **Proceedings...** p.3-18. 2004.

AVALIAÇÃO DE QUATRO PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS PARA A SINUSITE PÓS-DESCORNA PLÁSTICA EM BOVINOS (1998-2008)

Luiz Antônio Franco da Silva¹, Jalily Bady Helou², Jordanna de Almeida e Silva², Leandro Batista Caetano²; Caroline Rocha de Oliveira Lima³; Luiz Augusto de Souza³; Benito Juarez Nunes Alves de Oliveira³; Ângela Moni Fonseca³

1. Professor Associado de Clínica Cirúrgica Animal, EV/UFG, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil, CEP 74001-970, – E-mail: lafranco@vet.ufg.br (autor correspondente)
2. Acadêmicos de Medicina Veterinária EV/UFG- Bolsista CNPQ
3. Alunos do Programa de Pós- Graduação EV/UFG- Bolsista CNPQ

PALAVRAS-CHAVE: Cirurgia, ruminante, tratamento

ABSTRACT

EVALUATION OF FOUR TREATMENT PROTOCOLS FOR SINUSITIS AFTER PLASTIC DEHORNING IN CATTLE (1998-2008)

Plastic dehorning in adult cattle may result in several trans and postoperative complications. Sinusitis is a sequelae that results from an inflammatory process in which the exposed frontal sinus is affected. This study evaluates the efficacy of treatment protocols. These included sodium hypochlorite, polycresulen, povidone-iodine, and isotonic sodium chloride solutions. A total of 60 cows were divided into four experimental groups of 15 animals each: GI, GII, GIII, and GIV. During the opening of the frontal sinus to begin local treatment, attempts to identify foreign bodies, bone fragments, grass stems, suture material, and wood splints were made. Drainage of mucous-purulent liquid and removal of excess solutions were facilitated by the animal's lateral head rotation and placement of the frontal sinus gap as ventrally as possible. The results of a chi-square test revealed significant differences between treatments. Sodium hypochlorite and povidone-iodine were the most effective agents, and therefore are recommended as regards sinusitis therapeutic protocols.

KEYWORDS: Ruminant, surgery, treatment.

INTRODUÇÃO

A sinusite é um processo inflamatório que acomete os seios paranasais, ocorrendo com maior frequência nos bovinos, após realização de descorna plástica, mochação com ferro

candente, trepanações ou decorrente de fraturas dos cornos, com exposição do seio frontal (JUBB et al., 1990; RADOSTISTS et al., 2002; BLOWEY & WEAVER, 2003). Como os seios paranasais se comunicam com o meato nasal médio e são revestidos por membranas mucosas, permitem que eventuais processos infecciosos resultem em otites, rinites e faringoamigdalites (KONIG, 2004). Fatores relacionados à anti-sepsia, realização de intervenções cirúrgicas por pessoas inabilitadas, presença de corpo estranho e pós-operatório conduzido de forma inadequada também podem participar na etiopatogenia das sinusites em bovinos (FIORAVANTI et al., 1996).

Para a correção desta afecção alguns protocolos terapêuticos têm sido descritos na literatura. Foi relatado que medicamentos a base de policresuleno e iodopovidona apresentam bons resultados no tratamento dessa enfermidade (FIORAVANTI et al., 1999). Embora algumas informações encontradas na literatura considerem a sinusite uma complicação pós-operatória importante da descorna plástica em bovinos (RADOSTITS, et al., 2002), a maioria se limita a discutir o assunto de forma pouco científica. Essa situação suscita dúvidas, especialmente sobre os principais protocolos terapêuticos empregados no tratamento da afecção (ROSEMBERGER, 1988; JUBB et al., 1990; RADOSTITS, et al., 2002), aumentando as perdas econômicas dos criatórios, devido aos gastos com medicamentos, perda de peso e eventuais óbitos dos animais.

Na tentativa de buscar respaldo científico para o emprego do hipoclorito de sódio, policresuleno e iodopovidona no tratamento da sinusite pós-descorna em bovinos, nesse estudo avaliou-se a eficácia de protocolos terapêuticos específicos com tais princípios ativos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás e em diferentes propriedades rurais do Estado de Goiás, entre 1998 e 2008. Empregaram-se 60 bovinos, de diferentes categorias com um ou mais sinais clínicos compatíveis com sinusite pós descorna cirúrgica como secreção de aspecto purulento fluindo pelas narinas, fistula na região do corno amputado, febre, postura anormal da cabeça, deformação dos ossos frontais, distúrbios neurológicos e exoftalmia. Os animais foram distribuídos em quatro grupos de 15 animais cada, o GI tratado com hipoclorito de sódio a 0,2%, GII com solução de policresuleno a 2%, GIII com iodopovidona a 5% e O GIV com solução fisiológica, sendo, este ultimo o grupo controle.

Os animais foram sedados com 0,1 a 0,2mg/kg cloridrato de xilazina a 2%⁵ e imobilizados em decúbito externo-abdominal, após jejum de 12 horas. Efetuou-se

higienização, tricotomia, anti-sepsia e promoveu-se a anestesia infiltrativa circular subcutânea da região com 20 ml de cloridrato de lidocaína 2% (MASSONE, 2008). Após o acesso ao seio frontal seja por incisão da região e/ou fistula ou trepanação sinusal, efetuava-se higienização sistemática do local, adotando os protocolos de tratamento. Não se realizou a dermorráfia havendo cicatrização por segunda intenção. Cada protocolo foi aplicado cinco vezes com intervalo de 48 horas entre as aplicações sendo os animais avaliados a cada 15 dias e por dois meses consecutivos. Considerou-se cura clínica a ausência de sinais clínicos, fistulas e secreções e cicatrização desejável da ferida cirúrgica. As recidivas foram associadas ao recrudescimento de fistulas e/ou a presença de secreção nasal muco purulenta, além de sinais clínicos.

Para avaliação estatística utilizou-se o software SAS e o teste Qui-quadrado, aceitando o nível de significância $p < 0,01$, o qual forneceu resultados para independência ou associações entre as variáveis testadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diagnóstico conclusivo fundamentou-se basicamente na observação de sinais clínicos de sinusite, como secreção de aspecto purulento fluindo pelas narinas, fistula na região do corno amputado, febre, postura anormal da cabeça, deformação dos ossos frontais, distúrbios neurológicos e exoftalmia. De acordo com JUBB et. al.(1990) na ausência desses sinais clínicos, tal enfermidade pode passar despercebida. Embora tenha sido relatado que sinais clínicos como febre, letargia e exoftalmia sejam freqüentemente observadas em animais portadores de sinusite WILKINS et al. (2006), estes não foram verificados em nenhum dos animais do presente estudo. A sedação dos bovinos com 0,1 a 0,2mg/kg cloridrato de xilazina a 2% possibilitaram a imobilização dos animais em decúbito esterno-abdominal e a implementação das manobras necessárias à drenagem do seio frontal comprometido. Em seis bovinos (10%) a anestesia infiltrativa circular subcutânea com cloridrato de lidocaína 2%, não resultou em dessensibilização completa da região a ser manipulada, provavelmente pelo pH ácido no local conferido pela reação inflamatória. Em um animal (0,6%) foi necessário realizar trepanação sinusal, visando facilitar o acesso ao seio frontal e drenagem do seio.

A higienização sistemática do local, após a remoção de corpos estranhos alojados nas fistulas ou no seio frontal, foi considerada medida fundamental para o sucesso do tratamento. Sobre esse aspecto, dentre os 60 animais examinados constatou-se que cinco (8,33%) apresentavam anorexia e postura anormal da cabeça, dois (3,33%) deformações dos ossos frontais e em 19 (31,66%), presença de resquícios de esquirolas ósseas na região do

corno amputado. Em sete animais (11,66%) constataram-se resquícios de fios de algodão ou de náilon provavelmente empregados na dermografia e em quatro (6,66%) foram encontradas farpas de vegetais ou hastes de capim na região da fístula ou no próprio seio frontal. Nos 23 restantes (38,33%), observou-se apenas presença de fístulas na região do seio frontal. Assim, ao associar a presença desses corpos estranhos em 37 casos (61,66%), dos 60 animais atendidos, fica evidente que tais objetos podem não somente veicular agente infeccioso, mas criar condições favoráveis ao acesso desses agentes aos seios paranasais. Nesse caso, apontam-se também, as esquirolas ósseas as quais sem a irrigação sanguínea, desencadeiam inicialmente reações inflamatórias local, seguidas de fistulização, resultando em sinusite.

Considerando os índices de recuperação dos animais verificou-se que houve cura completa de 14 (93,33%) bovinos do grupo GI, oito (53,33%) do GII, 13 (86,66%) do GIII e de três (20%) do GIV. Foram observadas diferenças significativas entre os valores comparados com nível de significância ($p < 0,01$). Em relação aos tratamentos nota-se que o protocolo com hipoclorito de sódio foi eficaz contra a sinusite em 14 (93,33%) animais, não apresentou a eficácia desejada em apenas um (6,66%) animal. Ao comparar-se o grupo GI com o GII constatou-se que o hipoclorito mostrou-se significativamente eficaz, quando comparado com a solução de policresuleno a 2% ($p < 0,05$). Estes dados confirmam que a recuperação completa dos 14 (93,33%) animais que compuseram o grupo GI pode estar associada à ação germicida do hipoclorito de sódio (NaOCl). De acordo com RUIZ (1992) a maior parte das bactérias cresce em pH ótimo próximo da neutralidade e os fungos se desenvolvem melhor em meio ácido, justificando, em parte, a melhor eficácia do tratamento empregado no GI quando comparado com GII. Portanto, o pH alcalino do hipoclorito proporcionou maior eficácia da solução, ao contrario da solução de policresuleno a 2% cuja acidez (0,6) é pronunciada. Ainda sobre esse assunto, apesar da ação positiva da solução de policresuleno a 2% contribuindo para a remoção de debris celulares, granulomas e tecido necrosado decorrente do processo inflamatório, provavelmente não exerceu a mesma ação microbida do hipoclorito de sódio, conforme apontado SIQUEIRA JUNIOR et al. (2007). FIORAVANTI et al. (1996), relataram que o policresuleno têm apresentado bons resultados no tratamento da sinusite e SILVA et al. (1984), afirmaram que o principio ativo age com eficiência no controle de processos inflamatórios.

Ao compararem-se os resultados obtidos para os animais pertencentes ao grupo GI com os dos alocados no grupo GIII não se observou diferença significativa ($p > 0,01$) entre os tratamentos. Essa semelhança entre os dois protocolos terapêuticos poderia ser responsabilizada, em parte, ao sucesso alcançado pelo tratamento com iodopovidona a 5%

empregado no GIII, recuperando 13 (86,66%) dos 15 bovinos tratados, pois se sabe que o princípio ativo possui amplo espectro ação, agindo sobre bactérias Gram (-), Gram (+), fungos, micobactérias, clamídias, vírus e protozoários. Quanto ao pequeno número de animais, três (20%), alocados no grupo GIV que obtiveram recuperação completa, tal fato ocorreu provavelmente devido à solução fisiológica não possuir ação antibiótica, agindo apenas como adjuvante na limpeza dos seios paranasais, ao contrário da ação do hipoclorito de sódio, policresuleno e iodopovidona, que sabidamente possuem ação antimicrobiana, conforme relatos de FIORAVANTI et al. (1996). Mesmo assim, os resultados indicaram que, apenas a limpeza dos seios sem o emprego de uma solução com ação microbicida não recupera um número expressivo de animais com o problema.

Considerando os protocolos terapêuticos avaliados, observou-se diferença significativa entre o GI e o GIV. A diferença foi altamente significativa quando se confrontou o grupo GIII com GIV ($p < 0,01$). Entretanto não se observou diferença significativa comparando o grupo GII com GIII ($p = 0,109$) e GII com GIV ($p = 0,13$). Portanto, analisando todos esses achados é possível inferir que os protocolos terapêuticos empregando solução de hipoclorito de sódio a 0,2% e iodopovidona a 5% foram os que recuperaram maiores número de bovinos, podendo ser recomendados para essa finalidade. Quanto à frequência de higienização do seio frontal, acredita-se ter sido a ideal, pois auxiliou na recuperação dos animais antes que a cicatrização clínica da ferida de pele, decorrente da fistulação existente ou da incisão de pele, se efetivasse.

CONCLUSÃO

Conclui-se que dentre os quatro protocolos terapêuticos avaliados a solução de hipoclorito de sódio a 0,2% e iodopovidona a 5% propiciou a recuperação de um maior número de bovinos com sinusite pós descorna plástica.

REFERÊNCIAS

- BLOWEY, R. W. ;WEAVER, A. D. **Color atlas of diseases and disorders of cattle**. Editora: Elsevier Mosby, Philadelphia 2.ed, 223p. 2003.
- FIORAVANTI, M. C. S., SILVA, L. A. F., LEÃO, M. A., JULIANO, R. S., EURIDES, D.; ALVES, C. D. Descorna de bovinos utilizando grampos de metal na dermorrafia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 507-510, 1999.

FIORAVANTI, M. C. S.; SILVA, L. A. F.; MOREIRA, P. C. Ácido metacresolsulfônico associado à nitrofurazona e enrofloxacin no tratamento de sinusite em bovinos. **Veterinária Notícia**, Uberlândia, v. 2, n. 1, p. 31-36, 1996.

JUBB, K. U. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Patologia de los animales domésticos**. Montevideo: Hemisfério Sul, v. 2, 653p, 1990.

KONIG, H. E.; LEIBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos**. Porto Alegre: Artmed, v. 2. 400p, 2004.

RADOSTITS, O. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C. C. **Clínica veterinária**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

ROSEMBERGER, G. **Enfermedades de los bovinos**. Montevideo: Hemisfério Sul, 1988. 577p.

SILVA, L. A. F.; DEL CARLO, R. J.; TONIOLLO, G. H.; FERREIRA, H. I.; ALVES, G. E. S.; SILVEIRA, J. M. Ácido metacresol sulfônico associado à extirpação cirúrgica de tumor venéreo canino. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte. v. 8, p. 63-68. 1984.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F.; GUIMARÃES-PINTO, T.; RÔÇAS, I. N. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. **Journal of Endodontics**, New York. v. 33, p. 800-805, 2007.

WILKINS, P. A.; BAKER, J. C.; AMES, T. R. Doença do sistema respiratório. In: SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, p. 488-489. 2006.

LEUCOGRAMA E TEORES DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM CAPRINOS SUBMETIDOS À ORQUIECTOMIA E DESCORNA

Ricardo Perecin Nociti¹, Thaís Gomes Rocha², Camila Franciosi², Iggor Kallyl Tavares e
Azevedo¹, Paulo César da Silva³, Kleber Tomas de Resende⁴, José Jurandir Fagliari⁵

1. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal – SP

4. Docente do Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

5. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil.

E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: α_1 -glicoproteína ácida, biomarcador, ceruloplasmina, proteinograma, SDS-PAGE.

ABSTRACT

LEUCOGRAM AND ACUTE PHASE PROTEIN RESPONSE IN YOUNG GOATS SUBMITTED TO ORCHIECTOMY AND DEHORNING

To determine the effects of orchietomy and dehorning in leukocyte count and serum acute phase protein concentrations, blood samples were taken from 7 goats just before and 1, 2, 3, 5, 7, and 10 days after procedures. Results revealed a 30% increase in leukocyte counts one day after orchietomy and dehorning, followed by a gradual decrease. On the tenth day, numbers were close to normal. Mean values for concentration of serum protein fractions ranged between 30 and 33. The proteins acting as acute phase proteins were ceruloplasmin, haptoglobin, α_1 -acid glycoprotein and α_1 -antitrypsin, which continuously increased above 403% of its initial levels. The other proteins also had a notoriously high increase, but by the end of the experiment the values were almost equal to basal levels.

KEYWORDS: α_1 -acid glycoprotein biomarkers, ceruloplasmin, proteinogram, SDS-PAGE.

INTRODUÇÃO

A prática de orquiectomia é realizada pelos criadores de caprinos com o objetivo de obter uniformidade da carcaça, em termos de qualidade, conservação e aspecto da carne de

animais destinados ao consumo humano (VIEIRA, 1995). A descorna cosmética propicia boa aparência estética, principalmente, em animais de exposição, além de facilitar o manejo do rebanho e exigir menor espaço no cocho para a alimentação (VILLAGRAN & MATAMOROS, 1969).

Qualquer procedimento cirúrgico aplicado aos animais induz resposta inflamatória aguda, que representa um dos mecanismos de resposta imune inespecífica e envolve mecanismos fisiopatológicos que interagem entre si com o intuito de minimizar a lesão tecidual (ECKERSALL, 2000). Estudos em animais domésticos propiciado a identificação de proteínas denominadas proteínas de fase aguda (PFA), cujas concentrações plasmáticas aumentam precocemente nos processos inflamatórios, traumas cirúrgicos e estresse (JAIN, 1993; ECKERSALL, 2004; MURATA et al., 2004; MURATA, 2007). Estas proteínas foram consideradas indicadores potenciais de doença e bem-estar em animais, individualmente, bem como da saúde do rebanho (MURATA et al., 2004; PETERSEN et al., 2004).

Há relato de efeito supressivo das proteínas de fase aguda α_1 -glicoproteína-ácida e haptoglobina na ação linfocitária (MOTOI et al., 1992; MURATA & MIYAMATO, 1993). Verificou-se aumento da concentração sérica de haptoglobina após orquiectomia em bezerros da raça Holandesa (EARLEY & CROWE, 2002; TING et al., 2003), com retorno da concentração desta proteína ao valor normal em 14 dias.

O objetivo desse trabalho foi determinar o leucograma e o proteinograma sérico, em especial as proteínas de fase aguda, de caprinos sadios com intuito de verificar sua importância como biomarcadores nos procedimentos de castração e descorna.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados sete cabritos machos sadios da raça Anglo-Nubiana pertencentes ao Setor de Caprinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP/Campus de Jaboticabal. Amostras de 10 mL de sangue foram obtidas por venopunção jugular em frascos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e em frascos sem anticoagulante, imediatamente antes de orquiectomia e descorna (M0) e 1 (M1), 2 (M2), 3 (M3), 5 (M4), 7 (M5) e 10 (M6) dias após as cirurgias. A contagem de leucócitos foi realizada em hemocítômetro automático (pocH-100iV Diff, Sysmex, Roche Diagnóstica, Brasil); esfregaços sanguíneos corados pelo método de Rosenfeld foram confeccionados para contagem diferencial de leucócitos (JAIN, 1986).

A concentração sérica de proteína total foi determinada pelo método do biureto utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Para a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) foi utilizada a técnica proposta por LAEMMLI (1970) e como referências empregou-se solução marcadora com diferentes pesos moleculares, além das proteínas purificadas haptoglobina, ceruloplasmina e α_1 -antitripsina (Sigma, St Louis, MO, USA). A concentração das proteínas foi determinada em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão).

Em razão das características das variáveis avaliadas, optou-se pela análise descritiva dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são apresentados na forma de médias e desvios padrão.

A contagem de leucócitos antes da realização de orquiectomia e descorna (M0) foi $18,5 \pm 5,0$ ($\times 10^3/\mu\text{L}$). Notou-se aumento de 30% na contagem destas células no M1 ($24,5 \pm 7,5 \times 10^3/\mu\text{L}$), seguindo-se redução gradual até o retorno a valores próximos à contagem basal, no M6 ($17,5 \pm 5,0 \times 10^3/\mu\text{L}$). Verificou-se que a contagem de neutrófilos segmentados no M0 foi $9,5 \pm 3,5$ ($\times 10^3/\mu\text{L}$), com aumento de 10% em M1 ($10,9 \pm 4,0 \times 10^3/\mu\text{L}$) e redução na contagem deste tipo celular até o M6 ($7,5 \pm 3,5 \times 10^3/\mu\text{L}$).

As contagens de neutrófilos bastonetes (0 a 75 células/ μL), eosinófilos (25 a 201 células/ μL), basófilos (0 a 25 células/ μL) e monócitos (0 a 35 células/ μL) não evidenciaram variações significativas ao longo do experimento. As contagens de linfócitos oscilaram entre 8,5 e 13,3 células ($\times 10^3/\mu\text{L}$).

Os teores de proteína total sofreram uma pequena redução, sendo o valor máximo verificado no M0 ($5,4 \pm 0,4$ g/dL), e o valor mínimo observado no M3 ($5,1 \pm 0,5$ g/dL). Notou-se aumento na concentração de proteína total no M6 ($5,2 \pm 0,6$ g/dL), entretanto os teores observados ao longo do experimento mantiveram-se inferiores aos valores de referência para a espécie caprina (KANEKO et al., 2008).

No eletroforetograma foram identificadas, em média 30 frações protéicas, sendo neste estudo consideradas de interesse as proteínas de fase aguda ceruloplasmina, α_1 -antitripsina, haptoglobina e α_1 -glicoproteína ácida.

Notou-se aumento gradativo na concentração sérica de ceruloplasmina; no M3 ($21,5 \pm 3,9$ mg/dL) constatou-se teor 59% superior ao valor basal. No M6 ($16,5 \pm 6,1$ mg/dL) o teor desta proteína ainda se mantinha 22% acima do valor basal verificado no M0 ($13,5 \pm 5,7$ mg/dL). A concentração sérica de α_1 -antitripsina apresentou aumento contínuo desde o M0 ($38,9 \pm 103$ mg/dL) até o M6 (196 ± 135 mg/dL). Esta elevação na concentração de α_1 -antitripsina representou aumento de 403%. FAGLIARI et al. (2008), em estudo sobre laparotomia em eqüinos com abdômen agudo, constataram aumento do teor de α_1 -antitripsina até o sétimo dia após a cirurgia; no entanto, em menor intensidade do que aquele verificado nos animais do presente experimento. No M0 a concentração sérica de haptoglobina foi $10,9 \pm 3,4$ mg/dL, aumentando 128% no M1 ($24,9 \pm 36,1$ mg/dL). Nos demais momentos, notou-se variação nos teores desta proteína, de $8,35 \pm 4,64$ mg/dL (M5) a $13,4 \pm 5,39$ mg/dL (M4). O teor de α_1 -glicoproteína ácida aumentou gradativamente a partir do M0 ($16,5 \pm 14,1$ mg/dL), atingindo concentração máxima no M2 ($64,6 \pm 57,8$ mg/dL), o que representou um aumento de 290% quando comparado ao teor basal em M0. No M6, a concentração desta proteína foi $17,6 \pm 24,5$ mg/dL.

É interessante notar que o decréscimo da contagem de linfócitos coincidiu com os valores máximos de α_1 -glicoproteína ácida e de haptoglobina, semelhante aos achados de MOTOI et al. (1992) e MURATA & MIYAMATO (1993).

CONCLUSÃO

A contagem de leucócitos e os teores séricos haptoglobina apresentaram comportamento semelhante. As concentrações de ceruloplasmina e α_1 -glicoproteína ácida mantiveram-se aumentadas até o sétimo dia após os procedimentos, enquanto os teores de α_1 -antitripsina mantiveram-se elevados até 10 dias após a orquiectomia e descorna. Concluiu-se que estas proteínas de fase aguda constituem bons marcadores da recuperação dos animais, quando em associação com o leucograma, nos procedimentos de orquiectomia e descorna em caprinos, entretanto, mais estudos são necessários para maior esclarecimento.

REFERÊNCIAS

EARLEY, B.; CROWE, M. A. Effects of ketoprofen alone or in combination with local anesthesia during the castration of bull calves on plasma cortisol, immunological, and inflammatory responses. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 1044-1052, 2002.

ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Toulouse, v. 151, p. 577-584, 2000.

ECKERSALL, P. D. The time is right for acute phase proteins assays. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 3-5, 2004.

ECKERSALL, P. D.; CONNER, J. G. Plasma haptoglobin in cattle (*Bos taurus*) exists as polymers in association with albumin. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 96B, n. 2, p. 309-314, 1988.

FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L.; SILVA, P. C.; PEREIRA, G. T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de equinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 322-328, 2008.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993. 417p.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, p.916, 2008.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

MOTOI, Y. H.; ITOH, K.; TAMURA, T.; MIYAMOTO, T.; OOHASHI, N.; NAGASAWA, S. Correlation of serum concentration of alpha-1-acid glycoprotein with lymphocyte blastogenesis and development of experimentally induced or naturally acquired hepatic-abscesses in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Chigaco, v. 53, p.574-579, 1992.

MURATA, H. Stress and acute phase protein response: an inconspicuous but essential linkage. **The Veterinary Journal**, London, v. 173, p. 473-474, 2007.

MURATA, H., SHIMADA, N., YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 28-40, 2004.

MURATA, H.; MIYAMOTO, T. Bovine haptoglobin as a possible immunomodulator in the sera of transported calves. **The Veterinary Journal**, London, v. 149, p. 277-283, 1993.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, Paris, v. 35, p. 163-187, 2004.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 592p.

TING, S. T. L.; EARLEY, B.; HUGHES, J. M. L.; CROWE, M. A. Effect of ketoprofen, lidocaine local anesthesia, and combined xylazine and lidocainecaudal epidural anesthesia during castration of beef cattle on stress responses, immunity, growth, and behavior. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 1281-1293, 2003.

VIEIRA, L. I. **Criação de cabras: técnica prática e lucrativa**. São Paulo: Câmara Brasileira do Livro. (1995).

BIOPSIA HEPÁTICA NO DIAGNÓSTICO DA ESTEATOSE EM OVINOS

Ernane de Paiva Ferreira Novais¹; Guilherme Carneiro Reckziegel²; João Gabriel Cesar Palermo³; Augusto Ricardo Coelho Moscardini⁴; Vanessa da Silva Mustafa⁵; Márcio Botelho Castro⁶; José Renato Junqueira Borges⁶, Roberta Ferro de Godoy⁶.

1. Residente do Hospital Escola de Grandes Animais – UnB

E-mail: ernanedepaiva@gmail.com (autor correspondente)

2. Médico veterinário autônomo

3. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária da UnB

4. M.V. Msc Tenente do Regimento de Polícia Montada – RPMon – Brasília/DF

5. M.V. Mestrando da UnB

6. Professor da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UnB

PALAVRAS-CHAVE: Cetose, hepatopatia, toxemia da gestação, ultrassom.

ABSTRACT

LIVER BIOPSY IN THE DIAGNOSIS OF STEATOSIS IN SHEEP

Pregnancy toxemia is a common metabolic disorder in sheep flocks which is characterized by the sheep's inability to keep its energetic balance in the last month of pregnancy. It usually causes hepatic steatosis and death by hepatic encephalopathy. A histopathological assessment of liver biopsies provides evidence of severe fatty degeneration of the liver. An early and accurate diagnosis is essential, reinforcing the importance of liver biopsy. In order to prevent pregnancy toxemia, it is important to carry out a percutaneous liver biopsy by comparing histopathological, clinical, and laboratory findings. Ultrasound-guided biopsy as a supplementary examination may be useful in diagnosing both subclinical and clinical hepatic steatosis in sheep. In this study, there were few and non-specific clinical and laboratory changes – such as serum levels of aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transferase, total plasmatic protein, albumin and globulins, glycaemia, and ketone bodies in urine. Liver biopsy proved its effective detection of steatosis cases on animals. The presence of light to moderate hepatic steatosis on clinically healthy animals may be normal, which increases the need for new studies to prove the importance of liver biopsy as a preventive measure.

KEYWORDS: Hepatopathy, ketosis, pregnancy toxemia, ultrasound scan.

INTRODUÇÃO

A toxemia da gestação é um transtorno metabólico que se caracteriza por hipoglicemia e hipercetonemia como consequência de uma incapacidade da ovelha em manter o seu equilíbrio energético no último mês de gestação. Geralmente causa esteatose hepática, sendo mais comum quando as ovelhas estão obesas e há acúmulo de gordura abdominal, o útero está muito grande devido o tamanho do feto ou gestação com dois, três ou até quatro fetos. Isso faz com que o rúmen diminua seu volume e o animal não consiga satisfazer suas necessidades energéticas que são 70-80% maiores neste período devido ao crescimento rápido do feto ou fetos. A diminuição da ingestão de alimentos pode ser também devido a uma doença primária ou estresse e há casos em que a causa é a desnutrição (NAVARRE & PUGH, 2002; BRUGÈRE-PICOUX, 2004).

Os animais apresentam depressão severa, hipoglicemia, e a acetonemia não é sempre observada principalmente em ovelhas desnutridas. A morte geralmente ocorre por insuficiência hepática devida a esteatose severa. FORD (1983) afirma que a esteatose existe também em ovelhas normais, se diferenciando dos casos de toxemia pela sua gravidade. NAVARRE & PUGH (2002) afirmam que a biopsia hepática é determinante para o diagnóstico da esteatose e sua gravidade.

O diagnóstico da doença hepática envolve uma combinação de anamnese, exame físico, exames laboratoriais e eventualmente avaliação por recursos de imagem e histopatologia. Em determinadas condições, o perfil enzimático não atende às necessidades do clínico em responder a real natureza da hepatopatia. A biopsia hepática permite uma visão mais ampla da natureza da doença hepática, determinando o acesso à morfologia da lesão (TOSTES & BANDARRA, 2002).

Os benefícios da biopsia hepática são muitos. As facilidades de realização, assim como as infreqüentes complicações e a importância diagnóstica, tem incrementado seu uso. Apesar dos avanços nos métodos de investigação das doenças hepáticas, incluindo-se os de imagem e biologia molecular, o exame histopatológico do tecido hepático é essencial para o diagnóstico, especialmente nas hepatopatias crônicas (SHERLOCK et al., 1984). A biopsia hepática em ruminantes tem importante aplicação clínica, pois fornece aos profissionais informações sobre a estrutura morfológica e sobre a composição bromatológica do fígado (AMORIM et al., 2003).

Das técnicas de biopsia hepática desenvolvidas para animais, a biopsia percutânea com agulhas tipo Tru-Cut prevalece como uma das mais utilizadas, tanto pela sua praticabilidade

como pela possibilidade de oferecer um grau de risco menor ao paciente (TOSTES & BANDARRA, 2002).

AMORIM et al. (2003), estudando a técnica de biopsia hepática percutânea em bovinos concluíram, que a técnica é segura e eficaz por não provocar dano hepático extenso e por obter rapidamente fragmentos adequados para análise bromatológica ou histopatológica. As pequenas lesões teciduais causadas por esta técnica não provocam alterações significativas nas variáveis do hemograma, no fibrinogênio e nas atividades séricas enzimáticas da fosfatase alcalina (ALP) e gama glutamiltransferase (GGT).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 18 ovelhas adultas, da raça Santa Inês, distribuídas em três grupos (Vazias, Paridas no primeiro mês pós-parto e Prenhe no último mês de gestação) pertencentes à Fazenda Água Limpa da UnB. Os animais se alimentavam de pasto formado de *Andropogon gayanus* com sal mineral para ovinos *ad libitum*. No fragmento obtido por biopsia hepática foi analisado, por meio de histopatologia, o grau de esteatose hepática com “0” para as amostras sem lesão hepática, + esteatose leve, ++ esteatose média e +++ esteatose grave. Durante um mês esses animais e suas crias foram acompanhados, observando-se o índice de mortalidade das matrizes e borregos relacionando com o grau de esteatose hepática.

Foram coletadas amostras de soro sanguíneo por meio de venopunção da jugular para determinação das concentrações séricas de albumina, proteínas totais, e atividade das enzimas hepáticas, aspartato aminotransferase (AST) e GGT. As amostras foram coletadas em tubos tipo vacutainer e mantidas sob refrigeração até a chegada ao laboratório. Os níveis sangüíneos de glicose foram obtidos com o uso do medidor portátil de glicemia Accu-Chek® Advantage (Roche Diagnostica Brasil Ltda – São Paulo-SP, Brasil). A pesquisa de corpos cetônicos na urina foi feita através da fita de urinálise Combur 10Test® UX (Roche Diagnostica Brasil Ltda – São Paulo-SP, Brasil).

A biopsia foi obtida por meio de agulhas semi-automáticas do tipo Tru-Cut tamanho 14G x 200mm e as imagens para guiar o procedimento foram obtidas pelo aparelho de ultrassom 180 Plus Sonosite® com transdutor convexo de 5,0 MHz. O animal foi contido e colocado em

decúbito lateral esquerdo e após a identificação do tecido hepático pela imagem ultrassonográfica, entre o 8º e o 11º espaço intercostal direito. O local de introdução da agulha foi tricotomizado, anestesiado com 1mL de lidocaína 2%, limpo e preparado cirurgicamente. Após anti-sepsia com álcool iodado, uma incisão de 1 cm foi realizada com o bisturi na pele para facilitar a penetração da agulha de biopsia, que atravessa o músculo intercostal e o diafragma, chegando ao fígado. A agulha de biopsia foi introduzida, ventral ao transdutor paralelo às costelas, com auxílio da imagem da agulha no parênquima hepático no campo visual do aparelho de ultrassom. Após a colheita do fragmento de biopsia procedeu-se a dermorráfia com fio de nylon da incisão e aplicação de pasta repelente. O fragmento obtido pela biopsia foi fixado em 40mL de solução de formol a 10% e posteriormente processado, sendo a lâmina corada com hematoxilina-eosina.

Os dados obtidos na histopatologia dos fragmentos de fígado foram relacionados aos valores encontrados na patologia clínica (níveis séricos de enzimas e proteínas) e sinais clínicos apresentados pelos animais. As ferramentas estatísticas utilizadas foram a análise de variância e a comparação das médias com Teste T.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade de AST dos três grupos estão dentro dos valores de referência (RADOSTITS et al., 2002) para a espécie (Vazias: $102,1 \pm 9,083$; Prenhes: $113,3 \pm 20,44$; Paridas: $136,5 \pm 51,40$). O grupo “Paridas” apresentou a maior atividade desta enzima. Demonstrando que não há degeneração e/ou necrose hepática, que poderiam elevar a atividade da AST (KANEKO et al., 2003).

Os valores médios da proteína plasmática total (PPT) (Vazias: $7,300 \pm 0,3033$; Prenhes: $7,483 \pm 1,289$; Paridas: $6,667 \pm 1,042$), globulinas (GLO) (Vazias: $3,678 \pm 0,4906$; Prenhes: $3,930 \pm 1,238$; Paridas: $3,982 \pm 1,131$) e albumina (ALB) (Vazias: $3,622 \pm 0,2840$; Prenhes: $3,553 \pm 0,5650$; Paridas: $2,685 \pm 0,4057$) estão dentro dos limites de referência, não havendo diferenças significativas entre os grupos para GLO e PPT. A menor média de ALB ocorreu no grupo Paridas, possivelmente pela drenagem de proteína pelo leite.

A glicemia apresentou-se dentro dos valores de referência para a espécie (Vazias: $48,00 \pm 2,098$; Prenhes: $59,67 \pm 9,114$; Paridas: $64,50 \pm 13,61$), exceto pelo grupo Vazias que

apresenta discreta diminuição na glicemia em relação ao grupo Paridas, podendo esta diferença estar relacionada com a alimentação deficiente das ovelhas vazias.

A atividade da GGT apresentou-se dentro dos valores referência para a espécie (Vazias: $40,83 \pm 7,600$; Prenhes: $40,67 \pm 14,35$; Paridas: $39,67 \pm 7,711$), com pequena variação das médias entre os grupos.

Nenhum dos animais de todos os grupos apresentou corpos cetônicos na urina. Segundo RADOSTITS et al. (2002), a dosagem quantitativa dos corpos cetônicos urinários pode ser insatisfatória devido às amplas variações que ocorrem de acordo com a concentração de urina.

Os resultados do exame histopatológico dos fragmentos de biopsia hepática evidenciaram esteatose leve a moderada em 50% dos animais do grupo Vazias e esteatose leve em 66,6% dos animais do grupo Prenhes. Nenhuma alteração hepática foi encontrada nos animais do grupo Paridas, mesmo com 50% destas fêmeas tendo passado por gestação múltipla de até trigêmeos. Apesar dos achados de esteatose hepática, nenhum dos animais do estudo apresentou a sintomatologia clínica de toxemia de gestação. O grupo de ovinos Vazias apresentou o maior grau de esteatose, corroborando com os achados de glicemia mais baixa, por possível déficit alimentar. O grupo de Prenhes, a esteatose deve estar relacionada com as últimas semanas de prenhez (FORD, 1983).

Nenhum dos animais do estudo apresentou qualquer complicação devido ao procedimento de biopsia, mostrando-se um processo fácil, rápido e seguro.

CONCLUSÕES

A biopsia hepática guiada por ultrassom demonstrou ser um ótimo meio diagnóstico e de avaliação do grau de esteatose hepática, oferecendo mínimo risco aos animais submetidos, sendo rápido e seguro. Tais qualidades corroboram para a inserção da biopsia hepática como teste diagnóstico na rotina clínica não só para o diagnóstico da esteatose hepática, mas também das outras hepatopatias que possam acometer os pequenos ruminantes. Além disso, apenas os achados laboratoriais da bioquímica sérica não seriam suficientes para o diagnóstico da esteatose hepática nos ovinos do presente estudo, demonstrando a sensibilidade da biopsia hepática mesmo na ausência de maiores alterações sistêmicas ou de sinais clínicos.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, R. M.; BORGES, A. S.; KUCHEMUCK, M. R.; TAKAHIRA, R. K.; ALENCAR, N. X. Bioquímica sérica e hemograma de bovinos antes e após a técnica de biopsia hepática. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 519-523, 2003.
- BRUGÈRE-PICOUX, J. **Maladies des moutons**. 2.ed., Paris: Edition France Agricole, 2004.
- FORD, E. J. H. Pregnancy toxemia. In: MARTIN, W. B. **Diseases of sheep**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1983.
- KANEKO, J. J.; HERVEY, J. W. ; PRASSE, K. W. **Duncan e Presse's veterinary laboratory medicine - clinical pathology**. 4.ed., Iowa: Blackwell Publishing, 2003, 450p.
- NAVARRE, C. B.; PUGH, D. G: Diseases of the gastrointestinal system. In: PUGH, D. G. **Sheep and goat medicine**. Philadelphia: Saunders, 2002.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária. tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- SHERLOCK, S.; DICK, R.; VAN LEENWEN, D. J. Liver biopsy today. **Journal of Hepatology**, Oxfordshire, v.1, p. 75-85, 1984.
- TOSTES, R. A.; BANDARRA, E. P. A biopsia hepática em cães. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, n. 27, p. 28-31, 2002.

BIOPSIA PULMONAR TRANSTORÁCICA PERCUTÂNEA ÀS CEGAS EM OVINOS COM AGULHA SEMI-AUTOMÁTICA

Andreza Amaral da Silva¹, Danilo Otávio Laurenti Ferreira², Bianca Paola Santarosa³, Camila
Dias Porto¹, Júlio Lopes Sequeira⁴, Roberto Calderon Gonçalves⁴

1. Médica Veterinária, MS, Doutoranda em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, S/N - CEP: 18.618-000 - Botucatu/SP - Brasil. E-mail:

andrezamedvet@yahoo.com.br (autor para correspondência)

2. Médico Veterinário, Mestrando em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

3. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

4. Médico Veterinário, MS, Dr., Prof. Ass. do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças respiratórias, exame complementar, pulmão

ABSTRACT

PERCUTANEOUS TRANSTHORACIC LUNG BIOPSY BLINDLY PERFORMED IN SHEEP WITH A SEMI-AUTOMATIC FINE NEEDLE

This study evaluates the safety and efficacy of percutaneous transthoracic lung biopsy in 15 clinically healthy sheep. Most animals tolerated this procedure, although 2 offered mild resistance (13,3%). Tissue samples with preserved lung architecture did not reveal any failures or signs of serious complications resulting from the technique. This method proved to be efficient in obtaining lung tissue for histopathological evaluation.

KEY WORDS: Auxiliary tests, lung, respiratory diseases.

INTRODUÇÃO

As doenças que afetam o trato respiratório são consideradas o principal motivo de perdas econômicas na ovinocultura, sendo responsáveis por 10 a 40% das mortes em animais adultos (VIEIRA et al., 1993) e por 17% das mortes no período perinatal (ROOK et al., 1990). Apesar de ocorrerem com frequência em rebanhos ovinos, muitas vezes as causas dessas enfermidades pulmonares não podem ser determinadas apenas com a realização de um exame clínico mais acurado, sendo necessários outros recursos diagnósticos para definir sua

etiologia. Além disso, a necessidade de diagnóstico específico das doenças pulmonares é uma imposição dos recursos terapêuticos atuais.

A biopsia pulmonar é um procedimento invasivo de elucidação diagnóstica que consiste na remoção de tecido pulmonar vivo para exame macro e microscópico, envolvendo o processamento laboratorial do material, a confecção de lâminas seguida de análise e a descrição microscópica (PORTO, 1991). As informações obtidas através da biopsia são úteis ao clínico na definição de um diagnóstico, permitindo a tomada de decisões sobre o tratamento e o prognóstico do paciente (STONE, 1995). Todavia, a biopsia pulmonar é um procedimento pouco efetuado na medicina veterinária, talvez pela insegurança dos veterinários em realizar a técnica correta.

Levando em conta a alta ocorrência de doenças respiratórias em ovinos é de suma importância o estudo de métodos que complementem o diagnóstico clínico e auxiliem a realização de um diagnóstico precoce. Este estudo teve por objetivo avaliar o emprego da técnica de biopsia pulmonar transtorácica percutânea às cegas em ovinos clinicamente sadios e comprovar a sua segurança e viabilidade diagnóstica, além de avaliar as possíveis falhas e complicações decorrentes desta técnica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 ovinos clinicamente sadios, independentemente de sexo, raça e idade, procedentes da região de Botucatu/ SP - Brasil e destinados ao abate. Os animais foram contidos manualmente e mantidos em estação durante o procedimento que foi realizado, após anestesia local com lidocaína a 2% sem vasoconstritor no 7º espaço intercostal, 5 cm acima do olécrano, com uma agulha semi-automática (Biomed Cateters® - BD 14X 16G). As amostras de tecido pulmonar foram colhidas de acordo com FINN-BODNER & HATHCOCK (1993) e BRAUN et al. (1999).

Foram avaliados o número de tentativas para a execução do procedimento e o tamanho dos fragmentos obtidos. As amostras foram encaminhadas ao Serviço de Patologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP para a confecção de lâminas histológicas e exame microscópico dos fragmentos pulmonares. Logo após a biópsia os animais foram submetidos a um novo exame clínico.

Posteriormente ao abate, avaliou-se as complicações da técnica e eventuais lesões provocadas. Hemorragias na pleura visceral atribuídas à biopsia foram analisadas segundo o escore de gravidade de lesão descrito por SILVA (2005), adaptado de BRAUN et al. (1999): escore 1 = lesão pleural com área até 4 mm²; escore 2 = lesão pleural com área entre 4,1 e 25

mm²; escore 3 = lesão pleural com área superior a 25,1 mm². As amostras de tecido pulmonar obtidas também foram submetidas ao exame macroscópico, avaliando-se o comprimento de cada fragmento tecidual. Os dados coletados foram expostos por meio de estatística descritiva, através de média, desvio padrão e percentual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fragmentos teciduais foram obtidos em todos os animais submetidos ao procedimento (15/15 - 100%), sendo necessária, em média $1,8 \pm 1$ tentativa. Outros autores relatam resultados semelhantes, com média de 1,2 para BRAUN et al. (2000), e de 1,3 para HAMARATI (1995). Porém, nestes dois casos as biopsias não foram realizadas às cegas. O procedimento às cegas aumenta o risco de complicações como punção equivocada de outros órgãos, lesões de grandes vasos e morte por hemorragias, eventos não observados neste trabalho. Treze animais (13/15 – 86,6%) toleraram bem a técnica de biopsia, entretanto, dois ovinos (2/15 – 13,3%) demonstraram resistência leve à contenção (berros, *facies* de medo e elevação das patas), vindo até a dificultar a coleta. Segundo MOORE (2005) e BRAUN et al. (1999) as reações de desconforto e dor ocorrem durante a perfuração da pleura parietal e não durante a coleta do tecido pulmonar. Por isso, a perfuração deve ser bem rápida para eliminar a possibilidade de que qualquer movimento repentino desvie a trajetória da agulha ou então que sua ponta cortante lese a pleura antes da colheita de tecido pulmonar.

Ao exame clínico a atitude geral e postura permaneceram inalteradas e a temperatura retal não se elevou, permanecendo dentro dos valores de referência. Entretanto, as frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR) aumentaram em 12 (80%; Média (MED) = 122bpm) e 10 (66,6%; MED = 52mrp) animais, respectivamente. A elevação das FC e FR já foi observada em outro estudo (BRAUN et al., 2000), e provavelmente ocorreu em consequência ao estresse da contenção e do procedimento, visto que esses parâmetros voltaram à normalidade 15 minutos após a realização da biopsia. Tosse espontânea ocorreu em quatro (4/15 – 26,6%) animais e expiração forçada em dois tempos em um (1/15 – 6,6%) ovino, o que geralmente é característico de dor.

Um animal entrou em colapso imediatamente após a realização da biopsia, vindo a decúbito. Apesar disso, levantou após alguns minutos e não apresentou mais nenhuma anormalidade. O motivo para o colapso momentâneo não foi determinado, embora reações como essas já tenham sido relatadas em bovinos, também sem causa aparente (BRAUN et al., 1999).

Ao exame pós-morte observou-se que todas as punções estavam localizadas no lobo diafragmático. Todos os animais apresentaram hemorragia de pleura, cuja área variou de 4 mm² a 40 mm². Dos 15 animais biopsiados, avaliados quanto ao escore de severidade da hemorragia pleural, oito ovinos (8/15 – 53,3%) apresentaram escore 1, três (3/15 – 20%) apresentaram escore 2 e outros quatro animais (4/15 – 26,6%) escore 3. O escore de lesão adotado para a biopsia neste estudo foi inferior aos descritos por SILVA (2005) e superiores aos de BRAUN et al. (1999). SILVA (2005) trabalhou com uma agulha de biopsia de grosso calibre, o que provavelmente ocasionou maior dano tecidual que a agulha de médio calibre utilizada neste trabalho. BRAUN et al. (1999), por sua vez, determinou o escore da lesão 10 dias após a realização da biopsia, havendo, dessa forma, tempo hábil para reparação tecidual. O exame macroscópico dos pulmões revelou ainda petéquias e enfisema ao redor da ferida da biopsia, presentes em quatro (4/15 – 26,6%) e cinco (5/15 – 33,3%) ovinos, respectivamente.

Os fragmentos teciduais obtidos através da biopsia variaram de 4 a 17 mm de comprimento (MED = 10 mm) e estão de acordo com as descrições prévias da literatura (BRAUN et al., 1999; BRAUN et al., 2000; SILVA, 2005). Todas as amostras de tecido obtidas (15/15 – 100%) eram de pulmão e se encontravam adequadas para análise histopatológica por apresentarem arquitetura pulmonar preservada. Uma biopsia é considerada representativa quando são visualizadas unidades funcionais do tecido amostrado (NAYLOR et al., 1992). Em onze amostras (12/15 – 80%) foi possível observar bronquíolos primários, terminais e respiratórios, ductos e sacos alveolares bem como alvéolos isolados. Em três amostras (3/15 – 20%) estavam presentes apenas ductos e sacos alveolares e alvéolos isolados. Não foi possível verificar a presença de brônquios nas amostras obtidas devido ao pequeno número dessas estruturas no local onde foi realizada grande parte das punções, a porção basal do lobo diafragmático.

Uma amostra (1/15 – 6,6%) apresentou infiltrado inflamatório misto discreto, composto por mononucleares e neutrófilos. Uma possível explicação para esse achado é que, se estes animais realmente apresentavam doença respiratória, o processo ainda estava muito incipiente para ser detectado ao exame clínico.

Todas as amostras de pulmão obtidas (15/15 – 100%) mostraram áreas atelectásicas nas extremidades e duas amostras (2/15 – 13,3%) apresentaram também esmagamento tecidual com comprometimento de parte da área amostrada, todavia nenhuma dessas alterações comprometeu a avaliação morfológica. Em três casos (3/15 – 20%), além de pulmão, também foram observados fragmentos de pele, músculo esquelético, fígado ou tecido

conjuntivo de origem indeterminada, também sem comprometer a avaliação histopatológica das amostras.

CONCLUSÕES

A técnica de biopsia pulmonar transtorácica percutânea foi de fácil execução, segura e eficiente na obtenção de amostras de tecido para avaliação do parênquima pulmonar. Outros estudos devem ser conduzidos para confirmar a viabilidade das amostras e a eficiência diagnóstica desta técnica também em ovinos portadores de doenças respiratórias.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao auxílio financeiro e a bolsa de estudos de mestrado concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP.

REFERÊNCIAS

BRAUN, U.; ESTERMANN, U.; FEIGE, K.; SYDLER, Y.; POSPISCHIL, A. Percutaneous lung biopsy in cattle. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 215, n. 5, p. 679-681, 1999.

BRAUN, U.; ESTERMANN, U.; FLÜCKIGER, M.; SYDLER, T.; POSPISCHIL, A. Ultrasound-guided percutaneous lung biopsy in sheep. **Veterinary Record**, London, v. 146, n. 18, p. 525-528, 2000.

FINN-BODNER, S. T.; HATHCOCK, J. T. Image-guided percutaneous needle biopsy: ultrasound, computed tomography, and magnetic resonance imaging. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, New York, v. 8, p. 258-278, 1993.

HAMARATI, L. B. CT-guided automated needle biopsy of the chest. **American Journal of Roentgenology**, Palo Alto, v. 165, p. 53-55, 1995.

MOORE, E. H. Percutaneous biopsy in lung cancer. **Seminaries in Roentgenology**, Philadelphia, v. 40, n.2, p.154-170, 2005.

NAYLOR, J. M.; CLARCK, E. G.; CLAYTON, H. M. Chronic obstructive pulmonary disease: usefulness of clinical signs, bronchoalveolar lavage, and lung biopsy as diagnostic and prognostic aids. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 33, p. 591-598, 1992.

PORTO, N., Punção biopsia pulmonar transcutânea. In: SILVA, L. C. C. **Compêndio de pneumologia**. São Paulo: Fundação FKY, 1991. cap. 5, p. 274-276.

RAPHEL, C. F.; GUNSON, D. E. Percutaneous lung biopsy in the horse. **Cornell Veterinary**, Cornell, v. 71, p. 349-348, 1981.

ROOK, J. S.; SCHOLMAN, G.; WING-PROCTOR, S.; SHEA, M. Diagnosis and control of neonatal losses in sheep. **Veterinary Clinics of North American: Food and Animal Practice**, Philadelphia, v. 6, n. 3, p. 531-562, 1990.

SILVA, D. P. G. **Avaliação da técnica de biopsia pulmonar transtorácica em bezerros clinicamente sadios e com broncopneumonia induzida experimentalmente**. 2005. 75p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

STONE, E. A. Biopsy: principles, technical considerations and pitfalls. **Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 25, n. 1, p. 33-34, 1995.

VIEIRA, F. J. B.; TRIGO, T. F. J.; MEZA, L. J.; ROMERO, F. A.; PÉREZ, G. T.; GÜEMES, F.S. Serotipos de *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica* aislados a partir de pulmones com lesions inflamatorias en ovinos y caprinos. **Veterinária México**, México, v. 27, n. 2, p. 107-112, 1993.

COMPARAÇÃO ENTRE DOIS MÉTODOS ULTRASSONOGRÁFICOS PARA DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS

Rodrigo Maciel Cavalcanti¹, Graziela Barioni², Flávia Mara Machado³, Giuliano Moraes Figueiró⁴ e André Silva Jorge¹.

1. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha

2. Médica Veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha. CEP: 29102-770, Vila Velha, ES, Brasil. gbarioni@uvv.br (autor correspondente)

3. Médica Veterinária, especialista, Prof.^a do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha

4. Médico Veterinário, mestre, professor do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha.

PALAVRAS-CHAVE: Ovinos, prenhez, transabdominal, transretal, ultrassonografia.

ABSTRACT

A COMPARISON OF TWO ULTRASOUND METHODS FOR PREGNANCY DIAGNOSIS IN SANTA INÊS SHEEP

Sheep production is a promising alternative to cattle production. Therefore, the growing demand for productivity requires animals of high genetic and zootechnical qualities. To increase the number of such animals, it is necessary to use appropriate reproductive techniques and effective diagnostic methods as well as to monitor pregnancies. A failure in diagnosis may lead to great economic losses. This study assesses two methods for early diagnosis in sheep: transrectal and transabdominal ultrasound. The ultrasound exam is a safe method that provides fast and accurate pregnancy diagnosis in small ruminants. A total of 14 non-pregnant Santa Inês ewes were submitted to an estrus synchronization program and were naturally bred during heat cycles. Ultrasound exams were performed after 15, 22, and 30 days of pregnancy. The transrectal approach was efficient for pregnancy diagnosis up to day 30. After this period, the transabdominal approach was regarded as a better diagnosing technique due to its greater convenience.

KEYWORDS: Ovine, pregnancy, transabdominal, transrectal, ultrasonography.

INTRODUÇÃO

A utilização de técnicas para detecção precoce de gestação em ovinos é essencial para a adoção de um programa de reprodução controlada. A não obtenção do diagnóstico, ou o diagnóstico tardio, resultam em representativas perdas econômicas (ISHWAR, 1995).

Os avanços nas biotécnicas da reprodução como o uso de programas de indução e/ou sincronização de cios, realização de inseminação artificial e transferência de embriões exigem a existência de métodos eficientes de diagnóstico precoce de gestação e de estimativa de fetos (LÉGA et al., 2007).

LÉGA et al. (2007) afirmam ainda que o estudo da gestação tem como principais objetivos a programação e diferenciação do rebanho, o diagnóstico de problemas de fertilidade ou defeitos congênitos, o descarte precoce de fêmeas inférteis e a suplementação alimentar de fêmeas gestantes.

AIUMLAMAI et al. (1992) e DOIZÉ et al. (1996) afirmam que o diagnóstico de gestação preciso e precoce, associado à quantificação dos fetos permite o manejo nutricional adequado do rebanho, além de serem úteis para a adoção de práticas necessárias no rebanho, como por exemplo, o descarte ou abate das fêmeas vazias. AIUMLAMAI et al. (1992) afirmam ainda que a realização de exames ultrasonográficos é vantajosa quanto a tempo e acurácia no diagnóstico de prenhez.

A ultrassonografia tem sido o método de escolha para diagnóstico de prenhez em cabras por ter elevada acurácia, ser rápido, prático e satisfatório tanto no diagnóstico de gestação como na determinação do número de fetos, fetometria e avaliação da idade gestacional (CHAVES MORENO et al., 1996; LÉGA, 2000).

O exame ultrasonográfico mostra-se vantajoso por ser não-invasivo e inócuo, tanto para a mãe quanto para o feto, permitindo então repetidas medições em um mesmo animal (ALVES, 1992).

SOUZA et al. (1997) determinaram que a frequência dos transdutores utilizados, a qualidade de resolução das imagens de diferentes aparelhos ultrasonográficos, a habilidade do operador, as diferenças entre raças e o comportamento do animal durante o exame são fatores que influenciam na precocidade do diagnóstico de prenhez. A precisão ultrasonográfica pode variar ainda dependendo da idade do animal examinado (KAREN et al., 2004).

Uma grande vantagem da ultrassonografia por via transretal é o fato de utilizar um transdutor linear simples, como o utilizado em animais de maior porte. Este método fornece

imagens nítidas do útero de maneira rápida e bem tolerada pelos animais (DOIZÉ et al., 1996).

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os métodos de diagnóstico precoce de gestação através de ultrassonografia transretal e transabdominal em ovelhas de raça Santa Inês.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no período de agosto de 2008 a fevereiro de 2009, em propriedade rural no município de Guarapari, Estado do Espírito Santo. Foram utilizadas 14 fêmeas ovinas da raça Santa Inês, clinicamente saudáveis, mantidas sob manejo de semiconfinamento, recebendo ração duas vezes ao dia e mistura mineral própria para ovinos e água à vontade.

As ovelhas foram separadas dos machos e submetidas a exame ultrassonográfico para seleção das fêmeas vazias, nas quais foi realizado um protocolo hormonal de indução do estro. No dia zero foi colocado o implante de progesterona, aos sete dias foi retirado o implante e aplicado 50mg de cloprostenol e 350 UI de ECG. Após 55 horas foi realizada a monta natural com machos de fertilidade comprovada por exame andrológico.

Quinze dias após a data da monta natural, iniciaram-se os exames ultrassonográficos por via transretal com aparelho Honda HS 101v com transdutor linear de 7,5 MHz e transabdominal Honda HS 2000 com transdutor convexo de 7MHz. Após o 15º dia, foram realizadas novas ultrassonografias ao 22º e 30º dias de gestação. Os exames foram realizados com o intuito de diagnosticar gestações e comparar os dois métodos utilizados quanto à precocidade do diagnóstico e a facilidade de obtenção das imagens necessárias para o diagnóstico de gestação.

O exame foi realizado com a ovelha em estação, por meio de contenção física (manual). O acesso do operador para a técnica transretal foi pela região posterior e introdução do transdutor pelo reto, sendo colocado um extensor de policloreto de vinila (PVC), com o intuito de facilitar a manipulação do transdutor. O reto e o transdutor foram lubrificados com gel acústico. O método transabdominal foi realizado com o operador posicionado lateralmente ao animal e o transdutor foi colocado na região inguinal. O diagnóstico foi considerado

positivo por meio da visualização da vesícula gestacional e embrião, bem como a associação com o aumento uterino por líquidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A acéracea em diagnosticar a prenhez pela avaliação transretal e transabdominal foi baixa (33,3%) aos 15 dias após a cobertura, aumentando com o avançar da gestação e atingindo 100% aos 30 dias. CALAMARI et al. (2003) realizando o exame transretal aos 19 dias de gestação também relataram baixa acurácia (35,29%). Afirma ainda que ao transcorrer da gestação observou-se aumento da acurácia, porém nunca chegando aos 100%.

A obtenção de diagnóstico de gestação ao 15º dia corrobora CHALHOUB et al. (2001), que descreveram que em seu trabalho, o diagnóstico mais precoce de gestação, pelo método transretal, em uma ovelha da raça Bergamácia foi no 15º dia de gestação. Entretanto, RAMOS et al. (2007) relataram em seu trabalho com ovelhas da raça Santa Inês, que o tempo gestacional mínimo necessário para o diagnóstico de gestação foi de 18 dias após cobertura, por meio de método transretal.

CHALHOUB et al. (2001) ressaltam ainda que até o 21º dia foi possível a visualização da vesícula embrionária em todas as ovelhas, mas em nossa pesquisa só obtivemos 100% de diagnósticos precisos ao 30º dia de gestação.

Observou-se aumento da sensibilidade do exame ultrassonográfico transretal e transabdominal com o avançar da gestação, chegando a 85,7% aos 30 dias de gestação. Entretanto a especificidade foi decrescente em função do tempo gestacional, como também foi descrito por CALAMARI et al. (2003). Portanto pelos resultados encontrados constata-se que a ultrassonografia para o diagnóstico gestacional é um método sensível, mas pouco específico, portanto tende a gerar falso-positivos.

A diminuição da acurácia e consequente aumento de falso positivos e falso negativos podem ser decorrentes da falta de experiência do operador com o diagnóstico ultrassonográfico e com a técnica utilizada. Esse tipo de influência também foi relatada por KAREN et al. (2004) e RAMOS et al. (2007). Podemos afirmar então que o alto índice de acurácia, de preditividade positiva e negativa encontrados nesta pesquisa podem ter sido decorrentes da vasta experiência com o diagnóstico ultrassonográfico dos operadores do aparelho.

Outro fator que influencia na precocidade no diagnóstico gestacional pela ultrassonografia é a qualidade da resolução das imagens, decorrentes da qualidade dos aparelhos utilizados, e o tipo e frequência dos transdutores, como foi ressaltado por SOUZA et al. (1997).

Quando comparamos os métodos transretal e transabdominal podemos constatar que o método transretal permite uma visualização mais fácil da vesícula embrionária em gestações mais precoces. Assim como descrito por CHALHOUB et al. (2001) e RAMOS et al. (2007), constatamos que a via transretal com idade gestacional superior a 30 dias torna-se menos apropriada devido a pouca mobilidade do transdutor, provocando dificuldades para avaliação dos fetos.

Portanto, após os 30 dias de idade gestacional o método transabdominal torna-se mais fácil e eficiente, permitindo ainda a realização da fetometria, como descrito por RAMOS et al. (2007), que indicam esse método a partir dos 45 dias de gestação.

CONCLUSÃO

Tanto a via transretal quanto a transabdominal permitiram o diagnóstico das gestações. Contudo, o método transretal gerou diagnóstico precoce no 15º dia, sendo indicado para o diagnóstico precoce de gestação em ovelhas com menos de 30 dias de prenhez. A partir do 30º dia a via transabdominal passa a ser a mais indicada, tanto pela praticidade quanto pela acurácia apresentada.

REFERÊNCIAS

- AIUMLAMAI, S.; FREDRICKSSON, G.; NISLFORS, L. Real-time ultrasonography for determining the gestational age of ewes. **Veterinary Record**, London, v. 131, p. 560-562. 1992.
- ALVES, L.C. **Biópsia vaginal, dosage de progesterona, laparoscopia e ultra-sonografia, como meios de diagnóstico de gestação em ovinos**. Santa Maria, RS. 1992, 61f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 1992.
- CALAMARI, C. V.; FERRARI, S.; LEINZ, F. F.; RODRIGUES, C. F. C.; BIANCHINI, D.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A. Avaliação de dois métodos de diagnóstico precoce de gestação em ovelhas: ultra-sonografia transretal e detector de prenhez para pequenos ruminantes

(DPPR-80[®]). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 261-266, 2003.

CHALHOUB, M.; FERREIRA, J. C. P.; RIBEIRO FILHO, A. L. PRESTES, N. C.; LOPES, M. D. Características do trato genital de ovinos gestantes e correlação entre comprimento craniocaudal e medidas fetais realizadas através da ultra-sonografia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 1, p. 37-41, 2001.

CHALHOUB, M.; LOPES, M. D.; PRESTES, N. C.; RIBEIRO FILHO, A. L. Perfil ultra-sonográfico do crescimento embrionário/fetal ovino do 21º ao 41º dia de gestação. . **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 2, n. 3, p. 65-68, 2001.

CHALHOUB, M.; PRESTES, N. C.; LOPES, M. D.; RIBEIRO FILHO, A. L.; LOPE, R. M.; TRINCA, A. L. Relação entre comprimento craniocaudal e diâmetro da vesícula embrionária/fetal com idade de gestação por meio de avaliação ultra-sonográfica em ovino da raça bergamácia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 1, p.71-77, 2001.

CHAVEZ MORENO, J.; CHAVES STEINMANN, C.; BICKHARDT, K. Fetale herzfrequenzmessung und sonographische fetometrie zur bestimmung des trächtigkeitsstadiums bei schaf. **Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.**, v.103, p.478-480, 1996.

DOIZÉ, F. et al. Determination of gestational age in sheep and goats using transrectal ultrasonographic measurement of placentomes. **Theriogenology**, Stoneham, v. 48, p. 449-460, 1997.

ISHWAR, A. K. Pregnancy diagnosis in sheep and goats: a review. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 17, p. 37-44. 1995.

KAREN, A.; SZABADOS, K.; REICZIGEL, J.; BECKERS, F. J.; SZENCI, O. Accuracy of transrectal ultrasonography for determination of pregnancy in sheep: effect of fasting and handling of the animals. **Theriogenology**, Stoneham, v. 61, p. 1291-1298, 2004.

LÉGA, E. **Acompanhamento ultra-sonográfico transabdominal em modo-B e concentração sérica de progesterona dos primeiros 60 dias de gestação na cabra doméstica (Capra hircus, Linnaeus, 1758)**. 2000. 95f. Dissertação (mestrado). – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

LÉGA, E.; TONIOLLO, G. H.; OLIVEIRA, J. A.; RESENDE, K. T.; RODRIGUES, V. Determinação da idade fetal por meio da técnica ultra-sonográfica de fetometria e de morfologia fetal em cabras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p. 851-856, 2007.

RAMOS, A. K. M.; NEVES, J. P.; McMANUS, C.; LUCCHI, C. M.; CARNEIRO, H. C. R.; AMARALET, R. S. Avaliação dos parâmetros ecográficos de desenvolvimento gestacional de ovinos da raça Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 3, p. 537-543, 2007.

SANTOS, M. H. B.; MORAES, E. P. B. X.; GUIDO, S. I.; BEZERRA, F. Q. G.; MELO, A. N.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Sexagem fetal em ovelhas santa inês por ultrasonografia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 573-578, 2006.

SOUZA, V. F. et al. Desenvolvimento embrionário e fetal avaliado por ultra-sonografia do 25º ao 60º dia de gestação em nelore (*Bos taurus indicus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 21, n. 2, p. 15-17, 1997.

DISPLASIA FISEAL EM BOVINOS MANEJADOS EM SISTEMA INTENSIVO

Ingrid Rios Lima¹; Ângela Moni Fonseca²; Luiz Henrique da Silva²; Cássia Maria Molinaro Coelho¹; Júlio Carlos Canola³; Naida Cristina Borges⁴

1. Médica veterinária, mestre em Clínica e Cirurgia de Grandes Animais

2. Acadêmicos (as) do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás (UFG)

3. Médico veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)

4. Médica veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária, Hospital Veterinário, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil, CEP 74001-970.

E-mail: naida@vet.ufg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Claudicação, enfermidades digitais, epifisite.

ABSTRACT

PHYSEAL DYSPLASIA IN CATTLE RAISED IN INTENSIVE SYSTEMS

Little is known about bovine physeal dysplasia due to lack of research on this subject. There are no incidence records or information related to how its etiological characteristics are similar to those of other species. This study investigates the occurrence of epiphysitis in confined male cattle from Goiás as well as the influence of age, digital injuries, lameness, and other locomotor disorders in the distal extremities of limbs. A total of 50 crossbred cattle (Zebu x European) of different ages, weighing 404kg, were evaluated. A significant correlation was found between age ($p=0,048$) and physeal displasia, and between lameness ($p=0,885$) and digital injuries ($p=0,728$). Analysis of the other bone alterations in the digits showed that they were negatively influenced by physeal displasia. We conclude that confinement may be a determining factor in the development of physeal injuries in cattle, and more radiographic studies are needed to be carried out during the growth phase in order to better understand the etiopathogenicity of the disease.

KEYWORDS: Digital injuries; epiphysitis; lameness.

INTRODUÇÃO

Displasia fiseal (DF), conhecida como fisite, epifisite e epifisiólise, é definida por HURTIG & POOL (1996) como a manifestação anormal do crescimento da placa metafisária

caracterizada pelo alargamento da mesma causando dor e claudicação em animais jovens de crescimento rápido. MCLLWRAITH (2004) considera essa afecção como uma forma de manifestação da osteocondrose, e HURTIG & POOL (1996) a descrevem como doença ortopédica do desenvolvimento.

Segundo THRALL (1998), a osteocondrose (OCD) constitui desordem relativamente comum em animais jovens e consiste em falha na maturação da cartilagem, ou seja, defeito na ossificação endocondral. Sua etiologia ainda não está clara, RADOSTITS et al. (2002) afirmam que na maioria dos casos as lesões são multifatoriais e secundárias a defeitos de conformação, lesões traumáticas, processo de envelhecimento e deficiência nutricional. MARQUES et al. (1998) citam que em bovinos a OCD acomete as articulações atlanto-ocipital, coxofemoral, fêmuro-tíbio-patelar, tíbio-társica, escapulo - umeral, rádio-carpal e metacarpo-falangeana. Clinicamente os animais apresentavam claudicação súbita com discreto inchaço ao redor da articulação metatarso falangeana (MURPHY et al., 1975). De acordo com BARGAI et al. (1988) as alterações radiográficas observadas são espessamento irregular da fise na placa de crescimento distal do metacarpo, múltiplas linhas de calcificação sobrepostas, extensão e separação das bordas das placas de crescimento da epífise e da metáfise formando projeções denominadas *lips* ou em forma de lábios.

A displasia fiseal é um tema pouco abordado em bovinos. Não se sabe ao certo com que frequência ocorre nesses animais e se sua etiologia se assemelha à relatada em outras espécies. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de epifisite em bovinos machos confinados e relacioná-la a idade, presença de lesões digitais, claudicação e outras alterações radiográficas localizadas nas extremidades distais dos membros locomotores.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliou-se 50 bovinos machos de diferentes idades, com média de peso corporal de 404 kg, criados em sistema intensivo de produção. Estes animais permaneceram 112 dias confinados, alcançando média diária de ganho de peso de 1,5 kg. Ao final do período, o escore de locomoção dos animais foi avaliado adotando os critérios de FERREIRA et al. (2005), em seguida, os animais foram encaminhados ao abate em frigorífico sob Inspeção Federal e procedeu-se a colheita das quatro extremidades distais, perfazendo assim o total de 200 extremidades para serem estudadas.

A idade dos bovinos foi estimada por cronologia dentária, sendo três animais com até 24 meses; 14 entre 24 a 30 meses; 24 entre 30 a 36 meses e nove entre 36 a 48 meses. Durante o período de confinamento os bovinos foram analisados quanto ao escore de locomoção; os membros coletados foram examinados quanto à presença e tipo de lesões podais e radiográficas.

Após devidamente lavados, os 200 membros foram avaliados quanto à presença ou ausência de lesões podais, as quais, quando observadas, foram classificadas segundo as recomendações de SILVA et al. (2001) e NICOLETTI (2004). A ocorrência de mais uma lesão no mesmo dígito foi classificada como lesão mista.

As radiografias foram obtidas nas projeções palmaro/plantaro-dorsal e latero-medial, sendo o colimador centrado na altura da articulação metacarpo/metatarso e das falanges. Na projeção latero-medial, para evitar a sobreposição das falanges distais, fez-se uso de separador interdigital de madeira BORGES et al., (2006). As radiografias foram avaliadas de acordo com as recomendações de BARGAI et al. (1988).

O teste de Qui-quadrado para independência foi aplicado na avaliação de associações entre DF versus lesão radiográfica, DF versus claudicação, DF versus lesão podal e DF versus localização no dígito. As análises foram realizadas com auxílio do programa SPSS, versão 15.0[®], considerando a significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A displasia fiseal foi observada em 18 (52,9%) dos bovinos com faixa etária entre 31 a 36 meses de idade, 13 (38,2%) com idade entre até 30 meses, e em apenas três (9%) com 37 a 48 meses. Verificou-se a influência da idade sobre a ocorrência de displasia fiseal em bovinos de diferentes idades ($p = 0,048$). Quanto às faixas etárias avaliadas, pôde-se observar que a DF ocorreu em 61,7% dos bovinos com idade entre 31 a 48 meses. De acordo com WEAVER (1997), as placas de crescimento dos ossos longos nos bovinos se fecham entre 24 a 30 meses de idade. TURNER (1994) afirma que a DF cursa com retardo na maturação dos condrócitos e conseqüentemente no fechamento das fises. Essa afirmação pôde ser comprovada nesse estudo pelo maior número de casos em animais que já haviam atingido a maturidade óssea. Como a avaliação radiográfica foi realizada apenas no momento em que os animais foram encaminhados para o abate, não se pode precisar em que idade esses animais desenvolveram a doença.

Avaliando-se a ocorrência de displasia fiseal em relação a sua localização nos membros verificou-se que as lesões se apresentaram de forma semelhante em membros torácicos e pélvicos ($p = 0,307$). Resultado semelhante foi relatado por MURPHY et al. (1975) onde a displasia fiseal ocorreu tanto nos membros pélvicos quanto nos membros torácicos de quatro touros em fase de desenvolvimento.

A DF não ocorreu associada ($p = 0,015$) a outras lesões radiográficas em 81,6% dos membros avaliados. Paralelamente, constatou-se que as principais lesões radiográficas que ocorreram concomitantemente à essa afecção ($n=125$) foram doença degenerativa articular (4,8%), osteíte (3,2%), periostite, artrite séptica e calcificação do tendão flexor profundo (2,4%), artrite anquilosante, fratura em lasca e calcificação do tendão extensor (1,6%).

A ocorrência de DF não esteve associada à presença de claudicação ($p = 0,855$), ou seja, as chances de um animal claudicante apresentar ou não displasia fiseal são as mesmas. Além disso, a distribuição de frequência demonstrou que 80% dos animais portadores de DF não apresentaram claudicação, o que contraria os relatos de MURPHY et al. (1975) e BARGAI et al. (1988) onde os autores afirmam que a claudicação é o principal sinal clínico evidenciado em animais portadores de displasia fiseal.

Displasia fiseal também não esteve relacionada à ocorrência de lesões podais ($p=0,728$). A possibilidade de bovinos portadores de DF apresentarem outras lesões podais nos dígitos é de apenas 27,2%, ou seja, a DF foi constatada de forma isolada em 72,8% dos animais avaliados. Resultados semelhantes foram encontrados por BORGES et al. (2006), onde 65% das extremidades distais de bovinos manejados extensivamente, sem sinais de enfermidades digitais, apresentaram displasia fiseal. A partir destas observações, pode-se supor que, apesar da proximidade das falanges com as fises distais do metacarpo/metatarso, tais enfermidades não influenciam o desenvolvimento de displasia fiseal, reforçando as hipóteses citadas por TURNER (1994) de que sua etiologia está relacionada a fatores nutricionais, genéticos e mecânicos.

Paralelamente, verificou-se que as lesões podais predominantes nos membros portadores de displasia fiseal ($n=125$) foram pododermatite séptica e a lesão mista (9,6% cada), dermatite interdigital (4,8%), dermatite digital e erosão de talão (1,6% cada).

Comparando o trabalho de BORGES et al. (2006) com o presente estudo verificou-se que a ocorrência de displasia fiseal também ocorreu em animais que não foram manejados intensivamente, não sendo possível determinar até que ponto o tipo de manejo a que os animais foram submetidos pode influenciar no desenvolvimento de displasia fiseal.

CONCLUSÕES

A displasia fiseal ocorre em bovinos com idade entre 31 a 48 meses. Para que se compreenda melhor a etiopatogenia dessa enfermidade é necessária a realização de estudos radiográficos que acompanhem o animal durante seu crescimento, visando determinar se essa constitui uma enfermidade economicamente relevante para o processo produtivo.

REFERÊNCIAS

- BARGAI, U.; PHARR, J. W.; MORGAN, J. P. **Bovine radiology**. Ames: Iowa State University, 1988. 198p.
- BORGES, N. C.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; LIMA, I. R.; COSTA, A. C.; COSTA, A. P. A.; BORGES, J. R. J.; CANOLA, J. C. A Post-mortem radiographic study of the digits of bovine raised in natural grazing environment. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL, 14; CONFERENCIA LAMENESS IN RUMINANTES, 2006, Uruguai. **Anais...**Uruguai: Central de Impresiones, 2006. p. 43-44.
- FERREIRA, P. M.; CARVALHO, A. U.; FILHO, E. J. F.; FERREIRA, M. G.; FERREIRA, R. G. Afecções do sistema locomotor de bovinos. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, 2, 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associação de Buiatria de Minas Gerais, 2005. 24p.
- HURTIG, M. B.; POOL, R. R. Other joint entities. In: MCLLWRAITH, C. W.; TROTTER, G. W. **Joint disease in the horse**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996. cap.20, p. 335-358.
- MARQUES, L. C.; ALESSI, A. C.; CANOLA, J. C. Osteocondrose em bovinos confinados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 50, n. 1, p. 95-98, 1998.
- MCLLWRAITH, C. W. Developmental orthopedic disease: problems of limbs in young horses. **Veterinary Review**, Dagenham, v. 24, n. 11, p.475-479, 2004.
- MURPHY, P. A.; WEAVERS, E. D.; BARRETT, J. N. Epiphysitis in beef cattle fattened on slatted floors. **The Veterinary Record**, London, v. 97, n. 6, p. 445-447, 1975.

NICOLETTI, J. L. M. **Manual de podologia bovina**. Barueri: Manole, 2004. 125p.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed. Rios de Janeiro: Guanabara Koogan.p.176-181, 2002.

SILVA, L. A. F.; SILVA, L. K.; ROMANI, A. F.; RABELO, R. E.; FIORAVANTI, M. C. S.; SOUZA, T. M.; SILVA, C. A. Características clínicas e epidemiológicas das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona – GO. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 2, n. 2, p. 119-126, 2001.

THRALL, D. E. **Textbook of veterinary diagnostic radiology**. 3.ed. London: Saunders, 1998. 663p.

TURNER, S. Doenças dos ossos e estruturas relacionadas. In: STSHAK, T. D. **Claudicação em eqüinos segundo Adams**. 4.ed. São Paulo: Roca,1994.cap.6, p. 301-349.

WEAVER, A.D. Joint conditions. In: GREENOUGH, P.R.; WEAVER, A.D. **Lameness in cattle**. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. p. 162-70.

ESTUDO RADIOGRÁFICO DAS EXTREMIDADES DISTAIS DOS MEMBROS LOCOMOTORES DE BOVINOS COM CLAUDICAÇÃO

Ingrid Rios Lima¹; Ângela Moni Fonseca²; Luiz Henrique da Silva²; Ana Paula Araújo Costa²; Luiz Antônio Franco da Silva³; Naida Cristina Borges⁴

1. Médica veterinária, mestre em Clínica e Cirurgia de Grandes Animais

2. Acadêmicos (as) do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás (UFG)

3. Médico veterinário, Dr., professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás (UFG)

4. Médica veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária, Hospital Veterinário, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil, cep 74001-970.

E-mail: naida@vet.ufg.br (autor correspondente)

PALAVRAS- CHAVE: Alterações radiográficas, diagnóstico por imagem, enfermidades podais.

ABSTRACT

RADIOGRAPHIC STUDY OF THE DISTAL EXTREMITIES OF LOCOMOTOR LIMBS IN CATTLE WITH LAMENESS

Radiography has been widely used to classify and assess the degree of injuries that cause lameness. This study reports a radiographic study of the distal extremities of locomotor limbs. Scoring distribution considered limbs with and without malformations, and related lameness and the severity of digital injuries to radiographic images. A total of 50 confined male cattle presenting locomotor disorders, with or without digital alteration, were evaluated, of which 86% were affected by lameness. As regards severity of impairment, 14% of animals' injuries were mild, 20% moderate, 52% severe, and 14% profound. Analysis of 200 limbs revealed that only 29,5% had digital injuries, which included multiple lesions (40,7%), septic pododermatitis (32,2%), interdigital dermatitis (11,9%), heel-horn erosion (8,5%), and digital dermatitis (68%). According to the radiographic evaluation, 25,5% of the extremities presented some kind of digital alteration. The main injuries were: degenerative joint disease (27,5%), osteitis (19,6%), periostitis (15,7%), septic arthritis in distal interphalangeal joints (11,8%), calcification of deep flexor tendon (7,8%), and extensor tendon (5,9%). Results indicate a relationship between the presence of lameness, digital injuries and radiographic alterations. Locomotion scores, associated with podal injury and radiographic examinations, helped in the diagnosis of lameness.

KEYWORDS: Image diagnosis, podal injuries; radiographic alterations.

INTRODUÇÃO

Claudicação em bovinos tem sido associada a perdas econômicas e preocupações em relação ao bem estar animal, e dentre suas causas, as enfermidades digitais estão entre as mais importantes. SOUZA (2002) constatou prevalência de 89,8% de diversos tipos de lesões causando claudicação em animais manejados semi-intensivamente e, segundo SILVA et al. (2001) e NICOLETTI (2004), dependendo da gravidade das lesões podais, a afecção apresenta graus variados de intensidade. Além do exame clínico geral e específico do casco, STANEK (1997) afirma que o exame radiográfico constitui método auxiliar importante no diagnóstico de claudicação, pois indica a extensão das lesões, sua natureza e sugere o prognóstico provável. BARNABÉ (2005), em estudo radiográfico com bovinos claudicantes, encontrou enfermidades podais com a seguinte prevalência: doença degenerativa articular (28,72%), osteíte (24,22%), periostite (11,42%), artrite séptica (7,96%) e osteomielite (7,26%). BORGES et al., (2006) avaliando 70 extremidades de animais portadores de enfermidades podais constataram 58% de osteíte, 32% de fisite asséptica e 31% de periostite.

Ainda que os estudos reforcem a importância do assunto, não se esclareceu quais lesões são clinicamente relevantes e quais são os achados radiográficos considerados normais. Assim, objetivou-se realizar o estudo radiográfico das extremidades distais dos membros locomotores de bovinos apresentando diferentes escores de locomoção e relacionar os achados.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, protocolo N° 009/2008. Empregou-se 50 bovinos, mestiços (Zebu X Europeu), machos, manejados em sistema intensivo durante o período de 112 dias, contados a partir da entrada dos animais no confinamento. O escore de locomoção, foi estabelecido no momento da chegada ao confinamento (M1) e na saída para o frigorífico (M2), segundo relatos de FERREIRA et al. (2005).

Ao final do período de confinamento os animais foram acompanhados durante o abate para a colheita das extremidades distais dos membros locomotores. Os membros foram desarticulados nas junções carpo-metacárpica e tarso-metatarsica e transportados à Escola de Veterinária para lavagem das peças e classificação das lesões de acordo com as recomendações de SILVA et al. (2001) e NICOLETTI (2004). A denominação “lesão mista”

foi instituída quando se constatou a presença de sinais clínicos compatíveis com mais de uma enfermidade digital na mesma extremidade. Além disso, as lesões foram distribuídas de acordo com três escores de severidade: Grau 1 para as lesões leves, Grau 2 para moderadas e Grau 3 para graves.

Os membros foram encaminhados para exame radiográfico em projeções palmaro/plantaro- dorsal e latero-medial e as películas radiográficas foram avaliadas de acordo com as recomendações de BARGAI et al. (1988).

Os resultados foram apresentados na forma de distribuição de frequência. O teste de regra dos sinais de Descartes avaliou a característica do escore de locomoção (melhora e piora) dos animais nos momentos M1 e M2. O teste de Correlação de Sperman foi realizado para avaliar a relação entre os graus de escore de claudicação e os graus de severidade das lesões podais. O teste do Qui-quadrado para independência foi aplicado na verificação de associações entre claudicação versus lesão podal, lesão radiográfica versus claudicação, lesão radiográfica versus lesão podal e lesão podal versus localização da lesão radiográfica nos dígitos laterais e mediais. As análises foram realizadas com auxílio do programa SPSS, versão 15.0[®], considerando a significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 50 bovinos avaliados quanto ao escore de locomoção, 43(86%) manifestaram claudicação igual ou superior ao grau dois. Nos demais sete (14%) foi observado escore um, sendo, portanto considerados portadores de desordens locomotoras, concordando com FERREIRA et al. (2005). A comparação entre M1 e M2 demonstrou que em apenas cinco (10%) dos animais observou-se melhora na claudicação, 23 (46%) mantiveram o mesmo escore de locomoção e em 22 (44%) notou-se agravamento da claudicação. Confrontando o número de animais que apresentou melhora no escore de locomoção com aqueles que manifestaram agravamento desse parâmetro, observou-se piora ($p = 0,003$) da claudicação dos animais durante os 112 dias de confinamento. Como os animais não foram submetidos a qualquer protocolo terapêutico, o manejo intensivo geralmente propicia acúmulo de sujidades e resulta em maior concentração de animais por área e, fundamentando-se nas afirmações de SILVA et al. (2001) e NICOLLETE (2004), essa situação pode ter contribuído para o agravamento das enfermidades digitais e, conseqüentemente do escore de locomoção.

Considerando a avaliação realizada nas 200 extremidades, constatou-se que 59 (30%) apresentaram lesões aparentes e em 141 (70%) não se observou lesões. Quanto à classificação

das lesões, verificou-se que 100% dos dígitos avaliados apresentaram linhas de estresse horizontais, as quais ocorreram de forma isolada em 141 extremidades (70,5%) e concomitante a outras lesões em 59 (29,5%). Destas, em 40,7% as lesões foram classificadas como mistas, 32,2% eram características de pododermatite séptica, 11,9% dermatite interdigital, 8,5% erosão de talão e 6,8% classificadas como dermatite digital. Acredita-se que estes resultados distintos sejam presumíveis quando se considera o caráter multifatorial das afecções digitais e dentre estes aspectos, as diferenças no tipo de manejo, padrão genético, alimentação, aspectos regionais e climáticos. Assim, as enfermidades digitais diagnosticadas encontram-se dentro da relação de alterações podais apontadas por autores como MARTINS et al. (2002) e SILVA et al. (2007).

O escore de claudicação aumentou à medida que o grau de comprometimento das lesões também aumentou ($p < 0,001$). De modo óbvio, esse achado pode ser justificado em função do aumento da dor desencadeado pelo agravamento das lesões. DYER et al. (2007) comprovaram que a ativação nos índices de dor no casco aumentava o escore de locomoção. Além disso, verificou-se associação entre ocorrência de claudicação e de lesão podal ($p < 0,001$), sendo observados 79,1% de lesões podais nos membros claudicantes. Assim, infere-se que a claudicação esteve relacionada com a presença de enfermidade podal, ainda que tenham ocorrido variações no grau de severidade das lesões. MURRAY et al. (1996), em uma pesquisa empregando bovinos com enfermidades digitais observaram que 96% dos episódios de claudicação estavam relacionados à ocorrência de lesões podais. Os demais animais claudicantes foram diagnosticados como manqueiras altas.

Ao exame radiográfico, constatou-se algum tipo de alteração em 51 (25,5%) extremidades distais avaliadas. As lesões observadas e respectivas freqüências foram: doença degenerativa articular-DDA (27,5%), osteíte (19,6%), periostite (15,7%), artrite séptica da articulação interfalangeana distal (11,8%), calcificação do tendão flexor profundo (7,8%), calcificação do tendão extensor (5,9%), fratura em lasca, artrite anquilosante e calcificação do ligamento cruzado proximal (3,9% cada uma). Dentre os poucos estudos radiográficos realizados em bovinos com histórico de claudicação e com lesões digitais, CRUZ et al. (2001) observaram osteíte em 48% dos animais, osteíte combinada a outras lesões em 17% e DDA em 10% dos avaliados. BARNABÉ (2005) encontrou DDA (26,4%), osteíte (23,6%), periostite (10,4%), artrite séptica (9,4%) e artrite anquilosante (1,6%). Essas variações nos índices encontrados podem estar relacionadas ao manejo e ao tipo de lesão podal.

Alterações radiográficas estiveram presentes em 64,7% dos membros, cujos bovinos apresentavam claudicação evidente ($p<0,001$), indicando que alterações digitais internas podem desencadear mudanças no ato de caminhar. Alterações radiográficas também foram identificadas em 62,7% dos membros com lesões podais diagnosticadas clinicamente ($p<0,001$). Esses resultados sugerem que são maiores as chances das alterações radiográficas estarem presentes em animais portadores de lesões digitais. BARGAI et al.(1988) e GREENOUGH (2007) afirmaram ser a claudicação o principal sinal clínico apresentado por animais portadores de enfermidades podais. Avaliando a ocorrência das lesões radiográficas juntamente com as lesões podais observa-se que 43% bovinos com DDA apresentaram lesões mistas e em 37% não foram identificadas quaisquer lesões. Assim, pode-se afirmar que apesar de existir relação entre a ocorrência de lesões podais e lesões radiográficas, não é possível estabelecer associação entre os tipos de lesões, radiográficas ou podais.

Em uma análise sobre os dígitos mais acometidos verificou-se que as lesões podais e radiográficas ocorreram concomitantes ($p<0,001$) e em proporções semelhantes para os dígitos mediais (81%) e laterais (82%). Possivelmente, mudanças periódicas na distribuição do peso do animal sobre seus membros devido à presença de lesões digitais podem resultar em maior pressão na falange distal, situação que, em tese, propicia alterações tanto no estojo córneo como nas estruturas anatômicas internas do dígito. Portanto, infere-se que a possibilidade do aumento de pressão sobre a falange distal, também pode ter desencadeado as lesões radiográficas diagnosticadas nos bovinos estudados. Essa possibilidade foi aventada por RAVEN (1989).

CONCLUSÕES

O escore de locomoção, associado à caracterização das lesões podais e ao exame radiográfico auxiliou no diagnóstico de claudicação. Portanto, existe relação entre claudicação, lesões podais e alterações radiográficas. No entanto, não é possível relacionar os tipos de lesões radiográficas às diferentes formas de manifestação das doenças podais nos bovinos estudados.

REFERÊNCIAS

BARGAI, U.; PHARR, J. W.; MORGAN, J. P. **Bovine radiology**. Ames: Iowa State University, 1988.198p.

BARNABÉ, P. A. **Alterações radiográficas nos dedos de bovinos claudicantes**. 2005. 50f. Tese (Doutorado em cirurgia veterinária). Escola de Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, São Paulo.

BORGES, N. C.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; LIMA, I. R.; COSTA, A. C.; COSTA, A. P. A.; BORGES, J. R. J.; CANOLA, J. C. A post-mortem radiographic study of the digits of bovine raised in natural grazing environment. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL, 14, CONFERENCIA LAMENESS IN RUMINANTES, 6, 2006, Montevideo. **Anais...** Montevideo: Central de Impresiones, 2006b. p. 43-44.

CRUZ, R.; GARCIA, D.; ALVARADO-MORILLO, M.; JIMÉNEZ, U.; PINO, D. Estudio radiológico de lesiones podales en El bovino a nivel de campo. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, Mayaguez, v. 5, n. 1, p. 604-606, 2001.

DYER, R. M.; NEERCHAL, N. K.; TASCH, U.; WU, Y.; RAJKONDAWAR, P. G. Objective determination of claw pain and its relationship to limb locomotion score in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 90, n. 10, p. 4592-4602, 2007.

FERREIRA, P. M.; CARVALHO, A. U.; FILHO, E. J. F.; FERREIRA, M. G.; FERREIRA, R. G. Afecções do sistema locomotor de bovinos. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, 2, 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associação de Buiatria de Minas Gerais, 2005. 24p.

GREENOUGH, P. R. **Bovine laminitis and lameness: a hands-on approach**. London: Saunders, 2007. 311p.

MARTINS, C. F.; ARTI, E.; BUSATO, I.; PIRES, P. P.; FIORI, C. H. ; MOREIRA, C.; SOARES, K.; BETINI, B.; VELASQUEZ, M. Prevalência e classificação das lesões podais em vacas lactentes da bacia leiteira de campo grande (capital) e municípios arredores. **Ensaio e Ciência**, Campo Grande, v. 6, n. 2, p. 113-137, 2002.

MURRAY, R. D.; DOWNHAM, D. Y.; CLARKSON, M. J.; FAULL, W. B.; HUGHES, J. W.; MANSON, F. J.; MERRITT, J. B.; RUSSELL, W. B.; SUTHERST, J. E.; WARD, W. R. Epidemiology of lameness in dairy cattle: description and analysis of foot lesions. **The Veterinary Record**, London, v. 138, n. 15, p. 586-591, 1996.

NICOLETTI, J. L. M. **Manual de podologia bovina**. Barueri: Manole, 2004. 125p.

RAVEN, E. T. **Cattle footcare and claw trimming**. USA: Farming Press Ltd. 1989. 127p.

SILVA, L. A. F.; RABELO, R. E.; BORGES, J. R. J.; SOARES, L. K.; GOULART, C. S.; STEVES, G. I. F.; BARBOSA, V. T.; ORLANDO, C. F. P.; RIBEIRO, G. H. C. Ocorrência de enfermidades digitais em bovinos, da raça nelore, confinados (resultados parciais). **Archives of Veterinary Science**, Paraná, v. 12, supl., resumo 151, 2007.

SILVA, L. A. F.; SILVA, L. K.; ROMANI, A. F.; RABELO, R. E.; FIORAVANTI, M. C. S.; SOUZA, T. M.; SILVA, C. A. Características clínicas e epidemiológicas das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona – GO. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 2, n. 2, p. 119-126, 2001.

SOUZA, R. C. **Perfil epidemiológico e clínico das afecções podais em vacas nas bacias leiteiras de Belo Horizonte e Pedro Leopoldo**. 2002. 72 f. Tese (Mestrado) Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

STANEK, C. Examination of the bovine locomotor system. In: GREENOUGH, P.R.; WEAVER, A.D. **Lameness in cattle**. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997.p. 14-23

AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS VIÁVEIS AO VENCIMENTO EM VACINAS B19 CONTRA BRUCELOSE COMERCIALIZADAS NO BRASIL

George Afonso Vitor Caldeira¹, Paulo Martins Soares Filho², Tomaz de Aquino Porfírio² e Andrey Pereira Lage³

¹ Médico Veterinário, MSc - Escola de Veterinária - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) - Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

² Médico Veterinário, Fiscal Federal Agropecuário - Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO/MG) - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Av. Rômulo Joviano S/N - Cx Postal 35/50 - CEP 33600.000 - Pedro Leopoldo - MG - Brasil

³ Médico Veterinário, DSc, Professor Adjunto - Escola de Veterinária - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) - Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Cx Postal 567 - Av. Antônio Carlos 6627 - CEP 30123.970 - Belo Horizonte - MG - Brasil - alage@vet.ufmg.br (autor para correspondência)

PALAVRAS-CHAVE: Brucelose bovina, contagem de bactérias viáveis, controle de qualidade, vacina B19

ABSTRACT

ASSESSMENT OF COMMERCIAL *BRUCELLA ABORTUS* B19 VACCINES IN BRAZIL

A total of 67 different production batches of commercial *Brucella abortus* B19 vaccines approved by the Brazilian Ministry of Agriculture (MAPA) were analysed. Expiration dates ranged between March and July 2007, and viable bacteria counts (VBC) were carried out in the expiration month. Results revealed that 74,6% of tested batches showed $VBC \geq 4,0 \times 10^{10}$ CFU/dose, which varied according to the expiration period: 93,1%, 60,0% and 66,7% of vaccines with 12, 18 and 24 month expiration period, respectively.

KEYWORDS: Bovine brucellosis, B19 vaccine, quality control, viable bacteria count

INTRODUÇÃO

A brucelose bovina é uma doença infectocontagiosa causada por *Brucella abortus* que causa grandes prejuízos econômicos ao agronegócio. O controle da brucelose apresenta um papel de extrema importância, não somente para reduzir perdas econômicas no setor primário, mas também para eliminar barreiras ao comércio internacional de produtos de origem animal. Além do aspecto econômico, o controle da brucelose apresenta papel decisivo na prevenção dessa enfermidade na espécie humana.

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) instituiu em 2001 o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). A principal estratégia do PNCEBT para o controle da brucelose é a vacinação de fêmeas bovinas com idade entre três e oito meses com a vacina B19 (BRASIL, 2004 a).

A vacinação de animais geralmente resulta na eliminação do principal quadro clínico da brucelose, que é o aborto, e na redução do número de microrganismos excretados por animais infectados (CORBEL, 2006). Sendo assim, a vacinação promove uma diminuição da prevalência e da incidência da doença, propiciando um avanço do programa de controle em direção à erradicação da doença (LAGE et al., 2005; OLSEN & STOFFREGEN, 2005).

A concentração de bactérias viáveis na vacina B19 presente no momento da aplicação tem uma relação direta com a imunogenicidade e consequente proteção conferida pela mesma (GARCÍA-CARRILLO, 1982). A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) recomenda uma única dose de 5,0 a $8,0 \times 10^{10}$ bactérias viáveis (OFFICE, 2004). O MAPA estabelece doses entre $6,0 \times 10^{10}$ e $1,2 \times 10^{11}$ bactérias viáveis para a aprovação da vacina para comercialização e que ao vencimento as vacinas B19 aprovadas tenham no mínimo $4,0 \times 10^{10}$ bactérias viáveis por dose (BRASIL, 2004b).

Este estudo teve como objetivos avaliar a concentração de bactérias viáveis ao final do prazo de validade de vacinas B19 contra brucelose bovina comercializadas no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

As análises das vacinas foram realizadas no Setor de Brucelose do Laboratório Nacional Agropecuário / Minas Gerais (LANAGRO/MG) do MAPA, em Pedro Leopoldo/MG.

Amostragem

Foram incluídas no estudo amostras de todas as partidas de vacinas comerciais B19 contra a brucelose bovina aprovadas pelo MAPA, com vencimento no período de março/2007 a julho/2007, totalizando 67 partidas. Destas, 29 possuíam prazo de validade de 12 meses, produzidas por dois laboratórios (sendo 26 pelo laboratório B e 03 pelo laboratório E), 35

possuíam prazo de validade de 18 meses (sendo 23 produzidas pelo laboratório A e 12 pelo laboratório C). O laboratório D produziu 3 partidas com prazo de validade de 24 meses.

Contagem de bactérias viáveis nas vacinas ao vencimento

Todas as partidas de vacinas foram coletadas no retém da indústria por um Fiscal Federal Agropecuário do MAPA e enviados ao LANAGRO/MG sob refrigeração (2°C a 8°C). Para realizar a contagem de bactérias viáveis ao vencimento foram utilizados três frascos de cada partida da vacina. Os frascos passaram por avaliação de vácuo (pressão negativa), utilizando-se um centelhador de alta voltagem antes de serem realizadas as contagens de bactérias viáveis (MANUAL..., 200?). Para o experimento foi utilizado o mesmo procedimento de contagem da análise para liberação oficial (contagem à fresco) (ALTON et al., 1988; MANUAL..., 200?). Os resultados foram emitidos em número de unidades formadoras de colônias (UFC) por dose de vacina.

RESULTADOS

À análise de pressão negativa pelo centelhador de alta voltagem todos os frascos de vacina utilizados no experimento apresentaram vácuo de boa qualidade.

Das 67 partidas de vacina B19 analisadas, com vencimento no período de março a julho de 2007, 50 (74,6 %) apresentaram contagem de bactérias viáveis igual ou superior a $4,0 \times 10^{10}$ UFC/dose ao final do prazo de validade, valor este estabelecido pela legislação para o número de bactérias viáveis no vencimento para vacinas B19 comercializadas no Brasil (Brasil, 2004b). Houve variação entre o número de partidas com contagem de bactérias igual ou superior a $4,0 \times 10^{10}$ UFC/dose em função do prazo de validade, com 93,1%, 60,0% e 66,7% das partidas consideradas satisfatórias, com prazos de validade de 12, 18 e 24 meses, respectivamente.

DISCUSSÃO

Segundo VERWEY et al. (1950), a determinação do número de microrganismos viáveis na vacina B19 tem sido utilizada como parâmetro para estimar se a vacina irá conferir proteção ou não. Assim, uma forma de prever a qualidade de vacinas B19 é avaliar se a concentração de bactérias viáveis por dose, realizada *in vitro*, está dentro das normas do órgão regulador do programa de controle da brucelose no país.

Os resultados do presente experimento demonstraram que mais de 25 % das vacinas apresentaram contagem de bactérias viáveis ao vencimento abaixo do recomendado pela legislação, considerando-se o valor de $4,0 \times 10^{10}$ bactérias viáveis por dose (BRASIL, 2004b). As vacinas com prazo de validade de 12 meses foram as que apresentaram o menor número de partidas com contagens abaixo do estabelecido pela legislação ao vencimento. Destas vacinas, quase 8 % estavam abaixo do recomendado. Somando-se as vacinas com prazo de validade de 18 e 24 meses, encontra-se que 42 % das partidas estavam com contagem inferior a $4,0 \times 10^{10}$ bactérias viáveis por dose.

As diferenças entre as concentrações de bactérias viáveis ao final do prazo de validade nas vacinas com 12, 18 e 24 meses não podem ser justificadas por diferenças nas concentrações iniciais (à aprovação) uma vez que todas as vacinas foram aprovadas para comércio pelo MAPA com contagens acima do mínimo requerido para aprovação ($6,0 \times 10^{10}$ bactérias viáveis por dose) (BRASIL, 2004b).

Apesar de somente três partidas do laboratório D, cujo prazo de validade é de 24 meses, terem sido analisados neste experimento, duas partidas apresentaram contagens de bactérias viáveis superior ao exigido pela legislação ao vencimento. Isto demonstra que é possível produzir vacinas com boa viabilidade considerando o prazo máximo de validade de 24 meses previstos na legislação.

No presente estudo, onde as amostras foram mantidas sob temperatura controlada até o momento da análise, a temperatura e o tempo podem não ter sido os principais fatores responsáveis pela diferença entre as contagens de bactérias ao vencimento nas vacinas de 12, 18 e 24 meses. Outros fatores que interferem na viabilidade das vacinas durante estocagem devem ser considerados, como o veículo de liofilização (ANGUS et al., 1977; GARCÍA-CARRILLO, 1982), a umidade residual pós-liofilização (VALETTE et al., 1977; FAWTHROP, 1996) e a qualidade de frascos e rolhas (GARCÍA-CARRILLO, 1982; PIKAL & SHAH, 1991).

ARAÚJO (1976) analisou as quatro vacinas B19 que eram comercializadas no Brasil no ano de 1973. Foram realizados testes de contagem de bactérias viáveis e teste de potência em camundongos. A dose recomendada pela legislação era de $6,0 \times 10^{10}$ bactérias viáveis (BRASIL, 1958). Nenhuma das vacinas apresentou a contagem mínima recomendada pela legislação então vigente mesmo quando recém-fabricadas e fornecidas pela indústria.

Os resultados das análises de Araújo (1976) comparados com os resultados deste trabalho demonstram que houve uma evolução na qualidade das vacinas B19 comercializadas no Brasil e isso se deve às melhorias no processo de fabricação e controle de qualidade da indústria e do controle oficial realizado pelo MAPA.

CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho permitem concluir que entre as vacinas B19 contra brucelose bovina comercializadas no Brasil com prazo de validade acima de 12 meses, observa-se elevado percentual de vacinas com concentração abaixo de $4,0 \times 10^{10}$ bactérias viáveis por dose ao vencimento.

REFERÊNCIAS

ALTON, G.G., JONES, L.M., ANGUS, R.D., VERGER, J.M. **Techniques for the brucellosis laboratory**. Paris: INRA. 1988, 189 p.

ANGUS, R.D.; LOVE, E.L.; PIETZ, D.E. Evaluation of five mediums for the stabilization of *Brucella abortus* strain B19 dessicated by liophilization. **Developments in Biologicals**, Basel, v. 36, p. 307-312, 1977.

ARAÚJO, R.F. **Avaliação de qualidades das vacinas B19, fabricadas no Brasil**. 1976. 47 p., Dissertação (mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 1976

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria Nº 438, de 22 de abril de 1958. **Instruções para o combate à brucelose animal**. Diário Oficial da União, Brasília, 25 abril de 1958, p. 9411-9413.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 06, de 08 de janeiro de 2004. **Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal**. Diário Oficial da União Nº 07, Brasília, 12 janeiro de 2004, Seção 1, p. 6-10. 2004 a.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 15, de 19 de fevereiro de 2004. **Regulamento Técnico para Produção e Controle de Qualidade da Vacina contra Brucelose e Antígenos para Diagnóstico da Brucelose e Tuberculose Animal**. Diário Oficial da União Nº 37, Brasília, 25 fevereiro de 2004, Seção 1, p. 2-3. 2004 b.

CORBEL, M.J. **Brucellosis in man and animals**. Geneva: WHO, 2006, 89p.

FAWTHROP, D. Regulatory requirements for veterinary vaccine stability in the European Community. In: BROWN F. (Ed). New approaches to stabilisation of vaccines potency. **Developments in Biologicals**, Basel, v. 87, p. 319-327, 1996.

GARCÍA-CARRILLO, C. Influencia de la temperatura y el grado de vacío sobre la conservación de la vacuna *Brucella abortus* cepa 19 liofilizada. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, Berlin, v. 29, p. 57-66, 1982.

LAGE, A. P.; POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P. Controle da brucelose bovina. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, n. 47, p. 30-41, 2005.

MANUAL de Procedimentos e Técnicas de Controle de Qualidade de Vacinas Contra a Brucelose e Antígenos Para Diagnóstico da Brucelose. [s.l]: [s.n], [200?], (circulação interna).

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES, 2004. Bovine Brucellosis. In: **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**, 5.ed. v.1, Paris: World Organization for Animal Health, 2004, p. 409-438.

OLSEN, S. C.; STOFFREGEN, W. S. Essential role of vaccines in brucellosis control and eradication programs for livestock. **Expert Review of Vaccines**, v. 4, n. 6, p. 915-928, 2005.

PIKAL, M. J.; SHAH, S. Moisture transfer from stopper to product and resulting stability implications. **Developments in Biologicals**, Basel, v. 74, p. 165-179, 1991.

VALETTE, L.; STELLMANN, P.; PRECAUSIA, P.; DESMETTRE, P. H.; PEMP, M. L. Freeze-drying of *Brucella* vaccine strain B19. **Developments in Biologicals**, Basel, v. 36, p. 313-322, 1977.

VERWEY, W. F., HARRINGTON, N. H., MATT, C. Factors influencing the properties of desiccated *Brucella abortus* vaccine. U.S. 54, 1950, **Proc. U.S. Livest. San. Assoc.**, 1950. p. 65-71.

**PCR MULTIPLEX PARA DETERMINAÇÃO DE MARCADORES DE VIRULÊNCIA
EM *Escherichia coli* ISOLADAS DE BOVINOS COM DIARRÉIA EM MINAS
GERAIS**

Giovanna Ivo Andrade¹, Ethiene Luiza de Souza Santos², Fernanda Morcatti Coura², Alice Alexandrina Souza Cunha², Abel Fidelis Barbosa², Mariana Moraes Falcão², Juliana Pinto da Silva Mol³, Marina Guimarães Ferreira⁴, Moises Dias Freitas⁴, Elias Facury Filho⁵, Antônio Último de Carvalho⁵, Paulo Marcos Ferreira⁵, Marcos Bryan Heinemann⁵, Andrey Pereira Lage⁶

1. Bióloga, MSc, Doutora, Bolsista PróDoc CAPES / UFMG, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG
2. Bolsista de Iniciação Científica, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG
3. Bióloga, MSc, Doutoranda, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG
4. Médico Veterinário, MSc, Doutorando, Escola de Veterinária, UFMG
5. Médico Veterinário, MSc, Doutor, Professor, Escola de Veterinária, UFMG
6. Médico Veterinário, MSc, DSc, Professor, Laboratório de Bacteriologia Aplicada, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária da UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627, Caixa Postal 567, Campus da UFMG, CEP 30123-970, Belo Horizonte, MG, Brasil.
E-mail: alage@vet.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: EPEC, epidemiologia, ETEC, fatores de virulência, STEC

ABSTRACT

**PCR MULTIPLEX FOR THE DETERMINATION OF VIRULENCE FACTORS IN
ESCHERICHIA COLI ISOLATES FROM CALVES WITH DIARRHEA**

Diarrhea is one of the most common diseases in calves and leads to substantial economic loss due to treatment costs, increased mortality and morbidity rates, and growth constraints. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), attaching and effacing *E. coli* (AEEC) and Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) have been identified as causes of diarrhea and dysentery in calves. This study investigates virulence factors of *E. coli* strains isolated from calves by multiplex PCR. The animals were up to 60 days old and were raised in Minas Gerais State, Brazil. Samples were obtained from semi-intensive dairy farms in the center-west and Alto Paranaíba regions of Minas Gerais. Feces were collected and processed routinely. The DNA

templates of *E. coli* strains were subjected to multiplex PCR for the detection of the genes encoding the virulence factors Stx1, Stx2, Int, F41, K99, and STa. Out of 156 isolates, 51 (32,7%) were positive, whereas 105 (67,3%) did not present any of the virulence factors investigated. Results show that *E. coli* is an important cause of diarrhea in calves in Minas Gerais and that multiplex PCR test is a useful tool for the identification and characterization of pathogenic *E. coli* strains.

KEYWORDS: EPEC, epidemiology, ETEC, STEC, virulence factors.

INTRODUÇÃO

A diarréia neonatal é a síndrome mais importantes na criação de bezerras, pois causa altas perdas econômicas decorrentes dos custos com tratamento de animais, aumento dos índices de mortalidade e morbidade e redução nas taxas de crescimento (OK et al., 2009). A síndrome diarréica tem etiologia e patogênese complexa, com vários agentes infecciosos envolvidos, sendo a *Escherichia coli* um dos agentes mais importantes tanto em casos de diarréia como em infecções extra-intestinais (BEUTIN et al., 2004). Amostras de *E. coli* isoladas de ruminantes domésticos, principalmente bovinos, foram relatadas como causa de gastroenterite em humanos, que poderia progredir para Colite Hemorrágica e Síndrome Urêmica Hemolítica (GÜLER et al., 2008).

E. coli patogênicas identificadas como causadoras de diarréia em bezerros são classificadas, segundo os sinais clínicos e suas características de virulência em: enterotoxigênicas (ETEC), “attaching and effacing” (AEEC), enteropatogênicas (EPEC) e produtoras de toxinas do tipo Shiga (STEC), sendo que se as amostras STEC apresentarem atividade “attaching and effacing” são ditas enterohemorrágicas (EHEC). Fímbrias K99 e/ou F41 e a enterotoxina Sta são os fatores de virulência de ETEC comumente isoladas de bezerros, que participam da aderência ao íleo e causam hipersecreção no lúmen do intestino, respectivamente. A proteína intimina participa da atividade de adesão ao enterócito e destruição das microvilosidades intestinais em AEEC. Amostras do tipo EPEC possuem atividade AE (“attaching and effacing”) e não produzem enterotoxinas ou toxinas do tipo Shiga. STEC produzem toxina Shiga imunologicamente similar (Stx1) e imunologicamente distinta à toxina de *Shigella dysenteriae* (Stx2). *E. coli* enterohemorrágica, como o sorotipo O157:H7, possui atividade AE e produz toxinas Shiga do tipo 1, 2 ou ambas (FRANCK et al., 1998).

O diagnóstico da infecção por *E. coli* baseia-se na diferenciação fenotípica entre amostras patogênicas e não patogênicas. Testes de aglutinação e ELISA são usados para a detecção de fimbrias e ensaios biológicos complexos são comumente usados para a detecção de enterotoxinas. Esses testes são, no entanto, laboriosos e complexos para uso em rotina. Métodos moleculares mais práticos, rápidos, específicos e sensíveis como a PCR vêm sendo empregados para a detecção de uma variedade de genes de virulência. PRC *multiplex* para a identificação e diferenciação de ETEC, EPEC e STEC via amplificação simultânea de genes associados à virulência comumente encontrados em amostras de *E.coli* causadoras de diarreia foram desenvolvidos para diagnóstico de diarreia em bezerros (FRANCK et al., 1998). No presente trabalho foi empregada utilizada a PCR *multiplex* (FRANCK et al., 1998) para a tipagem de *Escherichia coli* patogênicas causadoras de diarreia em bezerros do Estado de Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparo das amostras

As coletas foram feitas em 20 propriedades leiteiras semi-intensivas nas regiões Centro-Oeste e do Alto Paranaíba em Minas Gerais, divididas em 10 propriedades por região. Foram selecionadas bezerras em idade de aleitamento, alojadas em sistemas de criação individuais (casinhas, sistema argentino, piquetes individuais ou amarrados) e coletivos. Amostras fecais de 133 bezerros de até 60 dias de idade foram coletadas e submetidas à coprocultura. O escore de fezes foi classificado em normais, pastosas, aquosas e presença de sangue nas fezes.

Cerca de 1g de fezes foi diluído em PBS (NaCl 0,015M, PO₄ 0,01M, pH 7,2) e adicionado em meio não seletivo de pré-enriquecimento (água peptonada), com tempo de incubação de 24 h à 37°C. A identificação das enterobactérias foi realizada por provas bioquímicas de rotina (FONTES, 1979). Amostras identificadas como *E. coli* nos testes bioquímicos foram semeadas em placas contendo BHI sangue por 14 – 16h a 37°C. Após, foram preparadas suspensões aquosas de cada amostra em microtubos de 1,5 mL, de modo a obter $9,0 \times 10^8$ células/mL. Em seguida, foi feita extração térmica do DNA por 10 minutos a 100°C e breve centrifugação (2 min.) a 10.500 x g. O sobrenadante foi usado para a tipagem molecular do fatores de virulência das amostras de *E. coli* pela PCR *multiplex* (FRANCK et al., 1998).

PCR *Multiplex*

O método foi baseado em FRANCK et al. (1998), com modificações. A reação de PCR foi realizada a partir de 5 µL de cada DNA extraído e 15µL da solução mix, contendo 0,2µM de cada iniciador (Stx1 F/R, Int F/R, F41 F/R, K99 F/R, Sta F/R, Stx2 F/R) (IDT - Integrated DNA Technologies, ,USA), 0,2 mM de dNTP mix dATP, dCTP, dGTP, dTTP (Invitrogen, USA), 1,5 U de Taq DNA polimerase, tampão Taq 1X, 1,5 mM de MgCl₂ (Phoneutria Biotecnologia, Brasil) e água estéril ultra-pura para um volume final de 20µL. A reação de amplificação consistiu de 1 passo de 3 min a 94°C seguido por 30 ciclos de 45 s a 94°C, 51,5°C e 70°C e 1 passo final de extensão de 10 min a 72°C. Foram utilizadas duas amostras de referência como controles positivos (*Escherichia coli* B41 – F41⁺, K99⁺, Sta⁺ e *Escherichia coli* CDC EDL 933, O157:H7 – ATCC 43895TM). Controles negativos incluíram a adição da amostra de *E. coli* DH5-α e água estéril ultra-pura ao mix da reação. Os *amplicons* foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídeo (10mg/mL) em tampão TBE (Tris base 0,89M, Ácido Bórico 0,45M, EDTA 1mM, pH 8,4) e visualizados sob luz UV. Como marcador de tamanho molecular foi usado o 100 bp e as amostras de referência amplificadas no mesmo tubo de reação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 133 amostras de fezes submetidas ao isolamento e identificação de enterobactérias, 120 foram positivas para *Escherichia coli* (90,22%). Dessas 120 amostras, foram selecionados 156 isolados (48,9%) de *E. coli* pelos testes bioquímicos. Os resultados da PCR *multiplex* mostraram que destes 156 isolados, 105 (67,3%) foram negativos para fatores de virulência e 51 (32,7%) apresentaram resultado positivo para vários genes marcadores de virulência.

A diarreia por *E. coli* tem sido apontada como a enfermidade mais importante de bovinos jovens, com variação nos índices de morbidade e mortalidade dependentes do sistema de criação, agente envolvido e capacidade de resposta do organismo. O manejo é o fator que mais influencia as taxas de mortalidade dos bezerros jovens. Fatores como má higiene, colostragem mal feita, parto não monitorado e tempo prolongado de permanência com a mãe podem ser decisivos no aparecimento de diversas doenças em bezerros, dentre elas as diarreias (RADOSTITS et al., 2007). A maioria das propriedades (95%) incluídas neste estudo não utilizava vacinação contra agentes específicos de enterites e apresentava condições

inadequadas de manejo, resultando em índices elevados de detecção de fatores de virulência presentes em *E. coli* enteropatogênicas

Diarréia em bezerros é comumente causada por ETEC (HOLLAND, 1990). Neste estudo, *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC) foram detectadas em 24 (~ 47%) de 51 amostras positivas na PCR *multiplex*, congruente com dados da literatura (GÜLER et al., 2008). De 51 isolados, 22 (~ 43%) representaram o total de STEC detectadas, com 15 (29,4%) positivos para Stx1 e 6 (11,8%) positivos para ambos, Stx1 e Int. Resultado semelhante foi encontrado por SALVADORI et al. (2003), pontuando a importância do gado como reservatório de STEC no Brasil, o que representa um risco potencial à saúde humana (SALVADORI et al., 2003; AIDAR-UGRINOVICH et al., 2007). Foram encontradas cinco amostras (9,8%) positivas para o gene marcador de virulência (*eae*) para a proteína de adesão íntima, íntima. GÜLER et al. (2008) também detectaram poucas amostras positivas para o gene *eae* em bezerros na Turquia. Segundo HOLLAND (1990), a prevalência de infecções verdadeiras por EPEC parece ser baixa em bovinos.

A PCR em formato *multiplex* usada neste estudo permitiu a detecção simultânea de genes de virulência de *E. coli*, provando ser um método de diagnóstico rápido e eficiente. O uso deste método para o diagnóstico e tipagem de enteropatógenos em amostras fecais de bovinos tem aumentado nos últimos anos e serve para a detecção de uma variedade de fatores de virulência de *E. coli* em vários tipos de amostras e diferentes hospedeiros.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostram que *E. coli* é um importante patógeno causador de diarréia em bezerros em Minas Gerais e que a PCR *multiplex* empregada nesse estudo é uma ferramenta útil para identificação e caracterização de isolados de *E. coli* de bovinos com diarréia.

AGRADECIMENTOS

A Fapemig, CNPq e FEP-MVZ Coordenação Preventiva pelo auxílio financeiro. GIA é bolsista da Capes, ELSS, FMC, AASC, e AFB da Fapemig e MGF, MDF e APL do CNPq.

REFERÊNCIAS

AIDAR-UGRINOVICH, L.; BLANCO, J.; BLANCO, M. et al. Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) isolated from calves in São Paulo, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 115, p. 297-306, 2007.

BEUTIN, L.; KRAUSE, G.; ZIMMERMANN, S. et al. Characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 42, p. 1099-1108, 2004.

FONTES, C. F. **Proposição de dois novos meios de cultura e de um sistema simplificado para identificação de Enterobactérias**. 78p. 1979. Tese (Mestrado em Microbiologia e Imunologia) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo.

FRANCK, S. M.; BOSWORTH, B. T.; MOON, H. W. Multiplex PCR for Enterotoxigenic, Attaching and Effacing, and Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains from Calves. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, p. 1795-1797, 1998.

GÜLER, L.; GÜNDÜZ, K.; OK, Ü. Virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from calves in Turkey. **Zoonoses Public Health**, Berlin, v. 55, p. 249-257, 2008.

HOLLAND, R. E. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 3, p. 345-375, 1990.

OK, M.; GÜLER, L.; TURGUT, K. et al. The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. **Zoonoses Public Health**, Berlin, v. 56, p. 94-101, 2009.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Philadelphia: Elsevier, 2007, 2156p.

SALVADORI, M. R.; VALADARES, G. F.; LEITE, D. S. et al. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 230-235, 2003.

BIOVARIEDADES DE *Brucella abortus* ISOLADAS DE BOVINOS NO BRASIL

Sílvia Minharro^{1,2}, Juliana Pinto da Silva Mol³, Rebeca Barbosa Pauletti⁴, Elaine Seles Dorneles⁴, Fernando Padilla Poester¹, Maurício Gautério Dasso⁵, Eliana Scarcelli⁶, Paulo Martins Soares Filho⁷, Marcos Bryan Heinemman⁸, Renato de Lima Santos⁸, Andrey Pereira Lage⁹

1 – Médico Veterinário, MSc, Doutor, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;

2 – Professora, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Tocantins – UFT;

3 – Bióloga, MSc, Doutoranda, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;

4 – Médica Veterinária, Mestranda, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;

5 – Médico Veterinário, MSc, Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária,

Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor

6 – Biomédica, MSc, Doutora, Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal,

Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução

7 – Médico Veterinário, MSc, Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG,

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

8 – Médico Veterinário, MSc, Dr., Prof., Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;

9 – Médico Veterinário, MSc, DSc, Professor, Laboratório de Bacteriologia Aplicada, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio Carlos, 6627, Caixa Postal 567, 30123-970 – Belo Horizonte – MG. Fax: (31) 3409 2080.

E-mail: alage@vet.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: biotipificação, epidemiologia

ABSTRACT

BIOTYPES OF *BRUCELLA ABORTUS* ISOLATED FROM CATTLE IN BRAZIL

Brucellosis is a worldwide zoonotic disease that causes significant economic losses due to abortions and culling of infected animals. In Brazil, only a few studies discuss identification of *Brucella* spp. species and biotypes, which is necessary for the development of brucellosis control and eradication programs. Therefore, this study assesses *B. abortus* strains isolated from 137 animals in Minas Gerais, Pará, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, and Tocantins from 1977 to 2008. *B. abortus* biovars 1, 2 and 3 were observed and biovars 4 and 6 were identified. All *B. abortus* biovar 3 strains were classified as sub-group 3b by AMOS-ERY PCR. A further enhanced procedure revealed three biovar 3 positive samples in Pará, which may be considered an epidemiological marker for isolates from that region.

KEYWORDS: biotyping, epidemiology.

INTRODUÇÃO

No Brasil existem poucos estudos realizados com relação à identificação das biovariedades de *Brucella* spp., porém já foram identificadas *B. abortus* biovariedade 1, 2 e 3 (GARCIA-CARRILO, 1972). O objetivo deste trabalho foi biotipar as amostras de *B. abortus* isoladas de bovinos de vários estados do Brasil e observar possíveis padrões de agrupamentos e distribuição das biovariedades de *B. abortus* no país visando apoiar o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 137 amostras de *B. abortus*, isoladas de bovinos entre 1977 a 2008 no Brasil. Dessas amostras, 38 amostras foram isoladas de bovinos oriundos do Estado de Minas Gerais, 31 de animais do Pará, 31 isolados de animais do Rio Grande do Sul, 15 de animais de São Paulo, 8 de animais de Santa Catarina e 14 de animais do Tocantins.

As amostras foram submetidas aos testes bioquímicos de catalase, oxidase, urease, citrato e redução de nitrato (ALTON et al., 1988). A confirmação das espécies e das biovariedades de *Brucella* spp. foram determinadas pelas provas de crescimento em atmosfera de CO₂ e O₂, teste de aglutinação com acriflavina, produção de H₂S, crescimento na presença de tionina (20 µg/mL e 40 µg/mL) e fucsina básica (20µg/mL) e aglutinação frente a soros anti-A, anti-M e anti-R (Cepanzo - Argentina) (ALTON et al., 1988). Além das provas bioquímicas, os DNA de todas as amostras foram testados por PCR para a amplificação do gene *bcs31* (BAILY et al., 1992) e pela PCR AMOS *enhanced* (BRICKER, 2002). Em decorrência das amostras identificadas como *B. abortus* biovariedade 3 serem negativas na PCR AMOS *enhanced*, estas foram analisadas também pela PCR AMOS ERY (OCAMPO-SOSA et al., 2005) para a classificação nos subgrupos 3a e 3b. A *B. abortus* biovariedade 4 foi confirmada por PCR-RFLP para o gene *omp* 2b com restrição por *TaqI* (CLOECKAERT, et al., 1995).

RESULTADOS

Todas as 137 amostras isoladas foram confirmadas como *Brucella* spp. pelo PCR para o gene *bcs31*, e aos testes bioquímicos e pelas PCR AMOS *enhanced* e AMOS ERY foram identificadas como *B. abortus*.

As biovariedades de *B. abortus* encontradas neste estudo pelas provas bioquímicas foram 1, 2, 3, 4 e 6. A biovariedade de *B. abortus* mais frequente foi a biovariedade 1 (52,5%) seguida pela biovariedade 3 (20,4%), biovariedade 6 (14,6%), biovariedade 2 (11,7%) e, a menos frequente, a biovariedade 4 (0,7%). Todas as amostras classificadas no teste bioquímico como *B. abortus* biovariedade 3 foram confirmadas como sendo do subgrupo 3b.

Pela PCR AMOS *enhanced* noventa e duas (67,1%) das 137 amostras foram identificadas como *B. abortus* biovariedade 1, *B. abortus* biovariedade 2 ou *B. abortus* biovariedade 4. Estas biovariedades foram encontradas em todos os Estados estudados, sendo mais frequentes nos Estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo totalizando 61,3%. As amostras negativas à PCR AMOS *enhanced* foram isoladas com maior frequência nos Estados do Pará e Tocantins (22,62%) e só não foram identificadas no Estado de Santa Catarina.

Uma amostra de *B. abortus* isolada do Rio Grande Sul foi biotipada como biovariedade 4 e apresentou padrão de restrição idêntico ao da amostra de referência *B. abortus* biovariedade 4 292.

Na comparação entre os resultados dos testes bioquímicos e da PCR AMOS *enhanced* houve concordância em 97,8% (134/137) das amostras. Três amostras classificadas bioquimicamente como *B. abortus* biovariedade 3, no entanto, foram positivas à PCR AMOS *enhanced*.

DISCUSSÃO

Das biovariedades de *B. abortus* encontradas neste trabalho a *B. abortus* biovariedade 1 foi a mais frequente entre as amostras isoladas de bovinos no país, concordando com os achados anteriores descritos no Brasil (POESTER et al., 2002) e da maioria das regiões no mundo (CORBEL et al., 2006).

Interessantemente, as amostras de *B. abortus* biovariedade 2 isoladas no presente estudo, não necessitaram da adição de soro ao meio de cultivo para seu isolamento como regularmente descrito (ALTON et al., 1988).

Das duas biovariedades até então não relatados no Brasil que foram observadas no presente estudo, a *B. abortus* biovariedade 4 só foi isolada de um bovino oriundo do Rio Grande do Sul, e sua origem provavelmente tenha sido dos países fronteiriços a este Estado, como a Argentina onde esta biovariedade de *B. abortus* já foi encontrada (LUCERO et al., 2008). *B. abortus* biovariedade 6, que foi encontrada em todos os estados estudados com exceção de Santa Catarina, teve maior frequência no Estado do Pará, e não havia sido descrita

até o presente momento na América do Sul. A origem da infecção por esta biovariedade no Brasil não é muito clara, mas *B. abortus* biovariedade 6 é uma das biovariedades mais frequentes descritas na Índia, país de origem das raças zebuínas cuja população predomina no Estado do Pará e na maior parte das áreas de produção de bovinos de corte do Brasil.

Todos os isolados de *B. abortus* biovariedade 3 identificados no presente estudo foram classificados com sendo do subgrupo 3b o que demonstra que estas amostras estão mais relacionadas com as amostras de *B. abortus* biovariedade 3 de origem européia do que com as amostras de origem africana (OCAMPO-SOSA et al., 2005).

Curiosamente, três amostras de *B. abortus* biovariedade 3, isoladas do município de Conceição do Araguaia no Estado do Pará em intervalo diferenciados, reagiram positivamente na PCR AMOS *enhanced*, técnica descrita com possibilidade de somente detectar *B. abortus* das biovariedades 1, 2 e 4. Estas amostras são atípicas e não se enquadram nas tabelas e chaves de identificação, pois em função do pequeno número de diferenças entre as espécies e as biovariedades de *Brucella* spp., a menor mutação pode resultar em dados conflitantes, dificultando a interpretação da caracterização dos isolados (BRICKER, 2002), podendo tratar-se essa característica de um marcador de amostras da região.

A biotipificação de amostras de *B. abortus* realizado neste estudo pode contribuir para a compreensão da epidemiologia e controle da brucelose bovina no país.

AGRADECIMENTOS

À Capes, CNPq, FAPEMIG e a FEP-MVZ pelas bolsas e suporte financeiro à realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

- ALTON, G. G., JONES, L. M., ANGUS, R. D., VERGER, J. M. **Techniques for the brucellosis laboratory**. INRA, Paris. 1988, 189p.
- BAILY, G. G., KRAHN, J. B., DRASAR, B. S., STOCKER, N. G. Detection of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 95, p. 271-275, 1992.
- BRICKER, B. Diagnostic strategies used for the identification of *Brucella*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 90, p. 433-434, 2002.

CLOECKAERT, A., VERGER, J. M., GRAYON, M., GREPINET, O. Restriction site polymorphism of the genes encoding the major 25 kDa and 36 kDa outer-membrane proteins of *Brucella*. **Microbiology**, Reading, v. 141, p. 2111-2121, 1995.

CORBEL, M. J., ELBERG, S. S., COSIVI, O. **Brucellosis in humans and animals**. Geneva: WHO Press, 2006. 89p.

GARCIA-CARILLO, D.; SZYFRES, B.; GONZALES-TOME, J. Tipificação de brucelas isoladas del hombre y los animales en América Latina. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, Mexico, v. 14, p. 117- 125, 1972.

LUCERO, N. E., AYALA, S. M., ESCOBAR, G. I., JACOB, N. R. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. **Epidemiology and Infection**, v. 136, p. 496-503, 2008.

OCAMPO-SOSA, A. A.; BALBÍN, J.A.; GARCIA-LOBO, J. M. Development of a new PCR assay to identify *Brucella abortus* biovars 5, 6 and 9 the new subgroup 3b of biovar 3. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 110, p. 41-51, 2005.

POESTER, F. P.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 90, p.55-62, 2002.

SURTO DE FEBRE CATARRAL MALIGNA EM BOVINOS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE

Isadora Karolina Freitas de Sousa¹, Isabella de Oliveira Barros¹, Adaucides Câmara¹, Antonio Humberto Hamad Minervino², Jael Soares Batista¹, Raimundo Alves Barrêto Júnior^{1*}, Enrico Lippi Ortolani²

¹ Departamento de Ciência Animal. Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). CEP: 59625-900. Mossoró- RN, Brasil. E-mail: barreto@ufersa.edu.br (autor correspondente)

² Departamento de Clínica Médica. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ – USP.

PALAVRAS-CHAVE: Congestão cerebral, doença infecciosa, herpesvírus, *Rhadinovirus*.

ABSTRACT

MALIGNANT CATARRHAL FEVER IN CATTLE FROM RIO GRANDE DO NORTE, BRAZIL

This study describes the clinical, epidemiological, and histopathological aspects of three cases of acute malignant catarrhal fever in cattle from a rural property in the municipality of Mossoró, Rio Grande do Norte. The main symptoms observed in the affected animals were anorexia, fever, cornea opacity, mucopurulent nasal discharge, and incoordination. Hematological analysis revealed leukopenia with relative monocytosis. Prior to these three cases, six other animals had died with similar symptoms. Postmortem findings included ulcers in oral and nasal mucosa, lesions in the tongue and palate, edema of glottis, hyperemia of esophagus and trachea mucosa, hypertrophy and congestion of lymph nodes, cerebral and cerebellar congestion. Histopathological examination showed generalized vasculitis, necrosis of vessel wall, and perivascular infiltration of mononuclear cells in several organs. A definitive diagnosis of malignant catarrhal fever was provided by the clinical and histopathological changes observed.

KEYWORDS: Cerebral congestion, herpesvirus, infectious disease, *Rhadinovirus*.

INTRODUÇÃO

Em bovinos a febre catarral maligna (FCM) pode acontecer epidemiologicamente de duas formas, a forma africana, também conhecida como FCM gnu-associada (FCM-GA), causada pela cepa viral Alcelaphine herpesvirus 1 (AIHV-1) e a FCM ovino associada (FCM-OA), causada pela cepa herpesvírus ovino 2 (OvHV-2) e transmitida por ovinos. Sendo a FCM ovino associada à forma que ocorre no Brasil (GARMATZ et al., 2004).

Casos de FCM são relatados no Brasil em alguns estados, como Mato Grosso (MENDONÇA et al., 2008), São Paulo (LEMOS et al., 2005), Rio Grande do Sul (GARMATZ et al., 2004) e na região Nordeste no Estado da Paraíba (MACEDO et al., 2007). Os sinais clínicos comuns são febre, corrimento nasal e ocular seroso que costuma evoluir rapidamente para mucopurulento, opacidade bilateral de córnea, sialorréia, lesões erosivo-ulcerativas na cavidade oral e diarreia. Entre os distúrbios neurológicos, incoordenação, agressividade, tremores musculares, decúbito esternal evoluindo para lateral permanente, opistótono, movimentos de pedalagem e depressão. Hematúria, desprendimento da capa córnea dos cascos e chifres e cegueira também podem ser observados. (LEMOS et al., 2005; RADOSTITIS et al. 2007).

Os tecidos primariamente afetados são os órgãos linfóides, tecidos epiteliais, principalmente do sistema respiratório e do trato gastrointestinal, e os vasos. Rins, fígado, olho, articulações e sistema nervoso central também podem ser afetados (CALTON & McGAVIN, 1998). Os achados histológicos característicos da doença envolvem os vasos sanguíneos e o tecido linfóide e inclusive vasculite fibrinóide necrosante, linfoproliferação acompanhada de infiltração de linfócitos T em diversos tecidos do organismo, predominantemente em posição perivascular, e lesão erosiva e ulcerativas nas superfícies cutâneas e mucosas (BARKER et al., 1993).

Dados da literatura indicam que a FCM é uma doença de ocorrência esporádica, mas que apresenta um importante desafio para o diagnóstico, uma vez que pode ser confundida com doenças de maior impacto econômico e de saúde pública, como a raiva, meningoencefalite por herpesvírus bovino-5, febre aftosa, estomatite vesicular, diarreia viral bovina e língua azul (LEMOS et al., 2005).

MACEDO et al. (2007) relatam a importância da confirmação da FCM para o rebanho bovino do Nordeste e evidenciam a necessidade de alertar aos produtores para a adoção das medidas de controle adequadas, sendo a separação dos ovinos dos bovinos a única medida

profilática eficiente, que perante a estrutura produtiva atual da região semi-árida, é difícil de ser adotada.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram atendidos três bovinos no Hospital Veterinário (HOVET) da UFERSA, sendo o primeiro caso no mês de outubro de 2008, o segundo em dezembro de 2008 e terceiro em abril de 2009. Todos os animais pertenciam a uma mesma propriedade, localizada no município de Mossoró – RN. Os animais eram mestiços sem raça definida, criados em regime semi- extensivo, onde pastejavam áreas em conjunto com ovinos e eqüinos.

Após o exame clínico inicial os animais foram internados no HOVET – UFERSA sendo monitorados diariamente. Como exames complementares, foram realizados o exame do conteúdo ruminal e hemograma. Quando da morte de algum animal, era realizada a necropsia e coleta de amostras de cérebro, cerebelo, fígado, baço, rim, pulmão e esôfago, as quais eram fixadas em formol a 10% para posterior exame histopatológico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais criados na propriedade tinham origens em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Norte. O rebanho era vermifugado e vacinado contra aftosa, raiva e clostridioses. No exame clínico dos animais o proprietário relatou que outros nove animais morreram na propriedade com os mesmos sintomas. Os animais acometidos morriam dentro de no máximo sete dias, sendo animais de diferentes faixas etárias e ambos os sexo.

Primeiro caso

No primeiro caso atendido o bovino apresentava angustia respiratória, dispnéia abdominal, febre de 41,5° C, desidratação, presença de secreção mucopurulenta nasal bilateral, hiperemia da mucosa ocular, lacrimejamento, protusão da terceira pálpebra, opacidade de córnea, lesões na mucosa oral, diarreia em jatos com presença de sangue, apatia, sinais nervosos, como incoordenação, tremores e quedas. O animal foi atendido dois dias após o início dos sintomas. No hemograma observou-se leucopenia com monocitose relativa.

O animal morreu três dias após o início dos sintomas. Na necropsia as lesões macroscópicas observadas foram: úlceras na mucosa oral e nasal, lesões na língua e na região do palato, edema de glote, hiperemia da mucosa do esôfago e traquéia, hipertrofia e congestão de linfonodos, congestão cerebral e cerebelar, fígado e baço sem alterações macroscópicas.

Segundo caso

O animal inicialmente apresentava sinais menos severos que o animal do primeiro caso, com desidratação e apatia, opacidade de córnea, vasos episclerais ingurgitados e secreção nasal mucopurulenta bilateral. A temperatura retal não excedeu 38,7 °C e no hemograma foi observada leucopenia com monocitose relativa. Após o quarto dia do atendimento animal permaneceu em decúbito e veio a óbito, sete dias após o início dos sintomas. Na necropsia não foram observadas lesões macroscópicas de destaque.

Terceiro caso

O animal atendido na propriedade cinco dias após o início dos sintomas. Com o histórico de anorexia e apatia, incoordenação e quedas. Com a evolução do quadro, o animal apresentou secreção nasal mucopurulenta bilateral e opacidade de córnea, além de incoordenação. No momento do atendimento o animal morreu. Na necropsia foram observadas lesões semelhantes as do primeiro bovino atendido, dentre elas: lesões ulcerativas na mucosa oral, hiperemia do esôfago e da traquéia.

A taxa de letalidade foi de 100%, semelhante a outros estudos (CORTEZ et al., 2002; RECH et al., 2005; LEMOS et al., 2005; MACÊDO et al., 2007). Todos os casos da doença aconteceram de forma aguda, onde os animais morreram dentro de no máximo sete dias após o início dos sintomas. Os achados macroscópicos nos casos de FCM desse estudo foram semelhantes aos encontrados no trabalho de RECH et al. (2005) e do caso relatado por CORTEZ et al. (2002).

As alterações histopatológicas, com destaque para a vasculite generalizada, necrose da parede dos vasos e infiltração perivascular de células mononucleadas em diversos órgãos de todos os animais atendidos, confirmaram o diagnóstico clínico de FCM (RECH et al., 2005; MACEDO et al., 2007). Apesar de não ter sido realizada a identificação do agente etiológico, supões que a enfermidade tenha sido causada pelo herpesvirus ovino 2 (OvHV-2), relatado como o que acomete os rebanhos no Brasil (GARMATZ et al., 2004).

CONCLUSÃO

Relatou-se a ocorrência de surto de febre catarral maligna de forma aguda em bovinos no Estado do Rio grande do Norte – RN. O diagnóstico foi firmado pelos achados clínicos e histopatológicos que condizem com a literatura. Os dados obtidos com a anamnese, onde foi

relatado o contato entre os bovinos e os ovinos na propriedade estudada, foram de extrema importância para a suspeita clínica.

Os achados macroscópicos e histológicos são semelhantes aos encontrados em outros estudos e foram definitivos para o diagnóstico dessa doença, assim como para a diferenciação de outras enfermidades.

REFERÊNCIAS

BARKER, K .K., VAN DREUMEL, A. A., PALMER, N. The alimentary system. In: **Pathology of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic Press, v. 2, p. 163 -172, 1993.

CARLTON, W. W., MC GAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 1998.

CORTEZ, P. P. Três casos confirmados de febre catarral maligna em Portugal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 97, n. 541, p. 43-46, 2002.

GARMATZ, S.L. et al. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: transmissão experimental para bovinos e caracterização do agente etiológico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, p. 93-106, 2004.

LEMOS, R. A. A.et al. Febre catarral maligna em bovinos do Mato Grosso do Sul e de São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 932-934, 2005.

MACEDO, J. T. S. A. Febre catarral maligna em bovinos na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 7, p. 277-281, 2007.

MENDONÇA, F. S. et al. Febre catarral maligna em bovinos no Estado de Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p. 155-160, 2008.

RADOSTITIS, O. M. et al. **Clínica veterinária**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 737p.

RECH, R. R. et al. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 97-105, 2005.

ESTUDO RETROSPECTIVO DA OCORRÊNCIA DOS CASOS DE TUBERCULOSE BOVINA DIAGNOSTICADOS NA CLÍNICA DE BOVINOS DE GARANHUNS - PE, DE 2000 A 2009

Marisa de Alencar Izael¹, Saulo de Tarso Gusmão da Silva¹, Nivaldo de Azevedo Costa², José Cláudio de Almeida Souza³, Carla Lopes de Mendonça², José Augusto Bastos Afonso²

1. Médico Veterinário, Residente, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns-PE, UFRPE.
 2. Médico Veterinário, Doutor, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns-PE, UFRPE.
 3. Médico Veterinário, Doutor, professor da Unidade Acadêmica de Garanhuns-PE, UFRPE.
- E-mail: cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Doenças respiratórias, lesões pulmonares, ruminante.

ABSTRACT

A RETROSPECTIVE STUDY OF CASES OF BOVINE TUBERCULOSIS DIAGNOSED AT CLÍNICA DE BOVINOS, GARANHUNS, PERNAMBUCO

Tuberculosis is a chronic infective disease which causes great economic losses evidenced by a 10-20% decrease in milk production. This study investigates all positive cases of tuberculosis registered at *Clínica de Bovinos* from the year 2000 to 2009. A total of 36 cases were found. Epidemiological aspects, physical and laboratory examinations, and necropsy findings were considered. Results revealed that 67% of cows were raised in rural cities where dry weather is predominant and 81% were reared under a semi-intensive system. A total of 86% were female, 14% were male, and 39% were between four and five years of age. Only 5% reacted positively to the tuberculin test. All of the animals had caseating granulomatous lesions in many organs. The suppurative infection was initially thick and creamy, then gradually took on a crumbly cheese-like appearance. Histological evidence included lung lesions and inflammatory reaction due to the presence of giant Langerhans cells. Bovine tuberculosis causes many disadvantages to cattle raising activities. Therefore, it is necessary to develop more effective diagnostic tests and control measures to help reduce the negative impact on public health.

KEY WORDS: Lung lesions, respiratory diseases, ruminant.

INTRODUÇÃO

O aumento da tecnificação, intensificação da pecuária, a introdução de material genético proveniente de outros países e alterações no manejo sanitário e reprodutivo, facilitaram a disseminação de diversos microrganismos patogênicos de grande importância sanitária e econômica para a bovinocultura leiteira (POLETO, 2004). A tuberculose bovina é uma doença infecciosa crônica que vem afligindo a pecuária há mais de alguns séculos. Seu agente etiológico é o *Mycobacterium bovis*, sendo esta enfermidade de ocorrência mundial que determina prejuízos à pecuária e riscos à saúde da população que consome produtos de origem animal (LILENBAUM et al., 1998; CAMPOS, 1999; LILENBAUM, 2000).

As perdas econômicas determinadas por esta enfermidade se manifestam pela redução de 10-20% da produção leiteira, do ganho de peso, infertilidade, condenação de carcaças e mortes dos animais (ROXO, 1996; HERNANDEZ, 1998; LILENBAUM, 2000). Os bovinos, caprinos e suínos, são as espécies mais suscetíveis, ao passo que os ovinos e equinos mostram uma alta resistência natural. A doença acomete também a espécie humana (ABRAHÃO, 1999; CHADDOCK, 2006; RADOSTITIS et al., 2007; RIET-CORREA & GARCIA, 2007).

Os sinais da infecção por *M. bovis* em ruminantes são muito inespecíficos, a maioria dos animais infectados não demonstra anormalidades clínicas, causando risco de saúde para outros animais pecuários e seres humanos. Os pacientes podem apresentar perda de peso crônica, apetite variável, mastite e febre flutuante, que pode acentuar-se após o parto. Os sinais respiratórios incluem tosse crônica, dispnéia, taquipnéia e ruídos pulmonares adventícios. Nódulos mediastínicos e mesentéricos intumescidos podem causar timpanismo, falha de transporte ou obstruções. Alterações reprodutivas como infertilidade e aborto são pouco frequentes (GRIFFIN & DOLAN, 1995; HERNANDEZ, 1998; CHADDOCK, 2006; RIET-CORREA & GARCIA, 2007; SOBREIRA-FILHO et al., 2008).

O diagnóstico da tuberculose bovina no Brasil segue as normas preconizadas pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e tuberculose (PNCEBT). O Programa estabelece uma realização periódica da prova da tuberculina e abate dos animais que reagirem positivamente. A legislação brasileira não prevê o tratamento de animais reagentes (BRASIL, 2006).

Diante do exposto, objetivou-se fazer um estudo da ocorrência dos principais aspectos epidemiológicos, enfocando seu potencial zoonótico, impacto econômico e distribuição geográfica dos casos clínicos de tuberculose bovina, diagnosticados na Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns-PE/UFRPE, nos últimos 10 anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se um estudo retrospectivo dos casos clínicos, do arquivo da Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/UFRPE, onde foram selecionadas as fichas dos bovinos diagnosticados com tuberculose, referentes aos anos de 2000 a 2009, obtendo-se um total de 36 casos de animais acometidos. As fichas foram avaliadas quanto aos aspectos epidemiológicos (origem, sexo, idade, tipo de criação, histórico reprodutivo, queixa principal e destino do animal), exame clínico, seguindo a metodologia de DIRKSEN et al. (1993), a tuberculinização (BRASIL, 2006) e os achados anátomo-histopatológicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição dos casos positivos revelou que 67% eram provenientes de municípios do agreste meridional de Pernambucano, 22% do agreste central, 5% da mata setentrional e 6% foram oriundos do Estado de Alagoas. Dos 36 casos analisados, 86% eram fêmeas e 14% machos. Destes, 39% apresentavam idade entre quatro a cinco anos, 16% acima de cinco anos, 14% entre um a três anos e 3% inferior a um ano. De acordo com a característica de pecuária leiteira da região, onde as fêmeas têm uma vida produtiva maior, faz com que os animais mais velhos sejam acometidos em função da coabitação prolongada com indivíduos enfermos, marcando assim o caráter crônico da doença e a situação de estresse causado pelo impacto da vida produtiva (LILENBAUM, 2000; OLIVEIRA et al., 2008).

Em relação ao sistema de criação; 8% dos casos apresentaram-se oriundos de sistema extensivo, 11% intensivo e 81% semi- intensivo. Estes resultados mostram que o confinamento e aglomeração dos animais são elementos determinantes para a epidemiologia da doença (BEDARD, 1993; HINES et al., 1995; HERNANDEZ, 1998). Um fato que vem a contribuir para esses achados é a característica regional, onde as condições climáticas na maioria das vezes não permitem uma criação extensiva, além de que, os elevados custos do sistema intensivo, tornam-no praticamente inviável, sendo o sistema semi-intensivo a melhor alternativa econômica para região. Dos casos diagnosticados, 50% foram direcionados para sacrifício e 50% vieram a óbito. As informações mais comumente relatadas foram: emagrecimento (16/36), tosse (12/36), queda na produção leiteira (16/36), timpanismo (04/36) e tratamentos prolongados não responsivos. Os achados clínicos foram referentes praticamente a diminuição de produção e perda da condição corporal, além de desordens respiratórias como tosse e descargas nasais. Desta forma fica evidente as intensas perdas econômicas e os achados corroboram com os sinais comumente encontrados na doença

(BEDARD, 1993; HINES et al., 1995; HERNANDES, 1998; LILENBAUM, 2000; CHADDOCK, 2006; RADOSTITIS et al., 2007; RIET-CORREA & GARCIA, 2007).

Do total de 36 animais, apenas 17 foram testados a prova da tuberculina, onde revelou que 88% (15) reagiram negativamente ao teste, e apenas 12% (2) foram positivos, revelando assim que grande parte dos animais atendidos estava em processo avançado ou estágio terminal da doença, onde há um excesso de antígeno circulante que induz uma imunossupressão específica, causando assim uma exposição excessiva do estímulo antigênico por um longo tempo, tratando-se do fenômeno de anergia (BRASIL, 2006; RADOSTITS et al., 2007). Esses animais falso-negativos interferem também no diagnóstico, em casos de infecção recente ou em fêmeas no período pré ou pós-parto (SALAZAR & GUIMARÃES, 2006). A não realização dos testes de tuberculinização em 19 (53%) bovinos estava associado aos fatos de que muitos animais vieram a óbito antes da conclusão do teste ou não mostraram sinais clínicos sugestivos de tuberculose que foram revelados como achados incidentais.

Nos achados anatomopatológicos, foram observados que todos os animais apresentavam lesões granulomatosas em diversos órgãos, com abscessos de conteúdo purulento e caseificado, além de lesões pulmonares características, como também, lesões nos rins, coração, fígado, linfonodos, tubérculos múltiplos sobre a superfície pleural e peritoneal e lesões disseminadas de caráter miliar. Desta forma caracterizam-se como lesões de tuberculose onde na maioria das vezes apresentam necrose de caseificação no centro da lesão ou ainda calcificação nos casos mais avançados (JONES et al., 2000; BRASIL, 2006).

Os achados histopatológicos mais frequentes foram; linfonodos e fígado com extensas áreas de necrose de caseificação e calcificação, reação inflamatória linfo-histiocitária e presença de células gigantes de Langhans, concordando com os achados de JONES et al. (2000) onde relatam a presença de lesões epitelióides circundadas por uma orla de fibroblastos com linfócitos entremeados, onde os macrófagos circunjacentes assumem um aspecto diferenciado, as células epitelióides contendo um abundante retículo endoplasmático, coalescendo e levando a presença de células gigantes multinucleadas, denominadas de células gigantes de Langhans, nas quais os núcleos estão dispostos em meia lua na periferia da célula.

CONCLUSÃO

A tuberculose bovina traz prejuízos à região, pois a evidência da sintomatologia clínica revela um quadro de cronicidade e de ampla disseminação da doença no rebanho,

fazendo-se necessário reforçar as medidas de controle e diagnóstico, com o intuito de reduzir as perdas econômicas e o impacto negativo na Saúde Pública.

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, R. M. C. M. Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 5-15, 1999.

BEDARD, B. G.; MARTIN, S. W.; CHINOMBO, D.; A prevalence study of bovine tuberculosis and brucellosis in Malawi. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 16, p. 193-205, 1993.

BRASIL. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento**, 2006.

CAMPOS, H. S. *Mycobacterium tuberculosis* resistente: de onde vem a resistência? **Boletim de Pneumologia Sanitária**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 51-64, 1999.

CHADDOCK, H. M. Tuberculose. In: SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. Barueri, SP. Manole, 2006, p.1727.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger – Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.

GRIFFIN, J. M.; DOLAN, L. A. The role of cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis* in the epidemiology of tuberculosis in cattle in the Republic of Ireland: A review. **Irish Veterinary Journal**, Dublin, v. 48, p. 228-234, 1995.

HERNANDEZ, J.; BACA, D. Effect of tuberculosis on milk production in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 213, n. 6, p. 851-854, 1998.

HINES, M. E.; KREEGER, J. M.; HERRON, A. J. Mycobacterial infections of animals: pathology and pathogenesis. Special topic overview. **Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 45, n. 4, 1995.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6.ed. Manole, 2000.

LILENBAUM, W. Atualização em tuberculose bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 4., p. 145-151, 2000.

LILENBAUM, W; SCHETTINI, J; RIBEIRO, E. R; SOUZA, G. N; MOREIRA, E. C; FONSECA, L. Tuberculose bovina: Prevalência e estudo epidemiológico em treze propriedades de diferentes sistemas de produção na região dos Lagos do estado do

Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3. p. 120-123, 1998.

OLIVEIRA, V. M.; FONSECA, A. H.; PEREIRA, M. J. S.; CARNEIRO, A. V.; JESUS, V. L. T.; ALVES, P. A. M. Análise retrospectiva dos fatores associados à distribuição da tuberculose bovina nos estado do Rio de Janeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 574-579, 2008.

POLETO, R. L; KREUTZ, C; GONZALES, J. C.; BARCELLOS, L. J. G; Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 595-598, 2004.

RADOSTITS, M. O.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Saunders Elsevier. 2007. 2156p

RIET-CORREA, F. GARCIA, M. Tuberculose. In_ RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e equinos**. 3.ed, Santa Maria: Pallotti, 2007. 722p

ROXO, E. Tuberculose bovina: Revisão. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 91-97, 1996.

SALAZAR, F. H. P.; GUIMARÃES, E. B. Tuberculose bovina. In: LEMOS, R. A. A. **Brucelose bovina, tuberculose bovina**. Série de qualificação rural; 4, Campo Grande, MS. Ed. UFMS, 112p, 2006.

SOBREIRA-FILHO, R. D. S.; RABELO, S. S. A.; JUNIOR, J. W. P.; SILVA, S.T. G.; NETO H. F. V.; MOTA, R. A. Prevalência e fatores associados a infecção pelo Mycobacterium bovis em bovinos leiteiros do município de Gravatá, PE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35, 2008. **Anais...** Gramado-RS, 2008.

OCORRÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI - *Brucella abortus* EM REBANHOS BOVINOS DA ILHA DE SÃO LUÍS - MA

Daniela Franco da Silva¹, Vivian Magalhães Brandão², Hamilton Pereira dos Santos³,
Isabel Cristina Lopes Dias¹, Maria Inez Santos Silva⁴

1 Graduandas do Curso Medicina Veterinária. E-mail: dani27vet@gmail.com (autor correspondente)

2 Mestranda em Ciências Veterinárias, UEMA

3 Professor Adjunto IV do Departamento de Patologia do Curso de Medicina Veterinária

4 Professor Adjunto III, do Departamento de Patologia do Curso de Medicina Veterinária e do Curso de Pós-graduação ao nível de Mestrado em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias – UEMA

PALAVRAS-CHAVE: Brucelose, faixa etária, reagentes, saúde pública, zoonose.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF ANTI-*BRUCELLA ABORTUS* AGGLUTININS IN CATTLE HERDS ON THE ISLAND OF SÃO LUÍS, MARANHÃO

We evaluated the occurrence of *Brucella abortus* in cattle herds of small farms on the island of São Luís, Maranhão. A total of 445 serum samples were collected and assessed by buffered acidified antigen (AAT) and 2-mercaptoethanol (2-ME) tests. Data was analysed based on parameters established by the National Program for Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis (PNCEBT), and the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA). Results revealed that most of the samples (429) were tested negative (96,40%). A total of 16 samples (3,60%) were reactive, of which 9 (2,00%) were detected in the municipality of São José de Ribamar, and 7 (1,60%) in Paço do Lumiar. This finding indicates significant correlation ($p<0,05$) between location and incidence of infection. As regards age, 8 (1,79%) animals aged 12 to 24 months were seropositive ($p<0,05$). No significant results ($p>0,05$) were evidenced for other variables, such as sex, breeding system, type of farm, acquisition of animals without a health certificate of brucellosis negative, and low frequency of testing and vaccination. We conclude that most producers are not aware of the health risk involved with brucellosis, both for animals and humans.

KEYWORDS: Age, brucellosis, public health, reagents, zoonosis.

INTRODUÇÃO

A exploração de animais não especializados, a nutrição deficiente e os incipientes procedimentos sanitários são fatores que, geralmente, contribuem para que a bovinocultura brasileira seja deficitária (GONZÁLES TOMÉ, 1993).

A brucelose ocorre endemicamente em todo o território nacional, sendo diagnosticada em qualquer rebanho (VASCONCELLOS, 1984). Portanto, além de prejuízos causados à economia pecuária, seja através da queda da produtividade leiteira (SANTOS, 2006), seja através da condenação de carcaças, compromete seriamente a produção do rebanho nacional, afetando sobremaneira a saúde pública.

O estado do Maranhão possui como principal atividade na pecuária bovina, a produção de carne, com um efetivo de 5.928.131 bovinos, e destes 462.459 destinam-se à produção leiteira (IBGE, 2004).

Os municípios da Ilha de São Luís possuem pequenas propriedades rurais, com criações de rebanhos bovinos de exploração leiteira e corte. Diante dos casos de abortos não diagnosticados nos municípios da Ilha e considerando, que a maioria dos pequenos produtores rurais desconhecem os riscos que a brucelose representa para a saúde pública e animal, o presente estudo objetivou detectar e diagnosticar a presença de aglutininas anti-*B. abortus* em rebanhos bovinos e orientar os pequenos produtores rurais envolvidos no projeto no sentido de esclarecer os riscos que a zoonose representa à saúde pública e animal.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Ilha de São Luís – MA, que é composta de quatro municípios: São Luís, São José de Ribamar, Paço do Lumiar e Raposa. Foram utilizadas 20 pequenas propriedades rurais, sendo cinco propriedades em cada município.

As amostras séricas de bovinos foram colhidas da veia jugular de cada animal, mediante venopunção. Após a colheita das amostras, foram realizados inquéritos junto aos produtores rurais, através de questionário epidemiológico, contendo 10 questões fechadas, visando-se conhecer o manejo e sanidade dos rebanhos a serem estudados, assim como o nível de conhecimento dos produtores rurais sobre a zoonose.

Utilizaram-se os seguintes testes sorológicos: teste do antígeno acidificado tamponado (AAT), e 2-mercaptoetanol (2-ME), os resultados foram interpretados de acordo com as normas

recomendadas pelo Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2006).

Os dados epidemiológicos foram armazenados e analisados utilizando-se o programa Epi Info 3.4.3. A análise estatística foi realizada tendo cada animal como uma unidade de análise, e os fatores associados com os resultados do teste sorológico foram identificados em tabelas de associação para valores independentes, considerando-se ($\alpha = 0,05$). Os testes estatísticos utilizados foram o qui-quadrado e/ou exato de Fisher.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 445 amostras colhidas na Ilha de São Luís-MA, submetidas à prova de triagem, obtiveram-se 16 (3,6%) reagentes e 429 (96,4%) não reagentes.

Analisaram-se 116 (26,00%), amostras de soro sanguíneo de bovinos no município de São José de Ribamar, onde se registrou a maior prevalência, verificando-se nove (2,00%) reagentes e 107 (24,00%) não reagentes, apresentando associação significativa com a infecção ($p < 0,05$).

É provável que esta prevalência, esteja relacionada ao grande número de animais em idade reprodutiva presente nas propriedades visitadas neste município, onde as fêmeas quando prenhes são mais suscetíveis à doença (BISHOP et al., 1994), já que o útero gravídico é um dos órgãos de predileção da bactéria por produzir, o hormônio eritritol, que atrai as *Brucellas* e funciona como fator estimulante para o seu crescimento (GRASSO, 1998).

No município de Paço do Lumiar, das 101 (22,70%) amostras colhidas, obtiveram-se sete (1,60%), reagentes apresentando associação significativa ($p < 0,05$) com a infecção. É provável que a infecção neste município esteja relacionada com a faixa etária (12 a 24 meses) e ao sistema de criação adotada em grande parte das propriedades.

As amostras de sangue colhidas e analisadas do município de São Luís 121 (27,20%) e do município da Raposa 100 (22,50%), não apresentaram resultados reagentes. A provável causa da ausência de não reagentes nos dois municípios pode estar relacionada com a permanência dos animais na propriedade e a não aquisição de animais possivelmente reagentes.

A prevalência de animais reagentes neste estudo apresentou-se inferior a verificada por Santos et al. (1988), que obteve 8,03%, ao avaliar aspectos de produção e sanidade de bovinos de leite na Ilha de São Luís – MA e por MONTEIRO et al. (2006), no Mato Grosso do Sul, com

6,20% de animais reagentes testados pelo AAT e confirmados pelo 2-ME. No entanto, apresenta-se superior a verificada por AZEVEDO (2006) no Espírito Santo (3,40%) de RIBEIRO et al. (2003) em Ilhéus – BA, com (1,90%) e de Silva (2003), ao analisar aspectos epidemiológicos da *Brucella abortus* em matrizes bovina leiteiras do município de Gravatá - PE. Recife.

Em relação aos dados sobre a prevalência no país em 1993, de acordo com COSTA (1998), que estimou 2,30%, com grandes diferenças entre as regiões.

O estudo apresentou maior frequência de animais reagentes com a faixa etária de 12-24 meses, provando que a idade reprodutiva é uma variável associada à infecção.

Dada à importância do sexo na cadeia epidemiológica da brucelose comprova-se que o macho tem pouca importância na disseminação da doença. Obteve-se 16 (3,60%) fêmeas reagentes e nenhum macho com a infecção. Porém numerosos estudos têm avaliado a presença do touro na difusão da brucelose, com demonstração clara de que nos bovinos a transmissão venérea tem pouca importância (CAMPERO, 1993).

AZEVEDO (2006) em estudo realizado no Espírito Santo, verificou associação significativa para sistema de confinamento e semi/confinamento, contrastando com o resultado deste estudo, no qual o sistema de criação foi uma variável sem associação significativa ($p>0,05$),

MARQUES (2003) revelou que o sistema semi-intensivo é mais praticado em propriedades de menor extensão, sendo adotado principalmente na criação de gado leiteiro. O tipo de exploração também não foi uma variável com associação significativa ($p>0,05$), colaborando com o estudo de MONTEIRO et al. (2006), que também não encontraram associação ao avaliar a presença da infecção em rebanhos de corte. Desse modo, verifica-se que a doença pode ser diagnosticada em qualquer rebanho, não levando em consideração a forma de criação e exploração econômica a que esteja submetida (VASCONCELLOS, 1984).

Em relação à aquisição de animais sem atestados negativos de brucelose e falta de periodicidade de exames sorológicos, 100% dos proprietários questionados não exigiam o atestado e (87,19%) nunca realizaram o exame. O resultado deste estudo contrasta com a Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED, 2008), que classificou àquelas variáveis como fatores de risco para a infecção.

No que diz respeito à vacinação, 100% dos proprietários rurais nunca vacinaram suas fêmeas contra a brucelose, provando pleno desconhecimento sobre a idade de vacinação e dos benefícios de um rebanho vacinado. NILSEN & DUNCAN (1990) e TOLEDO & GOUVÊA

(2005) em estudos sobre vacinação de bezerras, também obtiveram uma grande parcela de proprietários sem informações sobre a idade da vacinação e outras implicações legais dispostas na legislação.

Em Imbuía - SC, CABRAL (2000) aplicando inquérito epidemiológico detectou que 21,18 % das propriedades estudadas, exigem exames e atestados de sanidade animal e apenas 3,19% exigem o exame de brucelose, verificando que a despreocupação dos criadores com relação à brucelose não se identifica somente no Maranhão, mas também em outros estados brasileiros.

Durante a avaliação epidemiológica, não foi relatada a ocorrência de abortamentos nas propriedades estudadas, provavelmente em decorrência de grande parte dos entrevistados não dispor de informações suficientes para relatar a incidência desse sinal clínico.

CONCLUSÕES

A prevalência da brucelose na Ilha de São Luís apresenta-se baixa. As variáveis associadas com a infecção foram: município e faixa etária. Os pequenos produtores rurais desconhecem a importância da brucelose para a pecuária e para a saúde pública.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, S. S. **Caracterização epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Espírito Santo**. 2006. 104f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BISHOP, G. C.; BOSMAN, P. P.; HERR, S. Bovine Brucellosis. In: COETZER, J. A. N.; THOMSON, G. R.; TUSTIN, R. C. **Infectious diseases of livestock**. Austin: Texas A&M University Press, College Station, 1994. p.1053-1066.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Resumo do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose. Breve diagnóstico da situação atual**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 07 de outubro de 2006.
- CABRAL, J. C. **Diagnóstico e prevenção da brucelose bovina no Município de Imbuía (SC)**. São Paulo, 2000. (Monografia) - Universidade Castelo Branco.

COSTA, M. Brucelose bovina e eqüina. In: CORREA, F. R, SCHAILD, A.L. MENDEZ, M. D. C. **Doença de ruminantes e eqüinos**. Pelotas: Universitária / UFPEL. 1998. 651p.

GRASSO, L. M. P. S. **O combate à brucelose bovina**. 1998. 112f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo.

GONZÁLES TOMÉ, J. S. Curso de brucelose animal. Goiânia: **Organização Mundial de Saúde**. Projectos de lucha contra la brucelosis bovina y criterios y principios para el análisis de programas. 1993. 63p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA/IBGE-2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/default.php>>. Acesso em: 07 de outubro de 2006.

MARQUES, D. C. **Criação de bovinos**. Belo Horizonte: UFMG, 2003. p.586.

MONTEIRO, L. A. R. C.; et al., Investigação epidemiológica da brucelose bovina em um estrato do Estado de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, p. 4, 2006.

NIELSEN, K.; DUNCAN, J. R. **Animal brucellosis**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 453p.

RIBEIRO, A. R. P.; et al. Prevalência de tuberculose e brucelose bovina no município de Ilhéus/BA. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, p. 120-122, 2003.

SANTOS, M. V. **Descarte de vacas com mastite crônica**. Disponível em: <<http://milkipoint.com.br/mn/raderestecnicos/artigos.html>>. Acesso em : 07 de outubro de 2006.

SANTOS, H. P. **Alguns aspectos do sistema de produção e sanidade de bovinos de leite da Ilha de São Luiz – MA**. 1988. 91f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SILVA, M. I. S. **Aspectos epidemiológicos da *Brucella abortus* em matrizes bovina leiteiras do município de Gravatá - PE**. Recife, 2003. p.136. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Pernambuco, Recife.

TOLEDO, M. P.; GOUVÊA, A. H. M. Brucelose bovina: Vacinação de bezerras entre 3 e 8 meses de idade no município de Santa Cruz da Conceição. **Ciências Agrárias**. Anuário. 2005.

VASCONCELLOS, S. A. Importância da utilização de recursos profiláticos inespecíficos no controle da brucelose. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 196, 1984.

ESTUDO COMPARATIVO DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE BEZERROS COM *SALMONELLA* DUBLIN E *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

Daniela Gomes da Silva¹, Larissa Gabriela Ávila², Péricles Ricardo Lacerda e Silva³, Rafael Akira Sato³ e José Jurandir Fagliari⁴

1. Pós-doutoranda do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. 14.884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil.

E-mail: danielafcav@yahoo.com.br (autor correspondente)

2. Docente do Centro Universitário de Rio Preto – UNIRP – São José do Rio Preto, SP

3. Médico veterinário autônomo

4. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, diarreia, salmonelose.

ABSTRACT

A COMPARATIVE STUDY OF EXPERIMENTAL *SALMONELLA* DUBLIN AND *SALMONELLA* TYPHIMURIUM INFECTIONS IN NEWBORN CALVES

Salmonellosis is a disease that can affect domestic animals and humans, and its clinical signs can vary extensively. Although cattle may be infected with many different serotypes, bovine salmonellosis is caused mainly by two of them: *Salmonella* Dublin and *Salmonella* Typhimurium. Thus, to evaluate the effects of experimental infection of newborn calves, a total of twelve 10 to 15-day-old male Holstein calves were randomly allotted to one of the following groups: those infected with 10⁸ CFU of *Salmonella* Dublin (Group 1); and those infected with 10⁹ CFU of *Salmonella* Typhimurium (Group 2). All animals were submitted to physical examination just before inoculation and every 24 hours for six days after experimental infection. Rectal swabs and blood samples were collected to isolate *Salmonella*, count blood cells, and determine glucose, fibrinogen, pH, sodium, and chloride levels. Clinical evaluation of experimental *S. Typhimurium* infection in calves revealed mild enteritis, whereas experimental *S. Dublin* infection resulted in a severe systemic disease, characterized by acute enteritis, respiratory signs and higher mortality rates. Biochemical findings included increase in fibrinogen concentrations and white blood cell counts, and decrease in glucose, pH, sodium, and chloride values.

KEY WORDS: Cattle, diarrhea, salmonellosis.

INTRODUÇÃO

A salmonelose bovina é uma enfermidade que tem se destacado em função da sua ocorrência, importância econômica e implicações em saúde pública (SANTOS et al., 2002). *Salmonella* Dublin e *Salmonella* Typhimurium são os sorotipos mais comumente isolados em bovinos, sendo *S. Dublin* o sorotipo adaptado à espécie bovina (VELING et al., 2002).

Os sinais clínicos da salmonelose dependem, entre outros fatores, do sorotipo envolvido e da idade do animal (SARWARI et al., 2001). Os bezerros neonatos são particularmente suscetíveis à salmonelose devido à imaturidade de seu sistema imune (BARRINGTON et al., 2002).

Os sinais clínicos típicos de salmonelose em bezerros com até oito semanas de idade incluem diarreia, desidratação, febre, perda de apetite e apatia (SANTOS et al., 2002). Por serem bactérias intracelulares facultativas, as salmonelas também podem sobreviver e multiplicarem-se no interior de macrófagos, sendo subsequentemente transportadas aos linfonodos e a outros órgãos, causando pneumonia, meningite, poliartrite, osteíte e gangrena, dentre outras complicações (WRAY & DAVIES, 2000; LOEB et al., 2006).

O objetivo do presente estudo foi avaliar comparativamente os efeitos da infecção experimental de bezerros neonatos com 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin e 10^9 UFC de *Salmonella* Typhimurium.

MATERIAL E MÉTODOS

Após a realização de experimentos pilotos para verificar a patogenicidade das cepas de *S. Dublin* (registro IOC 3101/03) e *S. Typhimurium* (registro IOC 6333/06) e estabelecer a dose dos inóculos, 12 bezerros sadios da raça Holandesa, com 10 a 15 dias de idade, foram distribuídos em dois grupos de seis animais: grupo infectado experimentalmente com 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin (grupo 1) e grupo infectado experimentalmente com 10^9 UFC de *Salmonella* Typhimurium, ambos pela via oral. Durante o período experimental os bezerros foram alojados em abrigos individuais e receberam quatro litros de leite pasteurizado, duas vezes ao dia, além de ração, feno e água à vontade. O estudo teve aprovação da Comissão de Ética e Bem Estar Animal da FCAV-UNESP-Campus de Jaboticabal (Protocolos nº013597-06 e nº009986-07).

As colheitas de sangue e de suabes retais foram realizadas imediatamente antes da inoculação (0 hora) e a partir daí, a cada 24 horas até o final do experimento, ao sexto dia após a inoculação. Os bezerros também foram submetidos a exame físico diário (DIRKSEN et al., 1993).

O isolamento de *Salmonella* foi realizado a partir de amostras de suabes retais, enriquecidos em caldo selenito cistina (CM0699, Oxoid) e tetracionato Muller-Kauffmann (CM0343, Oxoid) e plaqueados em ágar verde brilhante modificado (CM0329, Oxoid) contendo 50 µg/ml de ácido nalidíxico.

As contagens de hemácias e de leucócitos e a determinação do teor de hemoglobina foram realizadas em hemocítmetro semi-automático (CELM CC-530), enquanto que a contagem de plaquetas foi realizada na câmara de Neubauer. O volume globular foi obtido pela técnica do microematócrito. O teor plasmático de fibrinogênio foi obtido pelo método de precipitação pelo calor e leitura em refratômetro. A concentração plasmática de glicose foi mensurada pelo método de GOD-Trinder (Labtest), em espectrofotômetro semi-automático (Labquest). Os valores do pH sanguíneo e das concentrações sanguíneas de sódio (Na) e de cloretos (Cl) foram determinados em analisador automático de pH, gases sanguíneos e eletrólitos (Roche Omni C).

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para comparação entre médias, ao nível de significância de 5% (ZAR, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antes da infecção experimental, todos os parâmetros avaliados estavam dentro dos valores considerados normais para a espécie bovina. A partir de 24 horas após a infecção experimental os bezerros dos dois grupos apresentaram diarreia, com muco e estrias de sangue. Apenas os bezerros infectados com *S. Typhimurium* (grupo 2) apresentaram episódios de tenesmo. Os primeiros sinais de desidratação e febre foram observados às 48 horas, em ambos os grupos. Os sinais clínicos de salmonelose foram mais intensos nos bezerros infectados com *S. Typhimurium*, 24 a 96 horas após a infecção experimental. Depois deste período todos os bezerros do grupo 2 iniciaram melhora clínica natural. Por outro lado, os bezerros infectados com *S. Dublin* (grupo 1) apresentaram agravamento da diarreia e desidratação a partir de 96 horas após a inoculação. Os bezerros do grupo 1 também apresentaram temperaturas mais elevadas (40,2°C, em média), em comparação com aquelas registradas nos bezerros do grupo 2 (39,9°C). Apenas os animais infectados experimentalmente com *S. Dublin* apresentaram apatia, diminuição do apetite e sintomas respiratórios (tosse, taquipnéia e secreção nasal e ocular).

Esses resultados são semelhantes aos descritos pela maioria dos estudos sobre infecção experimental de bezerros com *Salmonella*, que relatam sinais de desidratação logo após o início da diarreia (SEGALL & LINDBERG, 1991; SANTOS et al., 2002; FECTEAU et al.,

2003) e doença sistêmica ou quadro clínico grave associado ao sorotipo adaptado a determinada espécie animal (JOSEPH, 1988; VELING et al., 2002).

O isolamento microbiológico de *S. Dublin* e *S. Typhimurium*, a partir dos suabes retais, ocorreu 24 horas após a infecção experimental em ambos os grupos, sendo verificada excreção mais contínua e por maior tempo nos bezerros do grupo 2.

Com relação ao hemograma, não foram observadas diferenças relevantes no eritrograma e no plaquetograma dos bezerros dos dois grupos. Entretanto, os bezerros do grupo 1 apresentaram resposta leucocitária mais evidente após a infecção experimental com *S. Dublin*. A concentração plasmática de fibrinogênio também foi maior nestes bezerros, entre 24 e 96 horas e às 144 horas após a inoculação. Reduções nas concentrações de glicose, pH, Na e Cl foram registradas imediatamente após a infecção experimental dos bezerros com *Salmonella Typhimurium* e mais tardiamente, e de forma mais intensa, nos bezerros infectados com *Salmonella Dublin*. Durante o período experimental foi registrado um óbito no grupo de bezerros infectados com *S. Dublin*.

Os resultados das análises laboratoriais também refletem a gravidade da infecção por *S. Dublin*, uma vez que quadros diarreicos intensos e de maior duração provocam maiores perdas de fluido, bicarbonato e eletrólitos no lúmen intestinal (KANEKO et al., 2008; SANTOS et al., 2002).

CONCLUSÃO

A infecção experimental de bezerros com *Salmonella Typhimurium* foi capaz induzir quadro clínico de salmonelose, caracterizado principalmente por enterite autolimitante, enquanto que a infecção experimental com *Salmonella Dublin* induziu quadro clínico mais grave, caracterizado por enterite severa, sintomas respiratórios e um caso de morte.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de bolsa e auxílio financeiro e à Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ pelo fornecimento das cepas de *Salmonella Dublin* e *Salmonella Typhimurium*.

REFERÊNCIAS

BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger: Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.

PECTEAU, M. V.; HOUSE, J. K.; KOTARSKI, S. F.; TANKERSLEY, N. S.; ONTIVEROS, M. M.; ALCANTAR, C. R.; SMITH, B. Efficacy of ceftiofur treatment of experimental salmonellosis in neonatal calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 64, n. 7, p. 918-925, 2003.

JOSEPH, P. G. The *Salmonella* problem in animals and prospects for its control in livestock and man. **Tropical Biomedicine**, Kuala Lumpur, v. 5, p. 1-8, 1988.

KANEKO, J. J.; HARVEY, I. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008, 916 p.

LOEB, E.; TOUSSAINT, M. J.; RUTTEN, V. P.; KOEMAN, J. P. Dry gangrene of the extremities in calves associated with *Salmonella* Dublin infection; a possible immune-mediated reaction. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 134, n. 4, p. 366-369, 2006.

SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BAÜMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 63, n. 8, p. 1145-1150, 2002.

SARWARI, A. R.; MAGDER, L. S.; LEVINE, P.; McNAMARA, A. M.; ARMSTRONG, G. L.; ETZEL, R.; HOLLINGSWORTH, J.; MORRIS JR., J. G. Serotype distribution of *Salmonella* isolates from food animals after slaughter differs from that isolates found in humans. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 183, p. 1295-1299, 2001.

SEGALL, T.; LINDBERG, A. A. Experimental oral *Salmonella* Dublin infection in calves. A bacteriological and pathological study. **Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B**, Hamburg, v. 38, n. 3, p. 169-185, 1991.

VELING, J.; BARKEMA, H. W.; SCHANS, I.; ZIJDERVELD, F.; VERHOEFF, J. Herd-level diagnosis for *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar Dublin infection in bovine dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 53, n. 1-2, p. 31-42, 2002.

WRAY, C.; DAVIES, R. H. *Salmonella* infections in cattle. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. Oxon: CABI Publishing, 2000. p. 169-191.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO FLORFENICOL NO TRATAMENTO DE BEZERROS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

Larissa Gabriela Ávila¹, Daniela Gomes da Silva², Rafael Akira Sato³ e José Jurandir Fagliari⁴

1. Docente do Centro Universitário de Rio Preto – UNIRP – São José do Rio Preto, SP

2. Pós-doutoranda do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. 14.884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: danielafcav@yahoo.com.br (autor correspondente)

3. Médico veterinário autônomo

4. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

PALAVRAS-CHAVE: Antibiótico, bovino, diarreia, salmonelose

ABSTRACT

THE EFFICACY OF FLORFENICOL AGAINST EXPERIMENTAL *SALMONELLA* TYPHIMURIUM INFECTION IN NEWBORN CALVES

A variety of antibiotics are indicated for treatment of salmonellosis in cattle. However, there is great scientific interest in the rational use of antimicrobials and exclusive products for veterinary medicine. Thus, to assess therapeutic efficacy of florfenicol against salmonellosis, a total of twelve 10 to 15-day-old male Holstein calves were randomly distributed into two experimental groups of six animals each: the control group – calves infected with 10⁹ CFU of *Salmonella* Typhimurium, but not treated (Group 1); and the treatment group – calves infected with 10⁹ CFU of *Salmonella* Typhimurium, treated with florfenicol (Group 2). Physical examination was carried out in all animals just before inoculation and every 24 hours for six days after experimental infection. Rectal swabs and blood samples were collected to isolate *S. Typhimurium* as well as determine pH, bicarbonate, sodium, and chloride levels. Results revealed that calves submitted to treatment showed clinical recovery and shorter duration of fecal excretion of bacteria. Therefore, we concluded that the use of three doses of florfenicol (20 mg/kg) with a 48-hour interval is recommended for effective treatment of salmonellosis in calves.

KEYWORDS: Antibiotics, cattle, diarrhea, salmonellosis

INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas sanitários que afetam os rebanhos bovinos é a diarreia neonatal, sendo as infecções causadas pelas bactérias do gênero *Salmonella* associadas a 12% dos surtos de diarreia em bezerros (SANTOS et al., 2002a).

Os sorotipos *S. Dublin* e *S. Typhimurium* são os mais frequentemente isolados em bovinos, sendo o sorotipo *Typhimurium* o mais prevalente (SANTOS et al., 2002b; FECTEAU et al., 2003; LANGONI et al., 2004). Em bezerros, a infecção geralmente causa diarreia aguda e desidratação, com taxa de mortalidade inversamente proporcional à idade (SARWARI et al., 2001).

Assim, tratamentos práticos e econômicos para o controle da salmonelose são de fundamental importância para a redução da incidência, da taxa de mortalidade e das perdas econômicas associadas a esta enfermidade (HOUSE & SMITH, 1998).

Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar a eficácia terapêutica do florfenicol no tratamento de bezerros infectados experimentalmente com *Salmonella Typhimurium*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 12 bezerros machos sadios da raça Holandesa, com 10 a 15 dias de idade, distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais: grupo inoculado com 10^9 UFC de *Salmonella Typhimurium* e não tratado (grupo 1, n=6) e grupo inoculado com 10^9 UFC de *Salmonella Typhimurium* e tratado com 20 mg de florfenicol/kg de peso em três doses administradas por via intramuscular, no início dos sinais clínicos da infecção e, então, a intervalos de 48 horas entre as aplicações (grupo 2, n=6). O inóculo para indução da infecção experimental foi preparado a partir de uma amostra de *Salmonella Typhimurium* (registro IOC 6333/06), originalmente isolada de fezes de bezerros infectados durante surto de salmonelose, cedida pela Fundação Oswaldo Cruz (Manguinhos-RJ).

Durante o período experimental os bezerros foram alojados em abrigos individuais e receberam quatro litros de leite pasteurizado, duas vezes ao dia, além de ração, feno e água à vontade. O estudo teve aprovação da Comissão de Ética e Bem Estar Animal da FCAV-UNESP-Campus de Jaboticabal (Protocolo nº009986-07).

As colheitas de amostras de sangue foram realizadas imediatamente antes da inoculação (0 hora) e a partir daí, a cada 24 horas até o final do experimento, ao sexto dia após a inoculação, utilizando-se seringas plásticas de 1 mL heparinizadas e agulhas 25x7 mm, seguindo as recomendações de LISBÔA et al. (2001). Os valores do pH sanguíneo e das concentrações sanguíneas de bicarbonato (HCO_3), sódio (Na) e cloretos (Cl) foram

mensurados em um analisador automático de pH, gases sanguíneos e eletrólitos (Roche Omni C).

Para detecção de *Salmonella* Dublin nas fezes dos bezerros foram realizadas colheitas de suabes retais imediatamente antes da inoculação (0 hora) e, a partir daí, diariamente até a constatação de dois resultados negativos consecutivos, em intervalo de 15 dias, conforme sugerido por ANDREWS et al. (2008). As amostras de suabes retais foram enriquecidas em dois caldos de enriquecimento seletivo (selenito cistina e tetracionato Muller-Kauffmann), seguido de plaqueamento em meio semi-sólido (ágar verde brilhante modificado contendo 50 µg/mL de ácido nalidíxico), testes bioquímicos presuntivos (ágar triplice açúcar e ferro e ágar lisina ferro) e confirmação sorológica (soros polivalentes antiantígeno somático e antiantígeno flagelar de *Salmonella*).

Todos os bezerros também foram submetidos ao exame clínico diário (DIRKSEN et al., 1993).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para comparação entre médias, ao nível de significância de 5% (ZAR, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que a partir de 24 horas após a infecção experimental com *S. Typhimurium* os bezerros de ambos os grupos apresentaram diarreia, de variável intensidade, muitas vezes com muco e/ou estrias de sangue, e eliminaram a bactéria nas fezes. Também constatou-se febre na maioria dos animais infectados, 48 a 96 horas após a inoculação. Contudo, nos animais do grupo 2 verificou-se melhora da consistência das fezes logo após o início da antibioticoterapia; a maior parte dos animais deixou de excretar o microrganismo após a administração da segunda dose de florfenicol. Após a utilização de uma terceira dose do antibiótico não foi mais detectada a excreção da bactéria nas fezes de bezerros do grupo 2, sendo o último isolamento realizado no oitavo dia após a inoculação. Por outro lado, apesar de também ter sido observada melhora da consistência das fezes dos bezerros que não receberam tratamento, foi possível verificar *S. Typhimurium* nas fezes por até 31 dias após a infecção experimental, ressaltando a importância da antibioticoterapia no controle da transmissão da salmonelose nos rebanhos bovinos. Em relação à temperatura retal, também notou-se valor de menor magnitude nos bezerros do grupo 2. De maneira semelhante, FECTEAU et al. (2003) e SILVA (2007) verificaram que bezerros infectados com *Salmonella* e tratados com antibioticoterapia também apresentaram menor período de febre e diarreia.

Com relação aos valores do pH sanguíneo e das concentrações de HCO_3 , Na e Cl, nos animais do grupo 2 foram verificadas variações discretas ao longo do período experimental, indicando que a utilização do antibiótico florfenicol foi eficaz no tratamento da infecção com *S. Typhimurium*, uma vez que a perda de bicarbonato e de eletrólitos ocorre juntamente com as fezes e está diretamente relacionada com a gravidade da diarreia (GONÇALVES et al., 1991; KANEKO et al., 2008).

CONCLUSÃO

A administração de duas doses do antibiótico florfenicol (20 mg/kg , com intervalos de 48 horas) foi capaz de reduzir a excreção fecal de *Salmonella Typhimurium* e favoreceu a recuperação clínica dos sintomas provocados pela infecção experimental. Contudo, a administração de uma terceira dose do antibiótico foi fundamental para interromper totalmente a excreção fecal da bactéria sendo, portanto, recomendada a aplicação de três doses de florfenicol, com intervalos de 48 horas, para o tratamento da salmonelose em bezerros.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de bolsa e auxílio financeiro e à Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ pelo fornecimento da cepa de *Salmonella Typhimurium*.

REFERÊNCIAS

- ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. 1080 p.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger: Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.
- FECTEAU, M. V.; HOUSE, J. K.; KOTARSKI, S. F.; TANKERSLEY, N. S.; ONTIVEROS, M. M.; ALCANTAR, C. R.; SMITH, B. Efficacy of ceftiofur treatment of experimental salmonellosis in neonatal calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 64, n. 7, p. 918-925, 2003.
- GONÇALVES, R. C.; KUCHEMBUCK, M. R. G.; LOPES, R. S.; KOHAYAGAWA, A.; CURI, P. R.; LISBÔA, J. A. N. Diarreia em bezerros: estudo clínico e laboratorial. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 3, p. 35-44, 1991.

HOUSE, J. K.; SMITH, B. P. Current strategies for managing *Salmonella* infections in cattle. **Veterinary Medicine**, Lenexa, v. 93, n. 8, p. 756-764, 1998.

KANEKO, J. J.; HARVEY, I. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916 p.

LANGONI, H.; LINHARES, A. C.; AVILA, F. A.; ELIAS, A. O. Contribution to the study of diarrhea aetiology in neonate dairy calves in São Paulo state, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 5, p. 313-319, 2004.

LISBÔA, J. A. N.; BENESI, F. J.; MARUTA, C. A.; MIRANDOLA, R. M. S.; TEIXEIRA, C. M. C. Tempo de viabilidade de amostras de sangue venoso bovino destinadas ao exame hemogasométrico, quando mantidas sob conservação em água gelada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 271-276, 2001.

SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BAÜMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 63, n. 8, p. 1145-1150, 2002a.

SANTOS, R. L.; ZHANG, S.; TSOLIS, R. M.; BAÜMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Morphologic and molecular characterization of *Salmonella* Typhimurium infection in neonatal calves. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 39, n. 2, p. 200-215, 2002b.

SARWARI, A. R.; MAGDER, L. S.; LEVINE, P.; McNAMARA, A. M.; ARMSTRONG, G. L.; ETZEL, R.; HOLLINGSWORTH, J.; MORRIS JR., J. G. Serotype distribution of *Salmonella* isolates from food animals after slaughter differs from that isolates found in humans. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 183, p. 1295-1299, 2001.

SILVA, D. G. **Estudo clínico, laboratorial e terapêutico da diarreia experimental em bezerros induzida por *Salmonella* enterica subespécie enterica sorotipo Dublin**. 2007. 186f. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.

INFLUÊNCIA DO ESTRESSE OXIDATIVO NA APOPTOSE LEUCOCITÁRIA DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS PELO VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA

Glauco Dente Gurtler¹, Fernando Nogueira Souza², Maiara Garcia Blagitz³, Camila Freitas Batista², Camila Silano¹, Kátia Antunes Caetano de Souza¹, Clara Satsuki Mori⁴ e Alice Maria Melville Paiva Della Libera⁵

1 – Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo

2 - Médico Veterinário, Mestrando, Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo

3 – Médica Veterinária, Doutoranda, Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo

4 – Química do Laboratório de Doenças Nutricionais e Metabólicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

5 – Médica Veterinária, Doutora, Professora do Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

E-mail: dellalibera@usp.br (autor correspondente)

PALAVRAS CHAVE: Bovinos, morte celular, radicais livres.

ABSTRACT

OXIDATIVE STRESS AND LEUKOCYTE APOPTOSIS IN DAIRY COWS NATURALLY INFECTED WITH BOVINE LEUKEMIA VIRUS

This study investigates the interrelation between oxidative stress and immune system alterations, especially apoptotic processes. A total of 15 dairy cows were divided according to their hematological profiles and results from serological examination. Blood samples were collected for detection of bovine leukemia virus. Methods included agar gel immunodiffusion (AGID), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), hematological, mononuclear and cell death analysis, and determination of reduced glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GSH-Px), and malondialdehyde levels. Research findings revealed high survival rates of B-cells and the involvement of oxidative stress leading to disease progression and lymphocyte resistance.

KEYWORDS: Cattle, cell death, free radicals.

INTRODUÇÃO

O vírus da leucose enzoótica bovina (VLEB), um deltaretrovírus tipo C, é incriminado como o agente etiológico da enfermidade linfoproliferativa conhecida como leucose enzoótica bovina (LEB), tendo ainda significativa homologia com o vírus T linfotrópico humano (HTLV). O VLEB, por sua vez, estabelece a persistência da infecção na subpopulação de linfócitos B (SCHWARTZ et al., 1994) integrando-se o ácido desoxirribonucléico (ADN) viral ao ADN das células do hospedeiro, estando desta forma associado ao desenvolvimento de duas manifestações clínicas: a forma multicêntrica adulta de linfossarcoma (neoplasia maligna mais comum do gado leiteiro) e a linfocitose persistente (LP) de caráter benigno (PARODI, 1987).

Sabe-se que os vírus desenvolveram estratégias para neutralizar a resposta apoptótica das células do hospedeiro e acredita-se que a modulação da apoptose, associada ou não ao aumento na taxa da proliferação celular, possa ser componente fundamental na persistência viral e na progressão para a linfocitose induzida pelos retrovírus.

Uma importante via protetora intracelular contra o peróxido de hidrogênio é a da glutathiona. É também citado que mudanças na proporção de glutathiona reduzida (GSH) /oxidada (GSSH) estão associadas com importantes eventos redox que iniciam a resposta proliferativa ou apoptótica, sendo que a redução da GSSH foi correlacionada com o processo apoptótico. A GSH, por exemplo, é transportada para o meio extracelular nos processos apoptóticos celulares e a inibição deste processo pode dificultar ou retardar o processo apoptótico (GHIBELI et al., 1998).

Ademais, estudos demonstraram que a Bcl-2 funciona como importante via do sistema antioxidante. Por exemplo, a redução da expressão da Bcl-2 está relacionada com a depleção celular de glutathiona (MCCULLOUGH et al., 2001). Desta forma, a Bcl-2 modula a apoptose por intermédio do metabolismo da GSH. Pode-se citar ainda que capacidade da Fas para ativar caspases (caspase-3 e caspase-8,) e conseqüentemente induzir a apoptose, requer uma alta proporção de GSH/glutathiona total (HENTZE et al., 2002).

Este trabalho visou elucidar o possível envolvimento do estresse oxidativo no desencadeamento das alterações na resposta imune, com enfoque no processo apoptótico, de bovinos naturalmente infectados pelo vírus da LEB.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram triadas 122 fêmeas adultas pertencentes ao mesmo rebanho destinado à produção de leite do Estado de São Paulo, dos quais foram selecionados 15 animais mantendo

a homogeneidade dos grupos, buscando animais sob mesma dieta, fase lactacional, período gestacional e idades semelhantes. Para a composição dos grupos experimentais, os animais foram divididos uniformemente, segundo o resultado da sorologia e subdivididos, conforme o resultado do leucograma, em animais com sorodiagnóstico negativo, com sorodiagnóstico positivo alinfocitóticos e animais com sorodiagnóstico positivo apresentando LP, segundo KETTMANN et.al. (1987).

Foi coletada de cada animal uma amostra de sangue em tubo siliconizado sem anticoagulante; o soro assim obtido foi destinado para a determinação do índice de peroxidação lipídica, dado pelo teor de monaldeído (MDA) conforme descrito por ESTERBAUER & CHEESEMAN (1990), e armazenado à temperatura de -20°C até realização do sorodiagnóstico através do teste de imunodifusão em gel de ágar (Tecpar®, Brasil) e teste imunoenzimático (ELISA) (VRMD, USA). Foram também coletadas de cada animal, duas amostras, em tubo siliconizado com EDTA tripotássico, as quais foram utilizadas para a realização das análises hematológica e determinação da glutathiona reduzida (GSH), conforme descrito por BEUTLER et.al. (1963). Ademais foram coletadas de cada animal, duas amostras em tubo com heparina, as quais foram utilizadas para avaliação de morte celular como descrito por VERMES et. al. (1995), sendo também realizada a quantificação da subpopulação de células B através da marcação de moléculas de superfície, CD5, expressa nessa população de linfócitos, e ainda determinação da glutathiona peroxidase que foi realizada por kits comerciais (Randox, Brasil).

Os dados foram inicialmente analisados usando o teste *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA), após verificação da normalidade e homodasticidade. Os dados foram, então, confrontados pelo Teste de Kolgomorov e Smirnov.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O envolvimento do estresse oxidativo em pacientes com doenças virais tem sido considerado importante em várias espécies, pois envolvem doenças com perfis muito distintos, como o HTLV1 e o HIV. Fato que impulsionou o presente estudo na determinação da influência exercida pelo estresse oxidativo na apoptose leucocitária de bovinos infectados pelo vírus da leucose enzoótica bovina.

Dentre as 122 fêmeas que foram triadas, foi encontrado maior positividade no sorodiagnóstico pelo teste ELISA (95,04%) do que pelo IDGA (66,11%). A avaliação do hemograma atendeu apenas à composição dos grupos, não sendo encontradas maiores variações além do esperado e, óbvio, maior número de linfócitos no grupo de animais

positivos com linfocitose persistente. Sendo $7,01 \pm 2,82 \times 10^3$ de linfócitos / mL de sangue no grupo negativo, $6,30 \pm 1,73 \times 10^3$ de linfócitos / mL de sangue no grupo positivo AL e $21,5 \pm 7,5 \times 10^3$ de linfócitos / mL de sangue no grupo positivo com LP.

O presente estudo indicou menor porcentagem de células mononucleares e CD5 obtidas de animais manifestando LP, em processo de apoptose e/ou necrose, que aquelas verificadas dos animais pertencentes aos demais grupos experimentais. Embora não fora encontrada diferença estatística, pode-se sugerir menor apoptose de células B no grupo de animais com linfocitose persistente. Apesar das tentativas de garantir maior homogeneidade aos grupos, o coeficiente de variação encontrado na avaliação de apoptose pode ser considerado alto (CV= 0,45) e talvez o número amostral tenha favorecido esse achado.

Assim, como resultados obtidos têm-se para a apoptose precoce, anexina V-FITC⁺/iodeto de propídio (PI)⁻, no grupo LP, os valores de 8,29 % ($\pm 3,71$) (p= 0,989), no grupo AL, de 15,51% ($\pm 9,57$) e, no grupo negativo, de 14,82 ($\pm 5,78$); para a apoptose tardia, anexina V- FITC⁺/PI⁺, no grupo LP, os valores de 0,85 ($\pm 0,60$) (p= 0,462), no grupo AL, de 9,86 ($\pm 17,27$) e, no grupo negativo, de 3,45 ($\pm 4,36$); para a necrose, anexina V- FITC⁻/PI⁻, no grupo LP, os valores de 1,44 ($\pm 0,54$) (p= 0, 655), no grupo AL, de 2,78 ($\pm 3,89$) e, no grupo negativo, de 2,90 ($\pm 2,61$). Conseqüentemente, foi observado maior número de células viáveis, anexina V- FITC⁻/PI⁻, no grupo LP, onde se encontrou 82,29 ($\pm 8,70$) (p= 0, 243), no grupo AL, 68,46 ($\pm 16,88$) e, no grupo negativo, 78,80 ($\pm 11,24$). Quanto a apoptose especificamente da subpopulação de células CD5⁺, verificou-se, no grupo LP, 3,23 ($\pm 1,46$) (p= 0,8012), no grupo AL, 3,72 ($\pm 2,17$) (p= 0,801) e, no grupo negativo, 3,11 ($\pm 0,35$).

Assim, supõe-se que a manutenção do estado de LP, em bovinos com LEB, ocorra em função do desequilíbrio entre a proliferação e morte de linfócitos B, o principal alvo do VLB. A taxa de morte celular de linfócitos B de bovinos com LP é reduzida em relação à dos animais alinfocitóticos, e que a proliferação destas células também se encontra reduzida, porém em menor grau (DEBACQ et. al., 2002).

Corroborando a isso, o maior número de células B encontradas nos animais LP, 63,42 ($\pm 1,99$) (p= 0, 0128), se comparado com o grupo AL, 11,98 ($\pm 5,35$) e com o grupo negativo, 39,25 $\pm 14,37$. Desta forma, pode se sugerir que a inibição do processo de apoptose em células B, possa estar envolvida na progressão da doença, resultando no desenvolvimento do quadro de linfocitose persistente.

Na determinação do MDA, obteve-se 4,27 ($\pm 0,43$), 2,20 ($\pm 1,61$) e 3,74 $\pm 1,40$ nmol/L (p = 0,057) de MDA para os grupos LP, AL e negativos, respectivamente, com coeficiente de variação igual a 0,10. Na determinação da GSH, encontrou-se 22,21 ($\pm 8,86$),

19,78 ($\pm$ 7,84) e 25,63 ($\pm$ 6,19) nmol/L ($p = 0,503$) de GSH para os grupos LP, AL e negativos, respectivamente, com coeficiente de variação igual a 0,39. Na determinação da GSH-Px, encontrou-se 224,65 ($\pm$ 88,31), 302,20 ($\pm$ 80,58) e $213,96 \pm 56,93$ μ mol/L ($p = 0,181$) de GSH-Px para os grupos LP, AL e negativos, respectivamente. Em oposição ao MDA, a avaliação da atividade da GSH, mostrou-se não significativa, uma vez que seu coeficiente de variação foi maior (0,39), se comparado com o do MDA (0,10).

Assim, na avaliação do estresse oxidativo no presente estudo, pôde-se sugerir o envolvimento do estresse oxidativo na progressão da doença e estabelecimento do quadro de LP, uma vez que os dados mostraram-se relevantes para tal conclusão. Porém na avaliação da GSH, esta também se mostrou reduzida no grupo LP, o que reforça a idéia do estresse oxidativo, uma vez que esta enzima participa ativamente de vias antioxidantes.

CONCLUSÃO

Os resultados observados, no presente estudo, demonstram que bovinos naturalmente infectados pelo VLB manifestando LP tendem a apresentar menor porcentagem de linfócitos sofrendo processo de apoptose e/ou necrose. Fato este que deve contribuir para o estabelecimento da LP, reforçado pela maior porcentagem de células B nestes animais. Além disso, pelos dados encontrados, pode-se sugerir o envolvimento do estresse oxidativo, dado pela maior concentração de MDA nos animais manifestando LP; estando tal fato provavelmente envolvido na progressão da doença e manifestação do quadro de LP.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS

BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, Saint Louis, v. 61, n. 5, p. 882-888, 1963.

DEBACQ, C.; ASQUITH, B.; KERKHOFS, P.; PORTETELLE, D.; BURNBY, A.; KETTMANN, R.; WILLEMS, L. Increased cell proliferation, but not reduced cell death, induces lymphocytosis in bovine leukemia virus -infected sheep. **Proceedings of the**

National Academy of Sciences of the United States of America, Washington, v. 99, n. 15, p. 10048-10053, 2002.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, New York, n. 186, p. 407-421, 1990.

GHIBELLI, L.; FANELLI, C.; ROTILIO, G.; LAFAVIA, E.; COPPALA, S.; CIVITAREALE, P.; CIROLO, M.R.. Rescue of cells from apoptosis by inhibition of active GSH extrusion. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 12, p. 479-486, 1998.

HENTZE, H.; SCHMITZ, I.; LATTA, M.; KRUEGER, A.; KRMMER, P.H.; WENDEL, A. Gluthatione dependence of caspase-8 activation at the death-inducing signaling complex. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 277, p. 5588-5595, 2002.

KETTMANN, R.; et. al. Leukemogenesis by bovine leukemia virus. In: BURNY, A.; MAMMERICKX, M. (Ed.). **Enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus**. Boston: Martinus Nijhoff, 1987. p. 153-160.

MCCULLOUGH, K. D.; MARTINDALE, J. L.; KLOTZ, L. O.; AW, T. Y.; HOLBROOK, N. J. Gaad153 sensitizes cells to endoplasmatic reticulum stress by down-regulation Bcl-2 and pertubing the cellular redix state. **Molecular and Cellular Biology**, Washington, v. 21, p. 1249-1259, 2001.

PARODI, A. L. Pathology of enzootic bovine leukosis: Comparision with the sporadic form. In: BURNY, A.; MAMMERICKX, M. (Ed.). **Enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus**. Boston: Martinus Nijhoff, 1987. p. 15-49.

SCHWARTZ, I.; *et.al.*. In vivo leukocyte tropism of bovine leukemia virus in sheep and cattle. **Journal of Virology**, v. 68, n. 7, p. 4589-96, 1994.

VERMES, I.; et al. A novel assay for apoptosis: flow cytometry detection of phosphadylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled annexin-V. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 184, p. 39-51, 1995.

SINAIS CLÍNICOS DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE BEZERROS BUBALINOS POR *SALMONELLA ENTERICA* SUBESPÉCIE *ENTERICA* SOROTIPO DUBLIN

André Marcos Santana¹, Daniela Gomes da Silva², Lucas José Luduverio Pizauro³, Priscila Arrigucci Bernardes³ e José Jurandir Fagliari⁴

¹Doutorando em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária) da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

²Pós-doutoranda do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

³Graduandos em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

⁴Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n. 14.884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: *Bubalus bubalis*, diarreia, febre, salmonelose

ABSTRACT

CLINICAL SIGNS OF EXPERIMENTAL *SALMONELLA ENTERICA* SUBSPECIES *ENTERICA* SOROVAR DUBLIN IN BUFFALO CALVES

The clinical signs of healthy buffalo calves infected with experimental 10^8 CFU of *Salmonella* Dublin were evaluated and the viability of the experimental model in disease induction was verified. A total of 10 animals aged 10 to 26 days were examined. They were allocated into two groups: control and experimentally infected with 10^8 CFU of *Salmonella* Dublin. Animals were submitted to physical examination before inoculation and every 12 hours during 7 days after infection. Samples of rectal swabs were collected for *Salmonella* Dublin isolation. From 60 to 96 hours after infection, four of the five animals had fever with rectal temperatures ranging from 40,0 to 41,0 °C. All buffalo calves showed signs of diarrhea containing rectal mucus and/or bleeding 24 to 96 hours after experimental infection with *Salmonella* Dublin. The isolation of the agent from rectal swabs occurred 24 hours postinfection. Therefore, oral administration of 10^8 CFU of *Salmonella* Dublin induced clinical signs of salmonellosis in 10 to 26-day-old buffalo calves.

KEYWORDS: *Bubalus bubalis*, diarrhea, fever, salmonellosis.

INTRODUÇÃO

As maiores taxas de mortalidade em búfalos são registradas em animais com até seis meses de idade, sendo a diarreia neonatal dos bezerros uma das principais causas dessas perdas (SUNIL CHANDRA & MAHALINGAM, 1994; BENESI, 2004).

Dentre as causas de diarreia, a salmonelose é uma das mais importantes (HOUSE et al., 2001) e o sorotipo S. Dublin é o mais frequentemente isolado em búfalos (LÁU, 1999). Em bezerros bubalinos, as salmoneloses podem ser responsáveis por 13% a 14% do total de casos de diarreia, com taxa de mortalidade variando de 40% a 72% (FAGIOLO et al., 2005).

A principal porta de entrada para a infecção é a cavidade oral, através da ingestão de água e alimentos contaminados. De maneira geral, em bovinos sob condições experimentais, a infecção com 10^4 a 10^7 UFC da bactéria causa diarreia transitória que persiste por 48 a 192 horas, enquanto doses entre 10^8 a 10^{11} UFC causam sepse de evolução aguda, com morte em curto espaço de tempo (SANTOS et al., 2002). Estudo realizado por SILVA et al. (2008) permitiu concluir que doses de 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin são suficientes para induzir salmonelose em bezerros com 10 a 15 dias de idade.

Em búfalos, os principais sinais clínicos da salmonelose são diarreia, febre e desidratação. A diarreia é profusa, aquosa e fétida, com presença de muco e sangue. Nos casos em que as endotoxinas bacterianas são absorvidas, a diarreia é acompanhada de febre, dor abdominal, apatia, anorexia, fraqueza e taquipnéia; o animal pode morrer dentro de quatro a sete dias (FAGIOLO et al., 2005).

O objetivo do estudo foi avaliar o quadro clínico de bezerros bubalinos submetidos à infecção experimental com 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin e, adicionalmente, verificar a viabilidade do modelo experimental na indução da doença nesta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 10 bezerros bubalinos da raça Murrah sadios, com 10 a 26 dias de idade e peso médio de 51,2 kg, obtidos de rebanhos comerciais dos municípios de Ibitinga e Marília, Estado de São Paulo. Os bezerros foram alojados em abrigos individuais cobertos, para evitar estresse térmico, e receberam, duas vezes ao dia, um total de quatro litros de leite de vaca *in natura* pasteurizado, além de ração, feno e água à vontade. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal da FCAV-UNESP-Campus de Jaboticabal (Protocolos nº 010885-08).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais, com cinco bezerros cada. Os animais do grupo 1 foram infectados experimentalmente, por via oral,

com 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin suspensas em 10 mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) (CM0225, Oxoid), antes da primeira mamada do dia. Os bezerros do grupo 2 receberam apenas 10 mL de caldo BHI (grupo controle).

A cepa de *Salmonella* Dublin (registro IOC 3101/03) foi isolada de bezerro infectado naturalmente e cedida pela Fundação Oswaldo Cruz (Manguinhos–RJ). A bactéria foi cultivada de acordo com as recomendações de WRAY & SOJKA (1981) e quantificada pela técnica de MILES & MISRA (1938).

Os bezerros foram submetidos ao exame físico antes da inoculação e a cada 12 horas, ao longo de sete dias após a infecção experimental, como propôs DIRKSEN et al. (1993). A colheita de suabes retais dos bezerros, para avaliar a presença da *Salmonella* Dublin, foi realizada logo antes da inoculação e, a partir daí, diariamente até a constatação de dois resultados negativos consecutivos, em intervalo de 15 dias, conforme sugerido por ANDREWS et al. (2008). Os suabes retais foram posteriormente enriquecidos em caldo selenito-cistina (CM0699, Oxoid), caldo tetracionato Muller-Kauffmann (CM0343, Oxoid) e caldo Rappaport-Vassiliadis (CM0866, Oxoid) e plaqueados em ágar verde brilhante modificado (CM0329, Oxoid), contendo 50 µg/mL de ácido nalidíxico, como preconizado por SANTOS et al. (2002). Colônias com morfologia característica do gênero *Salmonella* foram submetidas a testes bioquímicos, utilizando-se ágar tríplice açúcar ferro (TSI) (CM0277, Oxoid) e ágar lisina ferro (LIA) (CM0381, Oxoid). Após a comprovação bioquímica foi realizada soroaglutinação em lâmina, utilizando-se soro polivalente anti-antígenos somáticos (anti-O) de *Salmonella* (Probac do Brasil) e soro anti-antígenos somáticos do sorogrupo D (Probac do Brasil), no qual se inclui *S. Dublin*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não se constatou sinal clínico algum de infecção por salmonela nos bezerros bubalinos do grupo controle. As frequências cardíaca e respiratória dos animais deste grupo variaram de 48 a 96 bpm e de 14 a 42 mpm, respectivamente. A temperatura retal oscilou entre 36,9 a 39,7°C, semelhantes àquela relatada por TITTO et al. (1997), em búfalos mantidos em câmara bioclimática, em condições típicas de clima tropical.

No grupo de bezerros infectados, as frequências cardíaca e respiratória variaram de 44 a 106 bpm e de 15 a 53 mpm, respectivamente. Os primeiros sinais de febre surgiram 60 horas após a inoculação e 96 horas após a infecção quatro animais (80%) já apresentavam febre, com temperatura retal entre 40,0 e 41,0 °C; apenas um bezerro não apresentou febre durante o período experimental. Seis dias após a inoculação, os sinais clínicos dos bezerros

regrediram espontaneamente, com temperatura retal dentro da normalidade em todos os animais. SILVA et al. (2008), estudando bezerros bovinos com 10 a 15 dias de idade infectados experimentalmente com 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin, observaram os primeiros sinais de febre mais precocemente, 24 horas após a inoculação, sendo que 84 horas após a infecção experimental os animais apresentavam temperatura média de $40,1^{\circ}\text{C}$.

Entre 24 e 96 horas após a inoculação, todos os bezerros bubalinos do grupo infectado manifestaram diarreia discreta a grave, com presença de muco e/ou estrias de sangue; sete a dez dias após a infecção experimental notou-se recuperação espontânea da diarreia, nestes animais. SILVA et al. (2008) verificaram diarreia grave em todos os bezerros de vacas 12 a 36 horas após a infecção experimental por *S. Dublin*.

Dois bezerros infectados (40%) apresentaram desidratação discreta 72 e 96 horas após a inoculação, respectivamente; por outro lado, SILVA et al. (2008) relataram a ocorrência de desidratação 36 horas após a inoculação. Também, não se constatou sintoma respiratório, como tosse, secreção nasal e taquipnéia, relatados por SILVA et al. (2008) em bezerros bovinos. Quanto ao apetite, apenas um animal apresentou inapetência e apatia entre 120 e 136 horas após a inoculação.

Não foi isolada *Salmonella* Dublin nas amostras de suabes retais dos animais do grupo controle. No grupo de bezerros infectados, o isolamento ocorreu 24 horas após a inoculação, sendo verificada excreção contínua em dois animais e intermitente em três búfalos durante os sete dias após a infecção. SILVA et al. (2008) isolaram a bactéria a partir de 12 horas após a infecção experimental de bezerros bovinos, sendo que dois dos seis animais infectados apresentaram excreção contínua, também durante os sete dias após a infecção.

Apesar de os bezerros infectados já não apresentarem sinais clínicos de salmonelose entre sete e dez dias após a infecção experimental, constatou-se eliminação de *Salmonella* Dublin por até 16 dias após a inoculação, achado este de relevância epidemiológica. De modo semelhante, ÁVILA (2008), estudando bezerros bovinos com 10 a 15 dias de idade infectados experimentalmente com 10^9 UFC de *Salmonella* Typhimurium, verificou excreção da bactéria por até 31 dias após a inoculação e que a partir de sete dias após a infecção experimental os animais já não apresentavam sintomas de salmonelose.

Não se verificou óbito de bezerros bubalinos infectados com *Salmonella* Dublin, ao contrário do relatado por SILVA et al. (2008), que constataram dois óbitos (33,3%) no grupo de bezerros infectados durante o período experimental de sete dias.

CONCLUSÃO

Os resultados permitem concluir que a administração oral de 10^8 UFC de *Salmonella* Dublin é suficiente para induzir quadro clínico de salmonelose em bezerros bubalinos com 10 a 26 dias de idade, cujos principais sinais clínicos são diarreia, febre e desidratação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de bolsa e à Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ pelo fornecimento da cepa de *Salmonella* Dublin.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Medicina bovina: doenças e criação de bovinos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. 1080 p.

ÁVILA, L. G.; SATO, R. A.; JORGE, R. L. N.; NOGUEIRA, C. A. S.; FAGLIARI, J. J. Avaliação clínica e do modelo experimental da infecção de bezerros com *Salmonella* Typhimurium. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Título...** Gramado: 2008. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos>>. Acesso em: 23 jul. 2009.

BENESI, F. J. Principais enfermidades de bezerros neonatos. Como diagnosticá-las e tratá-las? 2004. Disponível em: <<http://www.spmv.org.br/conpavet2004/palestras%20-%20resumos/Neonatalogia%20-%20Fernando%20Jose%20Benesi.doc>>. Acesso em 23 jul. 2009.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger: Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419p.

FAGIOLO, A.; RONCORONI, C.; LAI, O.; BORGHESE, A. Buffalo Pathologies. In: BORGHESE, A. **Buffalo Production and Research**. Roma: FAO, 2005. cap. 13, p. 249-296.

HOUSE, J. K.; ONTIVEROS, M. M.; BLACKMER, N. M.; DUEGER, E. L.; FITCHHORN, J. B.; McARTHUR, G. R.; SMITH, B. P. Evaluation of an autogenous *Salmonella* bacterin and a modified live *Salmonella* serotype Choleraesuis vaccine on a commercial dairy farm. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 62, p. 1897-1902, 2001.

LÁU, H. D. **Doenças em búfalos no Brasil: diagnóstico epidemiologia e controle**. Brasília: Embrapa, 1999. 202 p.

MILES, A. A.; MISRA, S. S. The estimation of bactericide power of the blood. **Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 38, p. 732-749, 1938.

SANTOS, R. L.; TSOLIS, R. M.; BÄUMLER, A. J.; ADAMS, L. G. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* serovar Typhimurium-infected calves. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 63, p. 1145-1150, 2002.

SILVA, D. G.; SILVA, P. R. L.; FAGLIARI, J. J.; ALESSI, A. C.; OLIVEIRA, R. G. Clinical evaluation of experimental *S. Dublin* Infection in calves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, p. 251-255, 2008.

SUNIL CHANDRA, N. P.; MAHALINGAM, S. Rotavirus associated diarrhoeas in buffalo calves in Sri Lanka. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings...** Sao Paulo: 1994. v. II: p. 322-324.

TITTO, E. A. L.; RUSSO, H. G.; LIMA, C. G. Efeito do banho de água sobre o conforto térmico de bubalinos. In: CONGRESSO DE ZOOTECNIA, 6. 1997, Lisboa. **Actas...** Lisboa: APEZ, 1997. v. 1, p. 15-18.

WRAY, C.; DAVIES, R.H. *Salmonella* infections in cattle. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. Oxon: CABI Publishing, 2000. p. 169-191.

PESQUISA DE *Campylobacter fetus* EM PREPÚCIO DE TOUROS, EM UMA PROPRIEDADE RURAL DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Leandro Babosa Bettero¹, Nielton César Ton², Graziela Barioni³, Marcus Alexandre Vaillant Beltrame⁴

1. Médico veterinário, Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha
2. Graduando de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha
3. Médica veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha (UVV), 29.102-770, Vila Velha, ES, Brasil, E-mail: gbarioni@uvv.br (autor correspondente)
4. Médico veterinário, mestrando, professor do Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha (UVV)

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, campilobacteriose genital, isolamento bacteriano, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

***CAMPYLOBACTER FETUS* IN PREPUTIAL FLUID OF BULLS FROM ESPÍRITO SANTO, BRAZIL**

Bovine genital campylobacteriosis (BGC) is a sexually transmitted disease, which causes major economic losses due to reproductive failure in affected animals. It is not easily diagnosed because of the microaerophilic nature of its causative agent, *Campylobacter fetus*. This study assesses *C. fetus* in preputial bull fluid collected by scraping of smegma for isolation of the bacteria in selective medium. Animals were aged 42 to 60 months, were not sexually active, and were raised in the municipality of Piúma, Espírito Santo. *C. fetus* bacteria was not detected in any of the samples, although *Pseudomonas aeruginosa* (34,5%) and *Klebsiella* spp. (12,5%) strains increased. Some factors may have influenced these results, such as: age of animals, lack of sexual activity, confinement, healthy environments, difficulty to isolate bacteria, and interference of other microorganisms in culture. More sensitive and practical techniques are needed to better diagnose this venereal disease.

KEYWORDS: Bacterial isolation, bovine, genital campylobacteriosis, *Pseudomonas aeruginosa*

INTRODUÇÃO

Dentre os mais importantes fatores associados com a rentabilidade da pecuária bovina, a reprodução afeta mais diretamente o nível de produtividade, sendo dependente de fatores nutricionais, genéticos, sanitários e, sobretudo, um manejo adequado. Doenças como leptospirose, BVD, IBR, brucelose e campilobacteriose, apresentam altas taxas de abortos ou manifestações clínicas que despertam grande interesse dos criadores e técnicos por prejudicarem a performance reprodutiva dos rebanhos (PELLEGRIN, 2002).

A campilobacteriose genital bovina (CGB), anteriormente conhecida como vibriose bovina, é uma doença do trato genital dos bovinos causada pela bactéria *Campylobacter fetus* (subsp. *veneralis* e *fetus*) um bacilo gram-negativo, fino, curvo, em forma de vírgula ou espiral, móveis por flagelo polar e não esporogênico (DERIVAUX, 1980; HIRSH, 2003).

A campilobacteriose é uma doença venérea que acomete bovinos, ovinos, caprinos e suínos (QUINN et al., 2005). Nas fêmeas a bactéria localiza-se no lúmen vaginal, cérvix, útero e oviduto provocando morte embrionária, repetição de cio, abortamento e infertilidade. (JESUS, 2003). Nos machos a bactéria se localiza preferencialmente na mucosa prepucial, glândula, e porção distal da uretra. Os touros são portadores assintomáticos sendo assim, o principal transmissor e disseminador da doença no rebanho (LAGE & LEITE, 2000).

De acordo com REHAGRO (2004), pelo menos 25% dos bovinos com idade reprodutiva do rebanho brasileiro são positivos para a CGB. Isso significa que pelo menos 18 milhões de touros, vacas e novilhas estão acometidos pela doença. Como é uma doença de difícil diagnóstico, apesar de estar presente em todas as regiões, em regra os criadores não têm conhecimento de sua existência. Portanto, o presente trabalho teve o objetivo que pesquisar o *Campylobacter fetus* em touros numa propriedade rural no Estado do Espírito Santo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 16 touros da raça Nelore de genética superior, machos, inteiros, sem histórico de atividade sexual, com idade entre 42-60 meses, criados confinados em estábulo, cuja limpeza e higiene era realizada diariamente. Estes eram provenientes de uma propriedade localizada no município de Piúma-ES.

Realizou-se a colheita das amostras em novembro de 2007. Após massagem peniana e prepucial para estimular a micção no animal e diminuir a contaminação da amostras, colhia-se

o esmegma prepucial por meio de escarificação da mucosa prepucial e peniana com auxílio de bacia de inseminação artificial estéril. A pipeta era introduzida no prepúcio e em movimentos de vai-e-vem escarificava-se a mucosa. O material foi aspirado para dentro da pipeta com auxílio de uma seringa de 60mL acoplada na outra extremidade. Em seguida, a extremidade da bacia era cortada e acondicionada em tubo de ensaio estéril contendo 6mL de Caldo BHI enriquecido com suplemento seletivo de Skirrow (BRIDSON, 2000). Realizaram-se três colheitas por animal, nos dias 0, 7 e 21. As amostras eram acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas e levadas ao Laboratório de Microbiologia Veterinária do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Vila Velha-UVV num prazo máximo de seis horas para processamento.

No laboratório, os tubos foram incubados à 37°C/72 horas, em microaerofilia utilizando-se kit gerador de atmosfera adequada (Microaerobac[®], Probac do Brasil). Após este período, 30µL do caldo de cada amostra foi espalhado na superfície de placas de ágar Columbia acrescido de 8-10% de sangue eqüino, acrescido de suplemento seletivo de Skirrow[®] (OXOID). Outros 30 µL de cada amostra eram espalhados em placas de ágar Columbia acrescido de 8-10% de sangue eqüino, no entanto, sem suplementação seletiva. As placas foram incubadas a 37°C/5 dias em microaerofilia (GROFF, 2005). Cultura e testes de identificação foram realizados posteriormente para confirmação e caracterização das espécies, naquelas colônias que apresentaram características compatíveis com *Campylobacter spp.* (KONEMAN, 2001; HIRSH, 2003; OIE, 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 48 amostras de esmegma prepucial colhidas a partir dos 16 touros, em nenhuma delas foi possível o isolamento da bactéria *Campylobacter sp.* Esse número pode ser explicado em função de 81% (13/16) dos touros utilizados na pesquisa terem idade inferior a 5 anos. Pois, segundo LAGE & LEITE (2000), os animais que são mais susceptíveis para a campilobacteriose são aqueles com idade superior a 4 anos, devido ao maior número e tamanho das criptas do epitélio peniano e prepucial, fator este que proporciona um ambiente microaerófilo propício à multiplicação e transmissão da bactéria. Um fato que corrobora com o achado, foi o descrito por DERIVAUX (1980), em que considera touros jovens mais resistentes à infecção, e, portanto, a prevalência nesta categoria de animais torna-se menor.

Dos 16 animais pesquisados apenas um já havia apresentado atividade sexual, e os demais, eram criados sem permitir atividade sexual para posterior comercialização como

reprodutores. Embora não seja a única maneira, DERIVAUX (1980) descreve que a transmissão venérea é uma das formas mais importantes de disseminação da bactéria no rebanho.

Os animais encontravam-se estabulados em recinto diariamente higienizado, e por permanecerem amarrados em cabrestos individuais constantemente, não havia contato permanente entre os animais. Segundo LAGE & LEITE (2000) apesar da transmissão ocorrer principalmente por via venérea, também pode ocorrer por contato direto com cama contaminada. Entretanto, por existirem apenas animais com idades abaixo de cinco anos associada à constante limpeza do local, possivelmente esses justifiquem a ausência do patógeno.

Mesmo sendo uma técnica preconizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o isolamento e identificação do agente é difícil, devido a reduzida viabilidade do agente nas amostras colhidas. Esta afirmativa é reforçada pela pesquisa realizada por GROOF (2005) no RS, que detectou apenas 2,8% (8/277) dos animais positivos na cultura bacteriana para *C. fetus*, enquanto que 24,5% (68/277) destas mesmas amostras foram positivas na técnica da PCR.

Em 17 (35,4%) amostras examinadas, isolou-se *Pseudomonas aeruginosa*, e em 6 (12,5%) amostras houve crescimento de *Klebsiella spp.* permitindo constatar a interferência de tais cepas no meio de cultura. DERIVAUX (1980) relata sobre a dificuldade de isolamento da bactéria, mesmo quando são utilizados meios com enriquecimento seletivo, em função de microrganismos contaminantes como *Pseudomonas spp.* apresentarem multirresistência aos antibióticos, sendo capazes de crescer nestes meios, competindo com o *C. fetus*.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho pode-se concluir que: Não foi isolado o *Campylobacter fetus*, nas 48 amostras de esmegma prepucial de touros estabulados, com idade entre 42-60 meses. Ocorreu o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella spp.* em 35,4% (17/48) e 12,5% (6/48) das amostras analisadas, respectivamente. Fatores ambientais como confinamento dos animais, associado a higidez das instalações podem ter favorecido os resultados encontrados. Mesmo sendo uma técnica preconizada pelo MAPA, devem-se utilizar outras técnicas que possam ser aliadas ao isolamento bacteriano, favorecendo o aumento da sensibilidade na identificação do *Campylobacter fetus*.

REFERÊNCIAS

- BRIDSON, E. . **Manual Oxoid**. São Paulo: Oxoid Brasil LTDA, p. 2-63 – 2-73, 2000.
- DERIVAUX, J. Vibriose bovina. In: _____. **Reprodução dos animais domésticos**. Zaragoza: Acribia, cap. 4, p. 394-403, 1980.
- GROFF, M. A. C. **PCR para o diagnóstico da campilobacteriose genital bovina**. 2005. 22p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- HIRSH, D. C. Campylobacter – Arcobacter (Sistema reprodutivo). In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 36, p. 181-184, 2003.
- JESUS, V. L. T. Doenças da reprodução e doenças que interferem na reprodução. In: PALHANO, H. B.; JESUS, V. L. T.; TRÉS, J. E.; FERRAZ, J. C. F. J.; ALVES, P. A. M. **Reprodução de bovinos**. Porto Alegre: A Hora Veterinária, p. 63-66, 2003.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. Jr. Bacilos Gram-negativos curvos e fermentadores oxidase-positiva: Campylobacteriaceae e Vibrionaceae. In: _____. **Diagnóstico microbiológico**. 5.ed. Rio de Janeiro: Medisi, cap.6, p. 331-364, 2001.
- LAGE, A. P.; LEITE, R. C. Campilobacteriose genital bovina. **Pecuária de Corte**, v.100, p. 50-54, 2000.
- OIE (Organização Internacional de Epizootias). **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. Cap. 2.3.2.: Bovine genital campylobacteriosis: p.490-495, 2005.
- PELLEGRIN, A. O.; A campilobacteriose e a tricomonose são doenças reemergentes? **Embrapa**, Corumbá, MS, n. 41, p. 1-23, 2002.
- QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELL, Y.; LEONARD F.C. Gênero Campylobacter. In: _____. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, cap. 28, 29 e 54, pág. 166-176, 309-313, 2005.

REHAGRO, **Campilobacteriose genital bovina**. artigos técnicos, 2004. Acesso em 25 de abril de 2008. Disponível em: <<http://www.rehagro.com.br/>>. Acesso em 20 de março de 2008.

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 (BHV-1) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NA BACIA LEITEIRA DA ILHA DE SÃO LUÍS-MA

Vanessa Evangelista de Sousa¹, Danilo Cutrim Bezerra², Nancyleni Pinto Chaves³, Hamilton Pereira Santos⁴ e Hélder de Moraes Pereira⁵

1. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão

2. Médica veterinária, MSc, Universidade Estadual do Maranhão

3. Pós-graduando, Mestrado em Ciências Veterinárias (MCV), Universidade Estadual do Maranhão

4. Médico veterinário, MSc, Professor de disciplina de doenças bacterianas, Universidade Estadual do Maranhão

5. Médico veterinário, Doutor, Professor da disciplina clínica médica e terapêutica de Ruminantes, Departamento das Clínicas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), CEP 65055-970 – São Luís-MA. E-mail: helderpereirap@yahoo.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Doenças infecciosas, ELISA indireto, viroses.

ABSTRACT

PREVALENCE OF NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST BOVINE HERPESVIRUS TYPE 1 (BHV-1) IN DAIRY CATTLE RAISED ON THE ISLAND OF SÃO LUÍS, MARANHÃO

This study assesses the frequency of antibodies against Herpesvirus Type 1 (BHV-1) in dairy cattle raised on the island of São Luís, Maranhão. Blood samples from 156 cows that were not vaccinated against infectious bovine rhinotracheitis (IBR) were analyzed by the indirect ELISA technique. The research was carried out in 16 dairy farms located in 4 different municipalities. Serum samples were collected from females with or without clinical signs of IBR and were stratified according to age band. Results revealed that 67,50% of animals (n=108) were positive for IBR, and seropositivity was evidenced in all 4 municipalities and farms. This is the first report of high incidence of IBR infection on the island of São Luís.

KEYWORDS: Indirect Elisa, infectious diseases, virosis.

INTRODUÇÃO

A rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) é uma das doenças virais mais importantes dos bovinos. O agente etiológico é um vírus, denominado herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1). Este vírus é um importante agente infeccioso que causa perdas significativas na pecuária

bovina. Como todos os herpesvírus, após infecção aguda, o vírus permanece em estado de latência, alojando-se em gânglios nervosos regionais, podendo ser reativado quando os animais são expostos a fatores predisponentes estressantes que diminuem sua resistência imunológica e, com isso, ser excretado infectando outros animais susceptíveis no rebanho (JONES, 2003).

As infecções pelo BHV-1 podem contribuir com reduções consideráveis nos índices de reprodução dos rebanhos infectados. Na dependência do período gestacional e das estruturas envolvidas, a infecção pode determinar mortalidade embrionária precoce e/ou tardia, com repetição de cio a intervalo regular ou irregular, abortamento, natimortalidade e nascimento de bezerros fracos. O aparelho reprodutivo também é bastante susceptível aos efeitos da infecção pelo vírus, podendo ocorrer quadros de balanopostite pustular infecciosa (IPV), vulvovaginite pustular infecciosa (IPV), endometrite, salpingite e ooforite, que apresentam a infertilidade temporária como principal consequência (TAKIUCHI et al. 2005).

O BHV-1 está amplamente distribuído e com alta frequência em rebanhos bovinos de todo o mundo. Evidências sorológicas demonstram a presença, bem como a alta frequência de infecções pelo BHV-1 também nos rebanhos brasileiros. Dados regionais, obtidos a partir de estudos sorológicos, revelam a expressiva disseminação do vírus em rebanhos de corte e leite. No Rio Grande do Sul foram descritas frequências de soragentes de 81,70% (RAVAZZOLO et al. 1989) a 18,80% (LOVATO et al. 1995). TAKIUCHI et al. (2001), verificaram frequência de animais soropositivos para o BHV-1 variando entre 52,4% a 81,7%, em rebanhos não vacinados, provenientes dos estados de São Paulo, Paraná, Rondônia, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás.

Deste modo, considerando-se a importância que a infecção pelo BHV-1 possui nos rebanhos bovinos, principalmente aqueles voltados à exploração leiteira, o trabalho foi realizado com o objetivo de estabelecer a frequência de anticorpos anti-BHV-1 nos rebanhos bovinos da bacia leiteira da Ilha de São Luís, estado do Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na bacia leiteira da Ilha de São Luís (municípios de Paço do Lumiar, São José de Ribamar, São Luís e Raposa). Inicialmente foram realizados sorteios para determinar quais propriedades deveriam ser amostradas. O tamanho amostral determinado foi de 156 animais, utilizando uma expectativa de prevalência de 70%, margem de erro de 3% e um nível de confiança de 95% (STEVENSON, 1981).

Alguns critérios foram considerados por ocasião da escolha das propriedades, entre eles sistema de criação semi-intensivo, condições de manejo e nutrição semelhantes e sem histórico de vacinação anterior para IBR. Com essas características, foi possível selecionar 16 propriedades. Em cada propriedade foi aplicado questionário epidemiológico para obter informações referentes às propriedades e aos animais estudados, como idade, produção de leite/dia, alterações reprodutivas e assistência veterinária.

O sangue foi coletado de fêmeas bovinas pela punção da veia jugular, com agulhas descartáveis e sistema de vácuo, em tubos esterilizados. O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 250 x g, durante 15 min. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em microtubos e estocadas à temperatura de -20°C até o momento do uso. A detecção qualitativa de anticorpos anti-BVDV foi realizada mediante a técnica de ELISA indireto (I-ELISA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo sorológico revelou que 67,50% (n=108) das amostras analisadas apresentaram anticorpos contra o BHV-1. Essa frequência, assemelha-se à observada por MÉDICI et al. (2000) no estado do Paraná com 43,70% de animais reagentes ao BHV-1. Coeficientes menores ou maiores já foram descritos, mas essas diferenças têm sido apontadas como consequência do tipo de população bovina estudada, faixa etária, condições de manejo, técnicas de amostragem e de diagnóstico utilizadas, além das heterogeneidades regionais de cada estudo (LOVATO et al., 1995).

Nos municípios estudados, obtiveram-se frequências de 62,5% (n=25), 65% (n=26), 60% (n=24) e 82,5% (n=33) para Paço do Lumiar, São Luís, São José de Ribamar e Raposa, respectivamente. Das 16 propriedades amostradas, 100% apresentaram animais reagentes ao BHV-1. O percentual de positividade variou de 30% a 100%. Essa variação ocorreu tanto nas propriedades onde houvera aquisição recente de animais como naquelas que não receberam novos bovinos há pelo menos um ano, o que significa que a fonte de infecção deve provavelmente estar dentro das próprias fazendas.

Entre as variáveis abordadas no questionário epidemiológico, algumas propriedades apresentaram dados sugestivos da presença da infecção pelo BHV-1. Quanto à faixa etária foi encontrado maior frequência para animais de três a sete anos de idade, com 43,75% (n=70) de reagentes. Esses resultados são semelhantes e corroboram com os encontrados por MELO et al. (2002), que demonstraram que animais mais velhos têm mais oportunidades de exposição ao agente, em especial quando estes entram na fase reprodutiva.

As maiores frequências de animais reagentes foram encontradas nas propriedades menos tecnificadas, com volume menor (1 a 5 litros de leite/dia) de produção e nos rebanhos com pouco aprimoramento genético.

O abortamento é a manifestação clínica de diversas enfermidades, inclusive da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina. Neste estudo, o histórico de abortamento foi detectado nas 16 propriedades. Esses resultados demonstram que na região estudada esse vírus pode ser o agente etiológico e deve ser incluído no diagnóstico diferencial de problemas reprodutivos.

Não foi informado o nascimento de bezerros fracos, com alterações motoras ou má-formações congênitas em nenhuma das propriedades, no entanto estes nascimentos podem até ter acontecido, porém não tiveram atenção dos proprietários e provavelmente não foram levados ao conhecimento de médico veterinário, já que, apenas 18,75% (n=3) das propriedades tinham a assistência veterinária. No presente estudo, a falta de assistência médica veterinária pode ter refletido especialmente no diagnóstico e na ausência de implantação de programas de controle para IBR.

É importante enfatizar que a infecção pelo BHV-1 apresenta índices elevados na bacia leiteira da Ilha de São Luís, conforme observado pelos coeficientes de frequência apresentados em animais, municípios e propriedades. E, diferentemente de infecções que cursam de forma aguda, por ser um vírus de infecção latente, a soropositividade para o BHV-1 representa a presença do animal portador e potencial disseminador do vírus no rebanho por toda a vida.

Em consequência desta latência e da alta frequência, só se torna economicamente viável a implantação de programas de controle/erradicação, se esses forem baseados na prevenção de novas infecções combinada a remoção gradual de animais infectados e a utilização de vacinas marcadas, que permitem a diferenciação entre animal infectado e vacinado, além de melhoramento nas práticas de manejo do rebanho, como utilização de sêmen livre de BHV-1, reposição de animais livres da doença e quarentena as ingresso de novos animais nas propriedades (VAN WUIJCKHUISE et al., 1998).

CONCLUSÃO

Com este trabalho registra-se a primeira ocorrência de anticorpos contra o BHV-1 na Bacia leiteira da Ilha de São Luís e pode-se concluir que a infecção foi constatada nos rebanhos estudados.

REFERÊNCIAS

- JONES, C. Herpes simplex virus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 16, n. 1, p. 79-95, 2003.
- LOVATO, L. T.; WEIBLEIN, R.; TOBIAS, F. L.; MORAES, M. P. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1): Inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, n. 3, p. 425-430, 1995.
- MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1, decorrentes de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 347-350, 2000.
- MELO, C. B.; LOBATO, Z. I. P.; CAMARGOS, G. N.; SOUZA, N. R. S.; MARTINS & LEITE, R. C. Distribuição de anticorpos para herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 6, p. 575-580, 2002.
- RAVAZZOLO, A. P.; PIZZOL, M. D.; MOOJEN, V. Evidência da presença de anticorpos para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos, em alguns municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Arquivo da Faculdade de Veterinária do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 17, p. 89-95, 1989.
- STEVENSON, W. J. **Estatística aplicada à administração**. São Paulo: Harper e Ron do Brasil, 1981. 485p.
- TAKIUCHI E.; MÉDICI K.C.; ALFIERI A.F.; ALFIERI A.A. Bovine herpesvirus type 1 abortions detected by a semi-nested PCR in Brazilian cattle herds. **Research in Veterinary Science**, London, v. 79, n. 1, p. 85-88, 2005.
- TAKIUCHI, E., ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Herpesvírus bovino tipo 1: Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnóstico. **Ciências Agrárias**, Terezina, v. 22, n. 2, p. 203-209, 2001.
- VAN WUIJCKHUISE, L.; BOSCH, J.; FRANKEN, P.; FRANKENA, K.; ELBERS, A. R. W. Epidemiological characteristics of bovine herpesvirus 1 infections determined by bulk milk testing of all Dutch dairy herds. **Veterinary Record**, London, v. 142, p. 181-184, 1998.

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NA BACIA LEITEIRA DA ILHA DE SÃO LUÍS-MA

Vanessa Evangelista de Sousa¹, Nancyleni Pinto Chaves², Danilo Cutrim Bezerra³, Hamilton Pereira Santos⁴ e Hélder de Moraes Pereira⁵

1. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão

2. Médica Veterinária, MSc, Universidade Estadual do Maranhão

3. Pós-graduando, Mestrado em Ciências Veterinárias (MCV), Universidade Estadual do Maranhão

4. Médico Veterinário, MSc, Prof. da disciplina de doenças bacterianas, Universidade Estadual do Maranhão

5. Médico Veterinário, Doutor, Professor da disciplina clínica médica e terapêutica de Ruminantes, Departamento das Clínicas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), CEP 65055-970 – São Luís-MA. E-mail: helderpereirap@yahoo.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Doenças infecciosas, ELISA indireto, viroses.

ABSTRACT

PREVALENCE OF NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) IN DAIRY CATTLE RAISED ON THE ISLAND OF SÃO LUÍS, MARANHÃO

This study assesses the frequency of antibodies against bovine viral diarrhea virus (BVDV) in dairy cattle raised on the island of Sao Luís, Maranhão. Blood samples from 156 cows that were not vaccinated against BVDV were analyzed by indirect ELISA. The research was carried out in 16 dairy farms located in 4 different municipalities. An epidemiological questionnaire was used during sample collection period to find out which factors could be associated with the infection. Seropositive results were detected in all 4 municipalities and farms. This is the first report of BVDV on the island of São Luís.

KEYWORDS: Indirect Elisa, infectious diseases, virosis.

INTRODUÇÃO

A diarreia viral bovina (BVD) é uma das doenças mais importantes dos bovinos. O agente etiológico é um RNA vírus da família Flaviviridae, gênero Pestivirus, espécies BVD-1 e BVD-2 e biotipos citopatogênico (CP) e não-citopatogênico (NCP). O vírus é altamente

infeccioso e apresenta instabilidade do material genético o que confere variação antigênica, genotípica e biotípica ao vírus (ICTV, 200).

A infecção pelo BVDV pode resultar em grande variabilidade de sinais clínicos associados a enfermidades reprodutiva, respiratória ou digestiva (diarréia viral bovina, BVD), doença das mucosas (DM) e BVD agudo-hemorrágica. Tradicionalmente, as manifestações da infecção são apresentadas em três categorias: infecção pós-natal ou BVD, infecção fetal e doença das mucosas (DM) (BROWNLIE, 1990).

O vírus pode ser transmitido através da saliva, secreções nasal, ocular, urina, fezes, sêmen, embrião, placenta, fômites contaminados e sangue. Os animais se infectam de duas maneiras, pela infecção pós-natal de bovinos que não tiveram exposição prévia ao vírus ou pela infecção fetal durante a gestação. Quando a infecção fetal ocorre entre 90 a 120 dias de gestação produzirá imunotolerância ao vírus e o nascimento de animais persistentemente infectados (PI). Esse animal desenvolverá a doença das mucosas sendo a fonte de infecção mais importante em um rebanho (HOUE, 1999).

Na maioria dos países a BVD é endêmica, com soroprevalência de 50% a 90%, (HOUE, 1999). A infecção pelo BVDV está amplamente difundida no rebanho bovino brasileiro. Isolamentos do vírus foram realizados nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul e nos estados de São Paulo (78%), Rio de Janeiro (71%), Minas Gerais (61%), Goiás (54%), Mato Grosso do Sul (43%), Rio Grande do Sul (73%), Paraná (67%), Bahia (56%), Pernambuco (70%) e Sergipe (64%), os resultados sorológicos comprovam que o vírus está disseminado na população bovina (VIDOR, 1974; DIAS & SAMARA, 2003).

Deste modo, considerando-se a importância que a BVD possui nos rebanhos bovinos, principalmente aqueles voltados à exploração leiteira, o trabalho foi realizado com o objetivo de estabelecer a frequência de anticorpos anti-BVDV nos rebanhos bovinos da bacia leiteira da Ilha de São Luís, estado do Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na bacia leiteira da Ilha de São Luís (municípios de Paço do Lumiar, São José de Ribamar, São Luís e Raposa). Inicialmente foram realizados sorteios para determinar quais propriedades deveriam ser amostradas. O tamanho amostral determinado foi de 156 animais, utilizando uma expectativa de prevalência de 70%, margem de erro de 3% e um nível de confiança de 95% (STEVENSON, 1981).

Alguns critérios foram considerados por ocasião da escolha das propriedades, entre eles sistema de criação semi-intensivo, condições de manejo e nutrição semelhantes e sem

histórico de vacinação anterior para BVD. Com essas características, foi possível selecionar 16 propriedades. Em cada propriedade foi aplicado questionário epidemiológico para obter informações referentes às propriedades e aos animais estudados, como idade, produção de leite/dia, alterações reprodutivas e assistência veterinária.

O sangue foi coletado de fêmeas bovinas pela punção da veia jugular, com agulhas descartáveis e sistema de vácuo, em tubos esterilizados. O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 250 x g, durante 15 min. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em microtubos e estocados à temperatura de -20°C até o momento do uso. A detecção qualitativa de anticorpos anti-BVDV foi realizada mediante a técnica de ELISA, conforme descrito por Howard et al. (1985) utilizando o reagente (CHEKIT BVD – SERO - Dr. BOMMELI AG / Liebefeld – Bern – Swiss) comercial de ELISA indireto (I-ELISA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo sorológico revelou que 67,30% (n=105) das amostras analisadas apresentaram anticorpos anti-BVDV. Essa frequência, por sua vez, está de acordo com as estimativas de prevalência de anticorpos que varia entre 50% a 90% (BROWNLIE, 1990; HOUE, 1999). Ao contrário das afirmações feitas por muitos profissionais ligados à pecuária bovina, que a BVD é uma doença exótica e que não ocorre no Brasil, o estudo realizado mostra o contrário.

Nos 16 municípios estudados, 100% apresentaram pelo menos dois animais reagentes. Esses resultados diferem dos encontrados por VIEIRA et al. (1999), que ao analisar amostras de 23 municípios de Goiás, detectaram que 52% (n=15) destes apresentaram amostras reagentes. Essa variação pode estar relacionada a questões regionais, tipo de exploração e idade dos animais utilizados no estudo.

Das 16 propriedades amostradas, 100% apresentaram animais reagentes ao BVDV, resultados semelhantes foram encontrados por RICHTZEINHAIN (1997) em pesquisa realizada no estado de São Paulo. Reforçam esses resultados as observações feitas por NETTLETON & ENTRICAN (1995), em que teoricamente todos os rebanhos bovinos estão infectados com BVDV. O percentual de positividade variou de 20% a 100%. Essa variação ocorreu tanto nas propriedades onde houvera aquisição recente de animais como naquelas que não receberam novos bovinos há pelo menos 01 ano, o que significa que a fonte de infecção deve provavelmente estar dentro das próprias fazendas.

Entre as variáveis abordadas no questionário epidemiológico, algumas propriedades apresentaram dados sugestivos da presença da infecção pelo BVDV. Quanto à faixa etária

foi encontrado maior frequência para animais de três a sete anos de idade, com 62% (n=39,74) de reagentes. Situação semelhante foi observada por CASTRO et al. (1993), no estado de Pernambuco. Isto pode ser atribuído ao fato destes animais estarem no pico das atividades produtiva e reprodutiva, tornando-os susceptíveis a enfermidades de etiologias diversas.

As maiores frequências de animais reagentes foram encontradas nas propriedades menos tecnificadas, com volume menor (1-5 litros de leite/dia) de produção e nos rebanhos com pouco aprimoramento genético. SAMARA et al. (2004), concluem que as maiores frequências de animais reagentes para BVDV são encontradas nos rebanhos menos tecnificados corroborando com os resultados do presente estudo.

A alteração reprodutiva mais frequente (abortamento) foi detectada nas 16 propriedades, porém não foi informado o nascimento de bezerros débeis, com alterações motoras ou más-formações congênitas em nenhuma das propriedades. No entanto estes nascimentos podem até ter acontecido, porém não tiveram atenção dos proprietários e provavelmente não foram levados ao conhecimento de médico veterinário, já que, apenas 18,75% (n=3) das propriedades tinham a assistência veterinária. No presente estudo, a falta de assistência médica veterinária pode ter refletido especialmente no diagnóstico e na ausência de implantação de programas de controle para BVD.

Portanto, de modo geral, os resultados obtidos neste estudo reforçam que a BVD consiste em mais um problema com o qual os pecuaristas brasileiros têm de conviver. Tanto é que FREDRIKSEN et al. (1998) afirmaram que depois da mastite, é a BVD que causa as maiores perdas econômicas nos rebanhos leiteiros em muitos países. Adotar medidas de controle, identificar animais PI, e o uso da vacinação pode ser o meio mais vantajoso para controlar essa situação, conforme afirmação de DEREKT & LOEWEN (1995), porém é importante ressaltar que essas vacinas nem sempre são eficazes. Isso porque existe o agravante de que algumas estirpes isoladas no Brasil são pouco neutralizadas pelos anticorpos contra estirpes de referência internacional usadas nas vacinas comerciais.

O pouco conhecimento que muitos profissionais têm sobre a importância da doença, associado à alta prevalência de animais soropositivos, pode aumentar a probabilidade da disseminação da infecção entre os rebanhos, o que reforça a necessidade da implantação de programas de controle. Esses programas devem iniciar basicamente com a difusão da informação sobre as consequências da doença, nos procedimentos racionais de identificação da presença e na magnitude do problema.

CONCLUSÕES

Com este trabalho registra-se a primeira ocorrência de anticorpos anti-BVDV na Bacia leiteira da Ilha de São Luís e pode-se concluir que a infecção foi constatada nos rebanhos estudados e as maiores frequências de animais reagentes quanto à presença de anticorpos contra o BVDV foram encontradas principalmente nos rebanhos mais simples e menos tecnificados.

REFERÊNCIAS

- BROWNLIE, J. The pathogenesis of bovine viral diarrhea virus infections. **Revue Scientifique et Technique**, Office International des Epizooties, v.9, p.43-59, 1990.
- CASTRO, R. S.; MELO, L. E. H.; ABREU, S. R. O.; MUNIZ, A. M. M.; ALBUQUERQUE, A. P. S. Anticorpos neutralizantes contra pestivirus em soros bovinos do estado do Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 11, p. 1327-1331, 1993.
- DEREGT, D.; LOEWEN, K. G. Bovine viral diarrhea virus - biotypes and disease. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 36, n. 6, p. 371-378, 1995.
- DIAS, F. C.; SAMARA, S.I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 161-168, 2003.
- FREDRIKSEN, B.; ODEGAARD, S. A.; LOKEN, T. The effect of bovine virus diarrhoea virus on reproduction in recently infected Norwegian dairy herds. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 39, n. 1, p. 99-108, 1998.
- HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 64, p. 89-107, 1999.
- HOWARD, C. J.; CLARKE, M. C.; BROWNLIE, J. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to bovine viral diarrhea virus (BVDV) in cattle sera. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 10, p. 359-369, 1985.
- ICTV. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2000.
- NETTLETON, P. F.; ENTRICAN, G. Ruminant pestiviruses-review. **British Veterinary Journal**, London, v. 151, n. 6, p. 615-642, 1995.
- RICHTZEINHAIN, L. J. Em busca de respostas. **Revista dos Criadores**, n. 808, p. 40, 1997.

SAMARA, S. I.; DIAS.; F. C.; MOREIRA.; S. P. G. Ocorrência da diarreia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, p.396-40, 2004.

STEVENSON, W. J. **Estatística aplicada à administração**. São Paulo: Harper e Ron do Brasil, 1981. 485p.

VIDOR, T. Isolamento e identificação do vírus da doença das mucosas no Estado do Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, Porto Alegre, p. 51-58, 1974.

VIEIRA, S.; DIAS F, F. C.; QUEIRÓZ, D. A. O.; BRITO, W. M. E. D. Seroepizootiological study on bovine herpesvirus-1 (BHV-1) and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in cattle from Goiás, Brazil. **Journal of the Brazilian Society for Virology**, v.4, p.58, 1999. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, X, 1999, Curitiba. **Resumos...** Curitiba, PR: Sociedade Brasileira de Virologia, 1999. p. 58

FREQUÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NAS REGIONAIS DE BACABAL E PEDREIRAS, ESTADO DO MARANHÃO

Nancyleni Pinto Chaves¹, Danilo Cutrim Bezerra², Francisco Borges Costa², Vanessa Evangelista de Sousa³, Hamilton Pereira Santos⁴ e Hélder de Moraes Pereira⁵

1. Médica Veterinária, MSc, Universidade Estadual do Maranhão

2. Pós-graduando, Mestrado em Ciências Veterinárias (MCV), Universidade Estadual do Maranhão

3. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão

4. Médico Veterinário, MSc, Professor de disciplina de doenças bacterianas, Universidade Estadual do Maranhão

5. Médico Veterinário, Doutor, Professor da disciplina clínica médica e terapêutica de Ruminantes, Departamento das Clínicas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), CEP 65055-970 – São Luís-MA. E-mail: helderpereirap@yahoo.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Anticorpos, doenças infecciosas, ELISA indireto.

ABSTRACT

FREQUENCY AND FACTORS ASSOCIATED WITH BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) INFECTION IN DAIRY CATTLE RAISED IN THE MUNICIPALITIES OF BACABAL AND PEDREIRAS, MARANHÃO

This study assesses the frequency and factors associated with antibodies against bovine viral diarrhea virus (BVDV) in the municipalities of Bacabal and Pedreiras, Maranhão. Blood samples from 360 cows that were not vaccinated against BVDV were analysed by indirect ELISA. The research was carried out in 36 dairy farms located in 9 municipalities. An epidemiological questionnaire was used during sample collection period to find out which factors could be associated with infection. Results revealed that 69,44% (n=250) of animals were positive for BVDV. As regards regional samples, there was a frequency of 59,20% (n=148) in Bacabal and 40,80% (n=102) in Pedreiras. Seropositivity was evidenced in all 9 municipalities and in 91,66% (n=33) of farms. The variables considered as risk factors for BVDV infection were not significantly associated with BVDV seropositivity. This is the first report of high incidence of BVDV infection in Bacabal and Pedreiras.

KEYWORDS: Antibodies, indirect Elisa, infectious diseases

INTRODUÇÃO

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é o agente etiológico da diarreia viral bovina (BVD), enfermidade altamente contagiosa que, na fase aguda da doença, apresenta potencial imunodepressor. A importância econômica dessa virose está diretamente relacionada aos aspectos produtivos e reprodutivos, que podem incluir queda na produção de leite, decréscimo na taxa de concepção, abortamento, mumificação fetal, nascimento de bezerros fracos e aumento da taxa de mortalidade neonatal (HOUE, 1999).

Tanto em rebanhos bovinos de corte quanto de leite o BVDV está associado a várias manifestações clínicas como problemas reprodutivos e entéricos e/ ou respiratórios. A infecção fetal com amostras não citopatogênicas (NCP) entre os dias 90 a 120 de gestação frequentemente resulta na produção de bezerros PI, que constituem o principal fator de disseminação natural do vírus no rebanho e por isso constituem-se no alvo principal de medidas de combate do agente (BROWNLIE, 1990).

Na maioria dos países a BVD é endêmica, com soroprevalência de 50% a 90%, (HOUE, 1999). A infecção pelo BVDV está amplamente difundida no rebanho bovino brasileiro. Isolamentos do vírus foram realizados nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul e nos estados de São Paulo (78%), Rio de Janeiro (71%), Minas Gerais (61%), Goiás (54%), Mato Grosso do Sul (43%), Rio Grande do Sul (73%), Paraná (67%), Bahia (56%), Pernambuco (70%) e Sergipe (64%), os resultados sorológicos comprovam que o vírus está disseminado na população bovina destes estados (FLORES et al., 2005).

Deste modo, considerando-se a importância que a BVD possui nos rebanhos bovinos, principalmente aqueles voltados à exploração leiteira, o trabalho foi realizado com o objetivo de conhecer a situação epidemiológica da infecção pelo BVDV nos rebanhos bovinos de aptidão leiteira das regionais de Bacabal e Pedreiras, por meio da determinação da frequência e de possíveis fatores de risco associados a essa enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nas regionais de Bacabal (municípios de Bacabal, Bom Lugar, Lago Verde, Olho d'Água das Cunhas e São Luís Gonzaga) e Pedreiras (municípios de Bernardo do Mearim, Igarapé Grande, Pedreiras e Trizidela do Vale), integrantes da bacia leiteira do estado do Maranhão. Inicialmente foram realizados sorteios para determinar quais propriedades deveriam ser amostradas. O tamanho amostral determinado foi de 360 animais, utilizando uma expectativa de prevalência de 70%, margem de erro de 3% e um nível de confiança de 95% (STEVENSON, 1981).

Alguns critérios foram considerados por ocasião da escolha das propriedades, entre eles sistema de criação semi-intensivo, condições de manejo e nutrição semelhantes e sem histórico de vacinação anterior para BVD. Com essas características, foi possível selecionar 36 propriedades, sendo, 20 da regional de Bacabal e 16 da regional de Pedreiras.

Em cada propriedade foi aplicado questionário epidemiológico para obter informações referentes às propriedades, animais estudados e fatores eventualmente associados à infecção pelo BVDV, como idade, tipo de ordenha, produção de leite/dia, assistência veterinária reprodução e alterações reprodutivas. Para o estudo da associação entre a soropositividade e as variáveis analisadas, foi utilizado o teste exato de Fisher, com 95% de confiança, para verificar diferença significativa entre as observações.

O sangue foi coletado de fêmeas bovinas pela punção da veia jugular, com agulhas descartáveis e sistema de vácuo, em tubos esterilizados. O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 250 x g, durante 15 min. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em microtubos e estocados à temperatura de -20°C até o momento do uso. A detecção qualitativa de anticorpos anti-BVDV foi realizada mediante a técnica de ELISA, conforme descrito por HOWARD et al. (1985) utilizando o reagente (CHEKIT BVD – SERO - Dr. BOMMELI AG / Liebefeld – Bern – Swiss) comercial de ELISA indireto (I-ELISA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo sorológico revelou que 69,44% (n=250) das amostras analisadas apresentaram anticorpos anti-BVDV. Valor que está de acordo com as estimativas de prevalência de anticorpos na população bovina adulta, que varia de 50 a 90% (BROWNLIE, 1990; HOUE, 1999). Nas regionais estudadas, Bacabal obteve frequência de 59,20% (n=148) e Pedreiras de 40,80% (n=102) de animais reagentes. As frequências encontradas por regional apresentaram valores próximos aos encontrados por GUIMARÃES et al. (2000), com 47,83% de reagentes no estado de Goiás e QUINCOZES et al. (2007) com 66,32%, no estado do Rio Grande do Sul.

Nos 09 municípios estudados, 100% tiveram animais reagentes. Das 36 propriedades amostradas, 91,66% (n=33) apresentaram pelo menos um animal reagente, esta frequência corrobora com os achados de DIAS & SAMARA (2003), no estado de Minas Gerais e noroeste do estado de São Paulo. Apenas 8,34% (n=03) propriedades não apresentaram amostras reagentes. A frequência de bovinos reagentes para o BVDV por propriedade variou de 0 a 100%, essa variação ocorreu tanto nas propriedades onde houvera aquisição recente

de animais como naquelas que não receberam novos bovinos há pelo menos 01 ano, o que significa que a fonte de infecção deve provavelmente estar dentro das próprias fazendas.

Quanto à faixa etária foi encontrado maior frequência para animais três a sete anos de idade, com 41,94% (n= 151) de reagentes. Situação semelhante foi observada por CASTRO et al. (1993), no estado de Pernambuco. Isto pode ser atribuído ao fato destes animais estarem no pico das atividades produtiva e reprodutiva, tornando-os susceptíveis a enfermidades de etiologias diversas.

Entre as variáveis abordadas no questionário epidemiológico, algumas propriedades apresentaram dados sugestivos da presença da infecção pelo BVDV, bem como prováveis fatores de risco para a infecção no rebanho.

Em relação ao tipo de ordenha verificou-se que 100% (n=36) das propriedades realizavam ordenha manual, já a variável produção de leite/vaca mostrou maior frequência de reagentes nas propriedades com produção de 1 a 5 litros de leite (58,61%), entretanto, não houve associação significativa destas duas variáveis ($P>0,05$) com a ocorrência da infecção. SAMARA et al. (2004), concluem que as maiores ocorrências de animais reagentes ao BVDV são encontradas nos rebanhos menos tecnificados corroborando com os resultados do estudo.

Em relação à assistência médica veterinária, verificou-se que nenhuma das propriedades utilizava assistência técnica. No presente estudo, a ausência de “assistência veterinária” não foi considerada fator de risco para BVDV, entretanto, a falta de assistência pode ter refletido especialmente no diagnóstico e na ausência de implantação de programas de controle para BVD.

Todas as propriedades utilizavam somente monta natural como forma de reprodução. FRAY et al. (2000) observaram que o sêmen de reprodutores cursando a forma aguda da doença pode se tornar fonte transitória de infecção. Acerca do histórico de sinais reprodutivos e abortamento nas propriedades estudadas, verificou-se que 100% das propriedades apresentavam alterações reprodutivas.

Os resultados do estudo são preocupantes, já que se trata de uma região onde as propriedades não adotam vacinação contra BVD em seu manejo sanitário; os anticorpos, portanto, não são de origem vacinal. De modo geral, os dados obtidos no estudo reforçam que a BVD é mais um problema sanitário com o qual os pecuaristas têm de conviver. Adotar medidas de controle, como a identificação de animais PI seria uma alternativa viável para alguns rebanhos. A vacinação pode ser o meio mais vantajoso para controlar essa situação, porém é importante ressaltar que as vacinas nem sempre são eficazes. Isso porque existe o agravante de algumas estirpes isoladas no Brasil serem pouco neutralizadas pelos anticorpos

contra estirpes de referência internacional usadas nas vacinas comerciais (VAN OIRSCHOT et al., 1999).

O pouco conhecimento que muitos profissionais têm sobre a importância da doença, associado à alta prevalência de animais reagentes, pode aumentar a probabilidade da disseminação da infecção entre os rebanhos, o que reforça a necessidade da implantação de programas de controle.

CONCLUSÕES

Com este trabalho registra-se a primeira ocorrência de anticorpos anti-BVDV nas regionais de Bacabal e Pedreiras, e pode-se concluir que, a frequência de anticorpos anti-BVDV nesta região foi alta e os fatores de risco analisados não apresentaram associação estatística significativa para a infecção.

REFERÊNCIAS

BROWNLIE, J. The pathogenesis of bovine viral diarrhoea virus infections. **Revue Scientifique et Technique**, Office International des Epizooties, v. 9, p. 43-59, 1990.

CASTRO, R. S.; MELO, L. E. H.; ABREU, S. R. O.; MUNIZ, A. M. M.; ALBUQUERQUE, A. P. S. Anticorpos neutralizantes contra pestivirus em soros bovinos do estado do Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 11, p. 1327-1331, 1993.

DIAS, F.C.; SAMARA, S.I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 161-168, 2003.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P. M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. A infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) no Brasil - Histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3 p. 125-134, 2005.

FRAY, M. D.; PATON, D. J.; ALENIUS, S. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60-61, p. 615-627, 2000.

GUIMARÃES, P. L. S. N.; CHAVES, N. S. T.; SILVA, L. A. F.; ACYPRESTE, C. S. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina em bovinos do entorno de Goiânia, em regime de criação semi-extensivo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 1, n. 2, p. 137-142, 2000.

HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 64, p. 89 – 107, 1999.

HOWARD, C.J.; CLARKE, M.C.; BROWNLIE, J. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in cattle sera. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.10, p.359-369, 1985.

QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G.; HUBNER, S. O.; VARGAS, G. D'AVILA.; VIDOR, T.; BROD, C. S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Ciências Agrárias**, Teresina, v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.

SAMARA, S. I.; DIAS.; F. C.; MOREIRA.; S. P. G. Ocorrência da diarréia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, p. 396-40, 2004.

STEVENSON, W. J. **Estatística aplicada à administração**. São Paulo: Harper e Ron do Brasil, 1981. 485p.

VAN OIRSCHOT, J. T.; BRUSCHKE, C. J.; VAN RIJN, P. A. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 64, p. 169-183, 1999.

OCORRÊNCIA DA TUBERCULOSE EM REBANHO BOVINO DE UMA PROPRIEDADE DO MUNICÍPIO DE SANTA RITA, MARANHÃO, BRASIL

Helder de Moraes Pereira¹, Hamilton Pereira Santos², Danilo Cutrim Bezerra³ e Denise Porto Pereira⁴,

1. Médico veterinário, MSc, Dr., Prof. do Curso de Medicina Veterinária, Universidade estadual do Maranhão .

2. Médico veterinário, MSc, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade estadual do Maranhão.

E-mail: hpsluiza@yahoo.com.br (autor correspondente).

3. Médico Veterinário, Mestrando em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão.

4. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão.

PALAVRAS-CHAVE: *Mycobacterium bovis*, ruminante, tuberculinização

ABSTRACT

OCCURRENCE OF TUBERCULOSIS IN CATTLE RAISED IN THE MUNICIPALITY OF RITA, MARANHÃO, BRAZIL

Bovine tuberculosis is a chronic debilitating disease caused by *Mycobacterium bovis* and can also infect humans. An important step against it is to determine its frequency in herds. This study assesses the occurrence of bovine tuberculosis in a farm located in the municipality of Santa Rita, Maranhão, Brazil. We evaluated 264 dairy cows, of which 43 were Gir breed and 221 were Girolando breed. The method used was the comparative cervical tuberculin test (CCT). Results revealed that 6,06% were suspect cases and 12,12% of animals were positive, which were most frequent in Girolando breed (11,74%). As regards age, there was a higher incidence of positivity (5,68%) as well as suspect cases (4,54%) among females with more than 7 years old, although tuberculosis was detected in all age groups. Therefore, the prevalence of bovine tuberculosis in this region was higher than the national average.

KEYWORDS: *Mycobacterium bovis*, ruminant, tuberculosis test.

INTRODUÇÃO

A tuberculose bovina é considerada uma zoonose infecto-contagiosa de caráter crônico, caracterizada pela formação de granulomas específicos, denominados tubérculos e destaca-se por assumir caráter de doença profissional, mais freqüente entre os indivíduos que têm contato direto com animais infectados ou com produtos provenientes destes, como é o

caso de veterinários, laboratoristas, tratadores e magarefes (OLIVEIRA et al., 2007). De acordo com GRANGE & YATES (1994) o seu agente etiológico é o *Mycobacterium bovis*, microrganismo pertencente à ordem *Actinomycetales* e à família *Mycobacteriaceae*.

Observa-se que casos de tuberculose são relatados desde as primeiras civilizações e são inúmeras as referências que datam anteriormente à era bacteriana sobre a ingestão de carne dos animais enfermos como possível fonte de transmissão da tuberculose (SOUZA et al., 2005). Apesar disso, pastos e alimentos contaminados são de menor importância na transmissão da doença, pois o bacilo pode ser eliminado pela respiração, leite, fezes, pelo corrimento nasal, urina, secreções vaginais e uterinas e pelo sêmen; e quando o bovino é infectado, pode transmitir a doença aos outros, mesmo antes do desenvolvimento das lesões nos tecidos. A transmissão intra-uterina e pelo coito são menos comuns e a transplacentária é considerada muito rara ou inexistente em bovinos (NEIL et al., 1994; AZEVEDO & MORAIS, 2003).

Os sinais clínicos somente serão evidentes na doença quando já em fase avançada, entretanto, bovinos com lesões extensas podem apresentar bom estado de saúde. À medida que a doença progride, a perda da condição física torna-se evidente (BRASIL, 2006). Outros sinais que alguns animais podem apresentar são: perda de peso, debilidade, anorexia, caquexia, sinais respiratórios, apetite seletivo e temperatura oscilante (RADOSTITS et al., 2002).

Quanto aos prejuízos, a doença pode acarretar perdas de 10% a 25% à cadeia produtiva de leite e carne. Os problemas que causa ao comércio internacional, à saúde pública e à pecuária assumem grande importância principalmente nos países em desenvolvimento, onde a prevalência da doença é maior (WEDLOCK et al., 2002).

No Brasil, a tuberculose bovina está disseminada por todo o território nacional, porém a sua ocorrência e distribuição regional não estão bem caracterizadas (BRASIL, 2001). OLIVEIRA (2007) encontrou no Município de Mossoró prevalência de 8,66%, já BATISTA (2004), descreveu 8,7% no estado de Minas Gerais.

O diagnóstico pode ser feito *in vivo*, por meio de exame clínico e o teste de tuberculinização, que é obrigatório para a produção de leite e comercialização de animais. Após a morte pode ser realizados exame histopatológico e bacteriológico (ROXO, 1997).

Considerando a importância da enfermidade em questão como zoonose, o que representa grande preocupação com a saúde pública, e aliada à escassez de dados sobre a ocorrência da tuberculose, objetivou-se estimar a frequência da tuberculose bovina em uma propriedade do município Santa Rita - MA.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no município de Santa Rita, Maranhão, que possui uma área de 786 km² e população de 30.882 pessoas (IBGE, 2007).

Foram testados 264 bovinos, fêmeas e utilizadas para produção leiteira. O rebanho era constituído de animais das raças Gir (n=43) e Girolanda (n=221) que foram distribuídos em faixas etárias de zero a três anos (n=119), quatro a sete anos (n=57) e mais de sete anos (n=88). Estes animais foram submetidos à prova de tuberculinização comparativa (BRASIL, 2006), sendo empregada a tuberculina PPD aviária e PPD bovina, na concentração de 1 mg de proteína por mL (32.500 UI) e 0,5 mg de proteína por mL (25.000 UI) por dose, respectivamente. A aplicação das tuberculinas foi intradérmica, sendo a aviária anterior à PPD bovina em locais previamente tricotomizados, cerca de 20 cm distante um do outro. Foram usadas seringas com dose automática de 0,1 mL.

A leitura foi realizada 72 horas após a inoculação, baseando-se nas recomendações de interpretação da tuberculinização para bovinos. A mensuração foi feita com o cutímetro, instrumento utilizado para medir a área da reação alérgica. A reação cutânea foi quantificada pela diferença de mensuração antes e no ato da leitura. Foram considerados positivos animais que após tuberculinização apresentaram espessura superior a 4 mm (LANGENEGGER et al., 1981).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 264 animais examinados, 32 (12,12%) apresentaram reações positivas ao teste cervical comparativo e 16 (6,06%) reações inconclusivas, sendo classificados como suspeitos. O maior percentual de positivos foi observado na raça Girolanda, com 11,74% (n=31) quando comparado ao encontrado na raça Gir, sendo, apenas 0,37% (n=01) foi positivo. Estes valores estão bem acima da média nacional de 1,3%, segundo dados de notificações oficiais de animais reagentes à tuberculina no período de 1989 a 1998 (BRASIL, 2006). Segundo ROXO (1997), a incidência da tuberculose é maior em rebanhos leiteiros quando comparado com gado de corte, e esta alta frequência pode estar relacionada ao fato de o rebanho analisado ser leiteiro.

A prevalência também foi elevada em Mossoró, RN, sendo descrito 8,66% e 3,33% para 150 vacas leiteiras testadas por meio do teste da prega caudal e 120 bovinos pelo teste da tuberculinização cervical comparada, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2007).

No município de Ilhéus, BA, a prevalência da tuberculose foi de 2,8% em fêmeas bovinas com idade acima de 24 meses. O diagnóstico foi feito por meio do teste intradérmico cervical comparativo em 916 animais (RIBEIRO et al., 2003). Já em trabalho realizado em quatro municípios do sudoeste paranaense foram testados 13.214 animais por meio do teste cervical simples e a prevalência de tuberculose foi de 0,098%, inferior à média nacional (SABEDOT et al., 2009). Estes dados diferem consideravelmente dos descritos nesta pesquisa, o que demonstra o risco epidemiológico que a propriedade representa.

Com relação à idade, o maior número de animais positivos foi encontrado entre aqueles que possuíam mais de sete anos, com um total de 15 bovinos (5,68%) do total testado. Foram identificados animais positivos em todas as faixas etárias, com oito positivos (3,03%) e quatro suspeitos (1,51%) na faixa etária de quatro a sete anos, e nove positivos (3,40%) e nenhum suspeito na de zero a três. A segunda maior percentagem quanto à faixa etária foi observada entre os animais mais jovens (zero a três anos), que podem ter adquirido a infecção através do leite contaminado das fêmeas adultas (MANGONI, 2009).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que a tuberculose é uma enfermidade relevante na propriedade testada, pois se encontra amplamente disseminada no rebanho leiteiro.

Faz-se necessária rápida aplicação de medidas que visem o controle e erradicação da doença.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, P. R. A.; MORAIS M. V. T. Enfermidades em gado de leite. **Leite e Derivados**, v.3, n. 74, p. 36-45, 2003.

BAPTISTA, F.; MOREIRA, E. C.; SANTOS, W. L. M.; NAVEDA, L.A.B. Prevalência da tuberculose em bovinos abatidos em Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 5, p.557-580, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento de Defesa Animal (DDA). **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)**, a. Brasília: Ministério da Agricultura, 2001. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 20 de abril de 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento de Defesa Animal (DDA). **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)**, b. Brasília:

Ministério da Agricultura, 2006. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 03 de maio de 2009.

GRANGE, J. M.; YATES, M. D. Zoonotic aspects of *Micobacterium bovis* infection. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 40, p. 137-151, 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) 2007. Banco de dados agregados. Disponível em: <HTTP://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo>. Acesso em 15/06/09.

LANGENEGER, J.; et al. Reações inespecíficas no diagnóstico alérgico da tuberculose bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 4, p. 145-149, 1981.

MANGONI, J. Ocorrência de tuberculose e de brucelose em rebanhos da região Sudoeste do Paraná. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 7, n. 12, 2009.

NEIL, S. D. et al.; Pathogenesis of *Micobacterium bovis* infection in cattle. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 40, n. 1-2, p. 41-52, 1994.

OLIVEIRA, I. A. S.; MELO, H. P. C.; CÂMARA, A.; DIAS, R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Prevalência de tuberculose no rebanho bovino de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 395-400, 2007.

RADOSTITS, O. M.; GA Y, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos e eqüinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 817-827, 2002.

RIBEIRO A. R. P.; LOBATO F. C. F.; ABREU V. L. V.; FARIA E. S.; SILVA J. A. Prevalência de tuberculose e brucelose bovina no município de Ilhéus. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 1, p. 120-122, 2003.

ROXO, E. *Mycobacterium bovis* como causa de zoonose. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, Araraquara, v. 18, p. 101-108, 1997.

SABEDOT, M. A.; BOETCHER, A. V.; POZZA, M. S. S.; BUSANELLO, M.; MARTINS, S. da C. **Pesquisa de bacilo álcool ácido resistente em cortes histológico de lesões sugestiva de tuberculose em bovinos**. 2004. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

SOUZA, W. V. et al. Tuberculose no Brasil: Construção de um sistema de vigilância de base territorial. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 82-89, 2005.

WEDLOCK, D. N.; SKINNER M. A.; DE LISTE, G. W.; BUDDLE, B. M. Control of *Mycobacterium bovis* infections and the risk to human populations. **Microbes and Infection**, Paris, v. 4, p. 471-480, 2002.

PREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA EM BOVINOS LEITEIROS CRIADOS NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA – PARANÁ

Ivan Roque de Barros Filho¹; Alessandra Klas Guimarães²; Alexander Welker Biondo¹, Ernesto Renato Krüger⁴, Evelyn Vieira Wammes²; Rudiger Daniel Ollhoff⁵; Christine Hauer Piekarz⁶; Daniella Sponchiado³

1-Departamento de Medicina Veterinária – Universidade Federal do Paraná – Rua dos Funcionários 1540 – 80035-050 Curitiba PR –E-mail: ivanbarf@ufpr.br (autor correspondente)

2-Acadêmicos Curso de Medicina Veterinária – Universidade Federal do Paraná - Curitiba

3- Curso de Medicina Veterinária - Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina

4- Médico Veterinário do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti , Curitiba

5-Professor Titular da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Campus São José dos Pinhais

6-Universidade Federal do Paraná - Litoral

PALAVRAS-CHAVE: Doenças infecciosas, soroprevalência, virose.

ABSTRACT

PREVALENCE OF ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS IN DAIRY CATTLE FROM CURITIBA, PARANÁ

Enzootic bovine leukosis (EBL) is an infectious, contagious disease caused by bovine leukemia virus (BLV), which is an oncogenic retrovirus of the family *Retroviridae*. This study evaluates the prevalence of BLV in dairy cattle raised in Curitiba and its surrounding areas. A total of 268 serum samples were collected from five different herds in the municipalities of São José dos Pinhais, Campina Grande do Sul, Pinhais, and Fazenda Rio Grande. An immunodiffusion (ID) test revealed that 151 (56,34%) animals were positive and 117 (43,66%) were negative.

KEYWORDS: Infectious disease, seroprevalence, virosis.

INTRODUÇÃO

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma doença comum em bovinos, prevalente em diversos estados do Brasil e no mundo (BIRGEL JUNIOR et al., 2006). É causada por um vírus da família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae* e do gênero *Deltaretrovirus* (MURPHY et al., 1999).

Os rebanhos leiteiros apresentam uma maior prevalência da LEB devido ao constante manejo intensivo, pois a principal forma de transmissão é a horizontal, em especial a iatrogênica pelo uso de fômites contaminados, agulhas, instrumento cirúrgicos e até mesmo pela palpação retal (JOHNSON & KANEENE, 1992).

A doença pode vir a se manifestar de três formas: a aleucêmica (presença de anticorpos), a de linfocitose persistente e a de desenvolvimento de linfossarcomas. Entre 1% a 5% dos bovinos soropositivos desenvolvem o linfossarcoma, forma mais comum de neoplasia do gado leiteiro e 30% desenvolvem linfocitose persistente (FERRER et al., 1979).

Essa enfermidade gera perdas econômicas com perda da produção leiteira devido ao descarte de bovinos soropositivos ou com linfossarcoma (D'ANGELINO, 1991). A maior incidência dos tumores ocorre de quatro a oito anos de idade, tendo uma mortalidade em torno de 10% a 15%. Os animais acometidos são descartados mais cedo devido a outros transtornos, tais como infertilidade e queda na produção de leite, pois os órgãos e sistemas são atingidos com o desenvolvimento do linfossarcoma originando problemas circulatórios, respiratórios, digestivos, reprodutivos, urinários e neurológicos (BRAGA et al., 1998; SILVA et al., 2008).

O primeiro reconhecimento científico da leucose enzoótica dos bovinos (LEB), no Brasil, ocorreu em 1959 (MERKT et al., 1959; SANTOS et al., 1959). No estado do Paraná, o primeiro registro da doença aconteceu duas décadas mais tarde, com achados anatomopatológicos de necropsias em bovinos (DINIZ et al., 1979).

O primeiro estudo de prevalência leucose enzoótica bovina em rebanhos leiteiros no estado do Paraná foi feito por KANTEK e colaboradores em 1983. Muitos trabalhos foram realizados em vários estados do Brasil para identificação da LEB, com uma média da prevalência da enfermidade no país de 27,6%, sem considerar a raça dos animais testados (DEL FAVA & PITUCO, 2003; BIRGEL JUNIOR et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi detectar a prevalência de bovinos leiteiros sororreagentes para o vírus da leucemia bovina (VLB), criados na região metropolitana de Curitiba-PR, usando o método de diagnóstico de imunodifusão em gel de agar.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de soro sanguíneo de 268 bovinos leiteiros, de cinco propriedades dos municípios de Pinhais, São José dos Pinhais, Campina Grande do Sul e Fazenda Rio Grande, todos situados na região metropolitana de Curitiba, foram colhidas no ano de 2007.

A colheita das amostras sanguíneas foi realizada com agulhas 40x12 por punção da veia jugular de animais jovens (um a doze meses de idade) ou veia coccígea dos animais maiores que doze meses. O sangue foi armazenado em tubos com a capacidade de 10 ml, estes mantidos a temperatura ambiente de 3 a 4 horas para facilitar a retração do coágulo, posteriormente foram centrifugados por 15 minutos com uma velocidade de 1000G, procedimento realizado no Laboratório de Análises Clínicas da UFPR em Curitiba. O soro

obtido pela centrifugação foi separado em três alíquotas de 1,5mL por uma micropipeta e armazenadas em tubos Eppendorf a -20°C até a realização da prova de IDGA.

A pesquisa de anticorpos séricos anti-VLB foi realizada no Laboratório de Virologia do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, pela prova de imunodifusão em gel de agar (IDGA), segundo a metodologia padronizada por MILLER; VAN DER MAATEN (1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 268 bovinos analisados na região metropolitana de Curitiba o valor absoluto e relativo de animais positivos e negativos para o vírus da leucose bovina pela prova de IDGA foram respectivamente, 151(56,34%) e 117 (43,66%).

Outros trabalhos sobre a prevalência da leucose enzoótica bovina no Estado do Paraná já foram realizados. Recentemente SPONCHIADO (2008) relatou a prevalência de 49,04% em bovinos da raça Holandesa Preta e Branca criados em diversas regiões do estado. KANTEK et al. (1983), portanto, há cerca de 25 anos, encontraram 20,7% de bovinos leiteiros soropositivos no Paraná. Analisando-se os dois trabalhos, a população estudada foi bastante semelhante e observa-se um aumento pronunciado de bovinos soropositivos. Outro estudo publicado por CARVALHO et al. (1996) na região de Londrina, com bovinos da raça Holandesa Preta e Branca mostrou a prevalência de 18,4%. Em 2003, LEUZZI JR. et al., no norte do Paraná, também com bovinos leiteiros, chegou ao valor de 40,7% de animais soropositivos. Quando se confronta os resultados retro citados com os da presente pesquisa, há uma tendência em se afirmar que houve um aumento, com o passar dos anos, de animais infectados pelo vírus da leucose bovina e parece haver uma ampla disseminação do agente nos bovinos leiteiros criados no Paraná.

Em outros estados da federação o vírus da LEB também esta presente. CORDEIRO et al. (1994) e LUDERS (2001) em trabalhos feitos no Estado de Santa Catarina com bovinos leiteiros, encontram prevalência de 35% e 7,6%. Em São Paulo vários estudos foram realizados (BIRGEL et al. 1988; BIRGEL JR. et al., 1995; D'ANGELINO et al., 1998 e MEGID et al., 2003) e a prevalência variou naquela região de 49,2% a 54,0%, resultados semelhantes aos descritos neste trabalho. Em regiões do Brasil um pouco mais distantes do Paraná, podem-se referenciar os trabalhos de FLORES et al. (1990) e POLLETO et al. (2004) no Rio Grande do Sul com valores de 20,7% e 23,5% e deste modo, com valores mais baixos aos descritos nesta pesquisa. Em Minas Gerais, LEITE et al. (1984) com 70,9 % e no Rio de Janeiro, ROMERO & ROWE (1981) com 53,3% respectivamente, foram encontrados soroprevalências maiores e semelhantes aos encontrados na região Metropolitana de Curitiba.

Em estudo realizado no Centro Oeste, Goiás, por ANDRADE & ALMEIDA (1991), 46% dos bovinos leiteiros foram positivos para a LEB. No Nordeste e Norte do Brasil, MELO (1991) em Pernambuco, SIMÃO (1998) na Paraíba, MATOS et al. (2005) na Bahia e CARNEIRO et al. (2003) no Amazonas relataram 23,1%, 8,3%, 47,0% e 9,6% respectivamente. Diante de tais resultados pode-se inferir que a prevalência da doença esta aumentando com o passar do tempo a despeito de a doença ser bastante estudada e as medidas preventivas serem amplamente conhecidas.

CONCLUSÃO

A leucose enzoótica bovina está disseminada no Brasil e também na região metropolitana de Curitiba. Medidas preventivas e sanitárias devem ser realizadas por meio de exames sorológicos e um constante acompanhamento veterinário, visando o saneamento gradativo dos rebanhos.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Tecnológico do Paraná – TECPAR pela cessão dos kits de diagnóstico.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, J. R. A.; ALMEIDA, M. M. R. Prevalência da leucose enzoótica bovina na bacia leiteira de Goiânia, GO. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 10, n. 60, p. 59-53, 1991.
- BIRGEL JÚNIOR, E. H.; D'ANGELINO, J.; BENESI, F. J.; BIRGEL, E. H. Prevalência da Infecção pelo vírus da Leucose dos Bovinos em Animais da Raça Jersey, Criados no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 4, p. 93-99, 1995.
- BIRGEL JUNIOR, E. H.; DIAS, W. M. C.; SOUZA, R. M.; POGLIANI, F. C.; BIRGEL, D. B.; BIRGEL, E. H. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose bovina em animais da raça Simental, criados no Estado de São Paulo. **ARS veterinária**, Jaboticabal, v. 22, n. 2. p. 122-129, 2006.
- BIRGEL, E. H.; D'ANGELINO, J. L.; GARCIA, M.; MARÇAL, W. S. Estudo preliminar sobre ocorrência da leucose do bovinos adultos criados na região de Campinas. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DA MEDICINA VETERINÁRIA, 43, 1988, Campinas-SP. **Resumos**. Campinas: SPMV: 1988. p.30.
- BRAGA, F. M.; LAAN, C. W. V.; SCHUCH, L. F.; HALFEN D. C. Infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 1, 1998.

CARNEIRO, P. A. M.; ARAUJO, W. P.; BIRGEL, E. H.; SOUZA, K. W. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado do Amazonas, Brasil. **Acta-Amazonica**, Manaus, v. 33, n. 1, p. 111-125, 2003.

CARVALHO, L.; BENESI, F. J.; BIRGEL JR, E. H.; BIRGEL, E. H. Prevalência de anticorpos séricos de anti-vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Holandesa Preta e Branca e zebuínos da raça Nelore, criados no pólo regional de Londrina, Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 53-57, 1996.

CORDEIRO, J. L. F.; DESCHAMPS, F. C.; MARTINS, E. MARTINS, V. M. V. Identificação e controle da leucose enzoótica bovina (LEB) em um rebanho leiteiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 8, p. 1287-1292, 1994.

D'ANGELINO, J. L. **Leucose enzoótica dos bovinos, estudo retrospectivo da performance produtiva e reprodutiva de animais infectados e não infectados**. 1991. 85f. Tese (Livre Docência em Clínica Médica) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

D'ANGELINO, J. L.; GARCIA, M.; BIRGEL, E. H. Epidemiological study of enzootic bovine leukosis in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht, v. 30, p. 13-15, 1998.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M. Infecção pelo vírus da leucemia bovina (BLV) no Brasil. **O Biológico**, São Paulo, v. 65, n. 1, p. 3-10, 2003.

DINIZ, J. M. F.; BARONI, J. M.; FERNANDES, B. F.; MARTINS, D. M. Leucose bovina no estado do Paraná. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, Curitiba, v. 2, p. 33-38, 1979.

FERRER, J. F., MARSHAK, R. R., ABT, D. S. Relationship between lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in cattle. A review. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 175, p. 705-708, 1979.

FLORES, E. F.; WEIBLEIN, R.; REBELATTO, M. C. Aspectos epidemiológicos da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV) na região central do Rio Grande do Sul, Brasil. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 10, n. 58, p.25-29, 1990.

JOHNSON, R.; KANEENE, J. B. Bovine leukemia virus and enzootic bovine leucosis. **Veterinary Bulletin**, Farnham Royal, v. 62, n. 4, p. 287-311, 1992.

KANTEK C. E.; KRÜGER E. R.; WELTE V. R. Prevalência do vírus da leucose enzoótica bovina no rebanho leiteiro do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 3, n.4, p.125-129, 1983.

LEITE, R. C.; MODENA, C. M.; MOREIRA, E. C.; ABREU, J. J. Evolução clínica da Leucose Enzoótica Bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 47-57, 1984.

LEUZZI JUNIOR, L. A.; GUIMARAES JUNIOR, J. S.; FREIRE, R. L.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Influência da idade e do tamanho do rebanho na soroprevalência da leucose enzoótica bovina em rebanhos produtores de leite tipo B, na região de Londrina do Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, Niterói, v. 10, n. 2, p. 93-98, 2003.

LUDERS, M. A. **Prevalência de anticorpos contra o vírus da leucose enzoótica bovina em fêmeas com mais de dois anos no Rebanho de bovinos leiteiros no Município de Mafra-SC.** Lages, 2001, 30p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agroveterinária/Sanidade Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

MEGID J.; NOZAKI, C. N.; KURODA, R. B. S.; CRUZ, T. F.; LIMA, K. C. Ocorrência de leucose enzoótica bovina na microrregião da Serra de Botucatu. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 5, p. 645-646, 2003.

MELO, L. E. H. **Leucose enzoótica dos bovinos. Prevalência da infecção em rebanhos leiteiros criados no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco.** São Paulo, 1991. 102p. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MERKT, H.; GIUDICE, J. C. O.; MÜLLER, J. A. Leucose bovina: Concepção moderna e primeira verificação da doença no RS. **Revista da Escola Agronomia Veterinária do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 2, p. 7-19, 1959.

MILLER, J. M.; VAN DER MATTEN, M. J. Sorologic detection of bovine leukemia virus infection. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 31, p. 47-55, 1976.

MURPHY, F. A.; GIBBS, E. P. J.; HORZINECK, M. C.; STUDDERT, M. J. **Veterinary virology.** California: Academic Press, 3.ed., 1999. 4495p.

POLLETO, R.; KREUTZ, L. C.; GONZALES, J. C.; BARCELLOS, L. J. G. Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n.2, p. 595-598, 2004.

ROMERO, C. H.; ROWE, C. A. Enzootic bovine leukosis virus in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrech, v. 13, n. 2, p. 107-111, 1981.

SANTOS, J. A.; PINHEIRO, P. V.; SILVA, L. J. Linfossarcoma com lesões da língua e câmaras cardíacas em bovinos. **Anais Escola Fluminense de Medicina Veterinária**, Niterói, v. 2, p. 1-8, 1959.

SILVA, R. C.; FONTANA, I.; MEIRELLES, F. C.; RUGGIERO, A. P. M.; BENATO, N.; BORGES, J. R. J. Ocorrência de leucose enzoótica bovina na forma de linfossarcomas no distrito federal: relato de caso. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n.4, p. 507-512, 2008.

SIMÕES, S. V. D. **Leucose enzoótica dos bovinos. prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado da Paraíba.** 1998. 118p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SPONCHIADO, D. **Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da leucose enzoótica bovina em rebanhos da raça Holandesa Preta e Branca, criados no estado do Paraná.** 2008, 101p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

PREVALENCIA DA RAIVA EM BOVINOS, OVINOS E CAPRINOS NO ANO DE 2007 NO ESTADO DO PARANÁ.

Maria Aparecida de Carvalho Patrício¹, Rosária Regina Tesoni de Barros Richartz¹, Filipe Hautsch Willig², Daniella Sponchiado³, Rosângela Locatelli Dittrich⁴,
Ivan Roque de Barros Filho⁴

1. Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti – Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado do Paraná

2. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – UFPR – Curitiba

3. Curso de Medicina Veterinária - Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina

4. Departamento de Medicina Veterinária – UFPR – Curitiba.

E-mail: macpatricio@seab.pr.gov.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Doenças infecciosas, ruminantes, virose.

ABSTRACT

PREVALENCE OF RABIES IN CATTLE, SHEEP AND GOATS IN PARANÁ IN 2007

Rabies is an infectious disease caused by RNA viruses in the family *Rhabdoviridae*, genus *Lyssavirus*. The infection is invariably fatal and mainly affects the central nervous system. In 2007, a total of 446 cattle, 13 sheep, and 7 goats were attended to at the Virology section of Centro de Diagnósticos Marcos Enrietti, Paraná. Blood samples were tested by direct immunofluorescence and biological tests for detection of rabies. Sera analysis revealed that 191 (42,8%) cows and 13 (23%) sheep were positive, and all samples from goats were negative. Results indicate the need to develop control measures against the occurrence of rabies in ruminants, especially cattle. Furthermore, other nervous system diseases should be researched in order to clarify rabies diagnosis.

KEYWORDS: Infection disease, ruminant, virosis.

INTRODUÇÃO

A raiva é uma doença infectocontagiosa causada por um vírus RNA, pertencente ao gênero *Lyssavirus* e a família *Rhabdoviridae* (MURPHY et al., 1999). Considerada uma enfermidade de notificação obrigatória, invariavelmente fatal, que se manifesta com sinais

nervosos afetando principalmente o sistema nervoso central (SNC) da maioria dos mamíferos domésticos e silvestres, inclusive os seres humanos (BARROS, et al. 2006).

É transmitida por meio da inoculação do vírus contido na saliva do animal raivoso, pela mordedura, arranhadura e lambadura de mucosas (KAPLAN et al., 1996). A doença apresenta três ciclos de transmissão: o ciclo urbano onde o principal disseminador é o cão e/ou gato. O ciclo rural onde os animais alvos são os herbívoros (bovinos, eqüídeos, ovinos e caprinos) no qual o principal disseminador é o morcego. E o ciclo silvestre representados pelos carnívoros como a raposa, guaxinins além de primatas não humanos como os sagüis e morcegos (ARAÚJO et al., 2008). A raiva em cães e gatos vem diminuindo, enquanto a raiva em herbívoros vem aumentando com o passar dos anos (TAKAOKA, 2000; SANTOS et al., 2006).

Nos herbívoros a doença tem duas formas distintas de se manifestar: uma em que os doentes apresentam-se agressivos podendo até atacar outros animais, chamada de raiva furiosa, e outra forma da doença se manifestar é parálitica a mais predominante em bovinos no Brasil, na qual o animal adquire sinais de depressão, prostração, incoordenação dos membros pélvicos, seguida de paresia e paralisia deles, ausência do reflexo anal, paralisia da cauda, tremores da cabeça, diminuição da visão, opistótono, bruxismo, salivação, fezes ressequidas ou escassas, retenção ou incontinência urinária e mugidos e roncos (BARROS et al., 2006). REIS et al. (2003) em estudo com casos clínicos de raiva de bovinos na Bahia, mostraram que 77,38% dos animais apresentaram apatia, 72,62% dos animais apresentaram reflexos centrais e periféricos diminuídos, 29,76% apresentaram movimentos de pedalagem 44,05% dos animais apresentavam paralisia flácida e somente 22,62% apresentaram comportamento agressivo.

Em ovinos e caprinos os principais sinais clínicos mais comuns são: apatia, cegueira, convulsões, movimentos de pedalagem, pressão da cabeça contra objetos, ataxia, diminuição do reflexo pupilar, flacidez da língua, rotação da cabeça, salivação, opistótono, perda de equilíbrio, paresia e paralisia de membros (LIMA et al. 2005).

Num estudo retrospectivo realizado em Minas Gerais, SILVA et al. (2001) relataram que de 7526 amostras de bovinos analisadas no período de 1976 a 1997, 50,5% (3802) das amostras foram positivas.

SANTOS et al. (2006) relataram que nos anos de 1999 a 2001 no estado de Goiás, foram analisadas 779 amostras de bovinos suspeitos de raiva. Os autores encontraram 36,4% (67/184)

de bovinos positivos em 1999, 58,0% (131/226) em 2000 e 65,0% (249/369) em 2001, demonstrando um aumento considerável da raiva em bovinos.

O objetivo desse trabalho foi verificar a prevalência da raiva em bovinos, ovinos e caprinos no Estado do Paraná por meio das amostras enviadas ao Centro de Diagnósticos “Marcos Enrietti” para diagnóstico da raiva no ano de 2007.

MATERIAL E MÉTODOS

No ano de 2007, o setor de Virologia do Centro de Diagnósticos „Marcos Enrietti“ – (CDME) recebeu 446 amostras de bovinos, 13 de ovinos e sete de caprinos, provenientes de diversas regiões do Estado do Paraná, para exame laboratorial de Raiva. As amostras de tecido encefálico (cerebelo, tálamo e córtex cerebral) foram submetidas às provas de Imunofluorescência direta (IFD), descrita por DEAN et al. (1996), com conjugado produzido pelo LANAGRO/MAPA/MG com isotiocianato de fluoresceína, e inoculação intracerebral ou prova biológica (PB) segundo a técnica preconizada por KOPROWSKI (1996).

Para realização das provas de IFD utilizou-se o vírus fixo *Challenge Virus Standard* (CVS), amostra CVS-31/2, adaptada a cérebros de camundongos, apresentando título de 10^{-5} DLIC₅₀/0,03 mL para a obtenção da suspensão de vírus, para a absorção do conjugado antirábico; e cérebros de camundongos de 21 dias para a suspensão contendo conjugado antirábico livre; toda as IFD de amostra sempre foram acompanhadas de lâmina de VR (Vírus referência) como controle positivo.

Para prova biológica ou isolamento viral utilizaram-se camundongos com 21 dias de idade, e peso entre 12 e 14g, obtidos do biotério do TECPAR (Instituto Tecnológico do Paraná). Foram utilizados oito camundongos para cada amostra recebida. Após a inoculação, os animais foram observados diariamente durante 30 dias. Nos casos positivos as mortes ocorreram entre o quinto e 15º dias após a inoculação (em média). A partir do quinto dia após a inoculação todos os camundongos que morreram foram submetido à prova de IFD, para confirmação da raiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De 466 bovinos suspeitos, foram diagnosticados 191 (42,8%) animais positivos para raiva; das 13 amostras ovinas enviadas ao CDME três (23%) foram diagnosticadas como positivas e todas as sete amostras da espécie caprina foram negativas.

Em 2006, no Estado do Paraná, os números absoluto e relativo de amostras positivas para raiva em bovinos, ovinos e caprinos foram, respectivamente, de 165/347 (47,5%), 1/5 (20%) e 1/11 (9,1%) (PATRICIO et al., 2007). Quando os presentes resultados são comparados com o ano anterior, consta-se que houve um aumento no número de amostras enviadas ao CDME, e um aumento no número de amostras positivas em bovinos e ovinos. Mesmo com o aumento no número de amostras positivas ocorreu uma redução da prevalência de raiva em função do aumento do número de amostras diagnosticadas como negativas.

Os resultados mostram um aumento no número de casos confirmados de raiva em bovinos e ovinos, porém o grande número de amostras negativas enviadas ao CDME sugere a ocorrência de outras doenças com sintomatologia clínica semelhante a da raiva, indicando a necessidade de uma melhora nos diagnósticos diferenciais de outras afecções do SNC.

CONCLUSÃO

A raiva nos ruminantes continua sendo uma doença importante no estado do Paraná, porém, existe um número significativo de animais com sintomatologia nervosa, que não tiveram um diagnóstico conclusivo. Medidas de controle da raiva em ruminantes, especialmente bovinos, e pesquisas de outras enfermidades com sintomatologia nervosa que afetam os ruminantes do estado devem ser realizadas para elucidação do diagnóstico.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, L. M. S. Subfamília Desmodontinae. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W.; LIMA, I. P. **Morcegos do Brasil**, Londrina, cap. 3, p.39-43, 2007.
- ARAUJO, D. B.; MEDINA, A. O.; CUNHA, E. M. S.; DURIGON, E. L.; FAVORETTO, S. R. Estudo epidemiológico do vírus da raiva em mamíferos silvestres provenientes de área de soltura no litoral norte do Estado de São Paulo. In: CONBRAVET - CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35, 2008, Gramado. **Anais....**, Gramado, p. 689-692, 2008.
- BARROS, C. S. L., DRIEMEIER, D., DUTRA, I. S.; LEMOS, R. A. A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**: Coleção Vallée. AGNS, São Paulo. 207p. 2006.
- DEAN, D. J.; ABELSETH, M. K.; ATANASIU, P. The fluorescent antibody test. In: MESLIN, F. X.; KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**. 4.ed. Geneve: World Health Organization, p.88-95, 1996.

KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H.; MESLIN, F.X. **Laboratory techniques in rabies**. 4.ed. Geneva: World Health Organization, 1996. 476

KOPROWSKI, H. The mouse inoculation test. In: MESLIN, F. X, KAPLAN, M. M.; KOPROWSKI, H. **Laboratory techniques in rabies**. 4.ed. Geneve: World Health Organization, p. 80-87, 1996.

LIMA, E. F.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R. S.; GOMES, A. A. B.; LIMA, F. S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 4, p. 250-254, 2005.

MURPHY, F. A.; GIBBS, E. P. J.; HORZINEK, M. C.; STUDDERT, M. J. **Veterinary Virology**. 3.ed, Academic Press, 1999.

PATRICIO, M. A. C.; DITTRICH, R. L.; SPONCHIADO, D.; RICHATZ, R. R.; BARROS FILHO, I. R. Prevalência da raiva em bovinos, ovinos e caprinos no Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 6, 2007. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, sup., Resumo 186, 2007.

RADOSTIS, O. M.; BLOOD, D. C.; GAY, C. C. **Veterinary medicine** 9.ed. London: Bailliere Trindall, 2000, 1763p.

REIS, M. C.; COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C.; FIGUEIREDO, L. J. C.; MENEZES, R. V.; FERREIRA, M. M.; SA, J. E. U. Aspectos clínicos e epidemiológicos da raiva bovina apresentados na casuística da Clínica de Bovinos (Oliveira dos Campinhos, Santo Amaro, Bahia), Universidade Federal da Bahia, durante o período de janeiro de 1990 a dezembro de 1999 (Relato de Caso). **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, Salvador, v.4, n. 1; p. 12-17; 2003.

SANTOS, M. F. C.; RESENDE, R. M.; SOBRINHO, R. N.; VIEIRA, S. Diagnóstico laboratorial da raiva no Estado de Goiás no período de 1976 a 2001. **Ciências Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 77-83, 2006.

SCHLÖGEL, F. Breve histórico da raiva. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 28, n. 2, p. 277-295, 1985.

SILVA, J. A.; MOREIRA, E. C.; HADDAD, J. P. A. MODENA, C. M.; TUBALDINI, M. A. S. Distribuição temporal e espacial da raiva bovina em Minas Gerais, 1976 a 1997. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n.3, p.263-272, 2001.

TAKAOKA, Alteração no perfil epidemiológico da raiva no Estado de São Paulo. In: SEMINÁRIO NACIONAL DA RAIVA. São Paulo. **RESUMOS...**São Paulo, p.23, 2000.

**PREVALÊNCIA DE *EIMERIA*, HELMINTOS, *ESCHERICHIA COLI*,
SALMONELLA, ROTAVIRUS, CORONAVIRUS E *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* EM
PROPRIEDADES LEITEIRAS DE MINAS GERAIS, BRASIL**

Marina Guimarães Ferreira¹, Elias Jorge Facury Filho², Marcos Bryan Heinemann², Antônio
Último de Carvalho², Andrey Pereira Lage², Paulo Marcos Ferreira² e Moisés Dias Freitas¹

1. Médica (o) Veterinária (o), aluna (o) de doutorado em Ciência Animal, Escola de Veterinária da Universidade
Federal de Minas Gerais.

2. Médico Veterinário, doutor, professor do curso de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

Email: mgfvet@bol.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, enteropatógenos, neonatos.

ABSTRACT

**PREVALENCE OF *EIMERIA* SPP., HELMINTHS, *ESCHERICHIA COLI*,
SALMONELLA SPP., ROTAVIRUS, CORONAVIRUS AND *CRYPTOSPORIDIUM*
PARVUM INFECTIONS IN DAIRY FARMS FROM MINAS GERAIS, BRAZIL**

This study establishes the prevalence of intestinal pathogens that cause diarrhea in suckling calves reared in 20 semi-intensive dairy farms from Minas Gerais, Brazil. Feces samples were collected from 319 animals for diagnosis of helminths and *Eimeria* infections. A total of 133 were analysed for identification of *Salmonella* spp. and *E. coli* by evaluation of culture media and biochemical data, and 87 were tested using the ELISA technique to detect viruses, bacteria and protozoa until 60 days of age. Prevalence rates of 48,23%, 15,36%, 90,22%, 8,0%, 9,2% were obtained for *Eimeria* spp., helminths, *E. coli*, rotavirus, and *Cryptosporidium parvum*, respectively. All samples were negative for *Salmonella* spp., coronavirus, and *E. coli* F5. The most common *Eimeria* species found were *Eimeria zuernii* and *Eimeria bovis*.

KEYWORDS: Calves, intestinal pathogens, neonates.

INTRODUÇÃO

A diarreia é uma das principais doenças que acometem os bezerros jovens em diferentes países, causando importantes perdas econômicas (ÇABALAR et al., 2001). Sua etiologia é complexa e multifatorial, envolvendo fatores infecciosos, nutricionais, imunológicos e ambientais. Os enteropatógenos mais frequentemente envolvidos incluem bactérias, com destaque para *Escherichia coli* enterotoxigênica e *Salmonella* spp., vírus (*Rotavirus* e *Coronavirus*) e protozoários dos gêneros *Cryptosporidium* spp. e *Eimeria* spp. As helmintoses gastrointestinais também são consideradas importantes agentes (BRANDÃO et al., 2007).

A prevalência dos agentes causadores da diarreia em fezes de bezerros saudáveis ou diarreicos é influenciada por diversos fatores epidemiológicos como mudanças climáticas (temperatura elevada e tempo úmido), aumento da densidade populacional nos bezerreiros (alta taxa de infecção) e colostragem inadequada, contribuindo para maior susceptibilidade dos animais (RADOSTITS et al., 2007).

De uma forma geral, os dados a respeito da prevalência dos agentes causadores de diarreia em bovinos jovens no Brasil são escassos. Pesquisas realizadas na região de Araçatuba (SP) revelaram prevalência de 21,3% de *Cryptosporidium* spp., 25,1% de *Rotavirus* e 11,5% de *Salmonella* spp. em bezerros com até 60 dias de vida (LANGONI et al., 2004). Em Inhaúma (MG), a prevalência de *Cryptosporidium parvum*, *Rotavirus*, *Coronavirus* e *Escherichia coli* enterotoxigênica foram 31,25%, 31,8%, 9,1% e 0% respectivamente (BATISTA, 2005).

Em função da complexidade etiológica da diarreia em bovinos e do potencial zoonótico de alguns de seus agentes, o presente estudo teve como objetivo determinar a prevalência de *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia coli* enterotoxigênica, *Salmonella* spp., *Eimeria* spp. e Helmintos em amostras fecais de bezerras em aleitamento em explorações leiteiras semi-intensivas nas regiões Centro-Oeste e Alto Paranaíba de Minas Gerais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para realização deste estudo foram selecionadas 20 propriedades leiteiras em regime semi-intensivo nas regiões Centro-Oeste e Alto Paranaíba de Minas Gerais.

Em cada propriedade foram feitas visitas às instalações para inspeção e caracterização dos piquetes maternidade e manejo das vacas e bezerros recém-nascidos. Foram selecionadas bezerras na fase de aleitamento (até 60 dias), grau de sangue das raças européias (Holandês,

Pardo Suíço e Jersey) variando de $\frac{3}{4}$ até animais puros. Os animais estavam alojados em instalações individuais de diferentes modelos (casinha tropical, argentino, piquetes individuais ou amarrados) e coletivos.

Coletaram-se em sacos plásticos diretamente da ampola retal 319 amostras de fezes dos animais, com identificação de acordo com a região, propriedade, número do animal e data da coleta. As amostras foram refrigeradas à 4°C e processadas no Laboratório de Clínica de Ruminantes da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, para diagnóstico da helmintose (OPG) e eimeriose (OOPG). Retirou-se uma alíquota de aproximadamente 5g por amostra, que foi congelada à -20°C para posteriores exames bacteriológico, virológico e de *Cryptosporidium parvum*.

As amostras negativas no OOPG foram submetidas ao método de flutuação em solução saturada de açúcar (Sheeters), para pesquisa de oocistos de *Eimeria* spp. Nas positivas foram feitas identificação das espécies após esporulação do material por sete dias.

Das 319 amostras fecais coletadas, 133 foram mantidas à -20°C para diagnóstico de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* através de cultura e testes bioquímicos no laboratório de Gastroenterites Transmissíveis dos Animais do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Destas selecionaram-se 87 amostras para realização de ELISA de captura através da utilização de reagente comercial (Bio X Digestive Elisa Kit: BIO K 071), com objetivo de diagnosticar *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Cryptosporidium parvum* e *Escherichia coli* enterotoxigênica (F5).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível verificar no presente estudo que 45% das propriedades possuíam piquetes maternidade sem condições higiênicas adequadas e que em 60% os recém-nascidos permaneciam no mínimo 48 horas com a mãe, aumentando o risco de contaminação. A colostragem era realizada sem qualquer tipo de monitoramento em 45% das propriedades, não havendo controle da qualidade e quantidade de colostro ingerido pelo bezerro. Dessa forma, os animais já nasciam em um ambiente completamente desfavorável e com alto desafio. Os adultos podiam ser portadores e fontes de infecção para os neonatos, que se contaminariam ainda na maternidade (RODRIGUEZ-VIVAS et al.,1996).

Quanto as instalações visitadas observou-se que 50% dos bezerreiros estavam mal localizados (situados abaixo das categorias mais velhas), aumentando os riscos de infecção destes animais, principalmente pelo escoamento de água contaminada dos outros lotes (SANFORD & JOSEPHSON, 1982).

A prevalência total de animais positivos para a eimeriose foi de 48,23%, sendo o agente encontrado em todas as propriedades, possivelmente pelo fato das coletas terem sido realizadas em meses com altos índices pluviométricos e temperaturas em torno de 27-28°C, o que contribuiu para o processo de esporogonia e manutenção de oocistos viáveis no ambiente (DAUGSCHIES & NAJDROWSKI, 2005).

Foram identificadas sete espécies de *Eimeria* neste estudo, sendo as mais comuns a *E. zuernii* (27,53%), *E. bovis* (24,07%) e *E. cylindrica* (20,92%), seguidas da *E. ellipsoidalis* (8,88%), *E. auburnensis* (8,12%), *E. brasiliensis* (0,5%) e *E. alabamensis* (0,1%). As espécies mais prevalentes foram a *Eimeria zuernii* e *Eimeria bovis*, consideradas as mais patogênicas para os bovinos (RIBEIRO et al., 2000).

Foram encontrados helmintos em 70% das propriedades amostradas, com prevalência total de 15,36% de animais positivos. De maneira geral, os valores de OPG foram baixos, possivelmente pelo período pré-patente dos principais helmintos gastrintestinais.

A prevalência de amostras positivas para *Escherichia coli* foi de 90,22%, o que já era esperado uma vez que faz parte da flora intestinal normal dos animais (NATARO E KAPER, 1998). A ausência de isolamento do gênero *Salmonella* pode ter sido em função do extenso intervalo entre coleta e processamento do material (O'CARROLL et al., 1999).

As 87 amostras de fezes submetidas ao kit ELISA comercial mostraram prevalência de 8,0% para *Rotavirus* e 9,2% para *Cryptosporidium parvum*, não havendo associação em uma mesma amostra. As condições encontradas, maternidade pouco higiênica, elevado escore de sujidade das mães e colostragem sem monitoramento, possivelmente contribuíram para a detecção destes agentes. Não foram encontradas amostras positivas para *Coronavirus* e *E. coli* enterotoxigênica.

Quando se analisou somente as 87 amostras submetidas ao ELISA, verificou-se associação entre os agentes causadores de diarreia. As principais associações foram: *Eimeria* spp e *Strongyloides* spp (10,3%), *Eimeria* spp e *Strongyloidea* (6,9%), *Eimeria* spp e *E.coli* (27,5%), *Cryptosporidium parvum* e *E.coli* (2,3%), *Rotavirus* e *Eimeria* spp (1,1%), *Strongyloides* spp. e

Strongyloidea e *Eimeria* spp.(5,7%), *Strongyloides* spp. e *Strongyloidea* (5,7%), além de *Strongyloides* spp.e *Rotavirus* (1,1%).

CONCLUSÃO

Os enteropatógenos encontram-se amplamente disseminados nos rebanhos leiteiros de Minas Gerais e podem contribuir para uma considerável incidência de diarreia nos bezerros neonatos, levando a perdas econômicas importantes.

REFERÊNCIAS

- BATISTA, C. G. Efeito da adição de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Enterococcus faecium* ao leite sem resíduo de antimicrobiano ou leite de vacas tratadas contra mastite no desempenho e saúde de bezerras da raça holandesa em aleitamento. 2005. 49f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- BRANDÃO, P. E.; VILLARREAL, L. Y. B.; SOUZA, S. L. P. et al. Mixed infections by bovine coronavirus, rotavirus and cryptosporidium parvum in outbreak neonatal diarrhea in beef cattle. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 33-34, 2007.
- ÇABALAR, M.; BOYNUKARA, B.; GÜLHAN, T.; et al. Prevalence of Rotavirus, *Escherichia coli* K99 and O157:H7 in health dairy cattle herds in Van, Turkey. **Journal Veterinary Animal Science**, v. 25, n. 1, p. 191-196, 2001.
- DAUGSCHIES, A.; NAJDROWSKI, M. Eimeriosis in cattle: current understanding. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, Berlin, v. 52, n. 1, p. 417-427, 2005.
- LANGONI, H.; LINHARES, A. C.; AVILA, F. A.; et al. Contribuição ao estudo da etiologia das diarreias em bezerros de aptidão leiteira no Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.41, n.5, p. 313-319, 2004.
- NATARO, J. P.; KAPER, B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

O'CARROL, J. M.; DAVIES, P. R.; CORREA, M. T. et al. Effects of sample storage and delayed secondary enrichment on detection of *Salmonella* spp in swine feces. **American Journal Veterinary Research**, Chicago, v. 60, n. 3, p. 359-362, 1999.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Philadelphia: Elsevier, 2007, 2156p.

RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H.; JEREZ, J. A.; LEITE, D. S. et al. Identification of enteropathogens from buffalo calves with and without diarrhoea in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 2, 2000.

RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; DOMINGUEZ-ALPIZAR, J. L.; TORRES-ACOSTA, J. F. Epidemiologic factors associated to bovine coccidiosis in calves (*Bos indicus*) in a sub-humid tropical climate. **Revista Biomedica**, Yucatan, v. 7, n. 1, p. 211-218, 1996.

SANFORD, S. A.; JOSEPHSON, G. K. A. Bovine cryptosporidiosis: clinical and pathological findings in forty-two scouring neonatal calves protozoal disease. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 23, n. 12, p. 243-347, 1982.

TRÊS PROTOCOLOS DISTINTOS DE VACINAÇÃO DE BEZERROS CONTRA O CARBÚNCULO SINTOMÁTICO

Rafael Ferreira de Araujo¹, Vera Cláudia Lorenzetti Magalhães Curci², Iveraldo dos Santos Dutra³

1. Médico Veterinário, MSc, Pós-graduando nível de doutorado do Curso de Medicina Veterinária área de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - *Campus* Jaboticabal – E-mail: rafaelvetxuxa@bol.com.br (autor correspondente)

2. Médica Veterinária, MSc, PhD, Pesquisadora Científica da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Secretaria da Agricultura (SP), Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Araçatuba.

3. Médico Veterinário, PhD, Livre-docência, Laboratório de Enfermidades Infecciosas dos Animais Domésticos, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - *Campus* de Araçatuba

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, *Clostridium chauvoei*, doenças infecciosas, vacinas.

ABSTRACT

CATTLE VACCINATION PROTOCOLS AGAINST BLACKLEG

Blackleg is a global health problem responsible for high mortality rates in cattle. Annual booster immunization of young animals until they are 2,5 years of age is the main prophylactic measure. This study assesses bovine serological response to three different vaccination protocols against blackleg by use of a commercial polyvalent vaccine against clostridiosis. Evaluation was performed by an ELISA test with reference and field strains as antigens. The calves were randomly distributed into four groups (G1, G2, G3, and control group): G1 – vaccinated at 4 months of age and a booster at weaning (8 months); G2 – first dose at weaning and a booster 30 days later; and G3 – vaccinated only at weaning. The control group received no vaccination. Serum samples were taken when calves were 4, 8, 9 and 10 months of age. Results revealed that G1 had the best serological response compared to other vaccination protocols and that it was significantly lower when a field strain was used as antigen.

KEYWORDS: Cattle, *Clostridium chauvoei*, infectious diseases, vaccines

INTRODUÇÃO

O carbúnculo sintomático é uma enfermidade não contagiosa causada pela ativação de esporos latentes do *Clostridium chauvoei* na musculatura dos animais, caracterizando uma

miosite necrosante. Esta clostridiose é um problema sanitário universal, com potencial de gerar grandes perdas econômicas. A enfermidade acomete principalmente bovinos de seis meses a 2,5 anos de idade, quando presumidamente ocorreria uma redução no título de anticorpos séricos e estariam presentes as condições predisponentes para a ocorrência da doença (KRIEK & ODENDAAL, 2004).

A imunização contra o carbúnculo sintomático é uma medida profilática das mais importantes na bovinocultura mundial, sendo executada desde o século XX (ROGERS & SWECKER, 1997). Embora a vacinação seja voluntária, há o reconhecimento dos pecuaristas sobre a importância e necessidade desta medida preventiva. Contudo, em diversas ocasiões do território nacional têm sido registrados surtos da enfermidade, com diagnóstico etiológico, após alguns meses da vacinação de reforço em animais primovacinados. Essa situação indica uma eventual possibilidade de variações antigênicas entre as cepas vacinais e as de campo ou, ainda, um problema relacionado com a eficiência das vacinas frente a desafios naturais.

A escassez de testes sorológicos capazes de mensurar a resposta imunológica necessária para garantir uma proteção adequada dos animais frente ao desafio natural, a enfermidade não ser de notificação obrigatória, aliado a pouca abrangência da vigilância epidemiológica do país, contribui para a ausência de discussões sobre a problemática. Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar, pelo teste de Elisa, os valores de anticorpos séricos em bezerros vacinados em três protocolos distintos, com o uso de uma vacina comercial polivalente e duas cepas distintas da bactéria como antígeno para avaliação sorológica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram vacinados 60 bezerros mestiços (Nelore, Aberdeen Angus, Brahman e Red Angus) cujas mães multíparas haviam sido submetidas ao manejo sanitário da propriedade, constando de duas vacinações anuais contra o carbúnculo sintomático (maio e setembro). Os bezerros foram segregados em três grupos (n=15 cada) e submetidos aos diferentes protocolos de vacinação, com o emprego de uma vacina comercial polivalente contra clostridioses. A vacinação foi realizada por via subcutânea segundo a dose recomendada pelo fabricante. O grupo 1 (G1) foi vacinado aos quatro meses e na desmama (oito meses). O grupo 2 (G2) foi primo-vacinado na desmama e recebeu reforço 30 dias após. O grupo 3 (G3) recebeu uma única dose da vacina na desmama. Como controle (n=15) foi avaliado sorologicamente bezerros não vacinados e pertencentes ao mesmo lote de animais.

As amostras de sangue foram coletadas dos bezerros aos 4, 8, 9 e 10 meses após o nascimento através de punção da veia jugular externa, com auxílio de tubos Vacutainer® e mantidas a temperatura ambiente até a retração completa do coágulo. Posteriormente, foram centrifugadas para obtenção do soro que permaneceu congelado (-20°C) até o momento de sua utilização no teste sorológico.

A presença de anticorpos séricos contra o *Clostridium chauvoei* foi mensurada pelo teste de Elisa (CRICHTON et al., 1990) utilizando-se duas cepas distintas como antígenos: a cepa de referência (MT) fornecida pelo MAPA e a cepa de campo (SP) isolada de surto natural, devidamente identificada pelo método de reação em cadeia de polimerase (PCR) e mantida na bacterioteca do Laboratório de Enfermidades Infecciosas dos Animais, no Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal, Unesp, Campus de Araçatuba. A comparação entre os tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos três esquemas de vacinação avaliados houve um aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de anticorpos séricos após a vacinação ou o reforço. Dessa forma, o *booster* vacinal estimulou a produção de anticorpos contra o carbúnculo sintomático.

Os bezerros do G1, primovacinados aos quatro meses, apresentaram uma redução dos valores de anticorpos quando avaliados aos oito meses. Após o reforço aos oito meses de idade houve um aumento significativo dos valores, gerando uma diferença em relação aos outros dois esquemas de vacinação (G2 e G3) aos nove meses, mas não diferiu do G2 quando avaliado aos 10 meses de idade. Embora não se saiba o valor mínimo necessário para proteger os animais frente aos desafios naturais do agente etiológico, nessa condição a vacinação dos bezerros já aos quatro meses de idade, seguida do reforço quatro meses após, elevou significativamente os anticorpos.

Os valores de anticorpos dos primovacinados aos oito meses de idade e reforço vacinal 30 dias após (G2) não diferiram do G3 aos nove meses. Os bezerros primovacinados na desmama (G3) apresentaram um aumento significativo dos valores de anticorpos quando avaliados 30 dias após, no entanto aos 10 meses diferiram dos outros grupos avaliados (G1 e G2), mas não do controle.

Possivelmente esses valores encontrados são suficientes para a garantia de uma boa imunidade ao rebanho nesse período. Contudo, torna-se necessário reavaliar a duração dessa imunidade e o protocolo de vacinação a partir dos 10 meses de idade.

A cepa de campo (SP) demonstrou valores de anticorpos significativamente inferiores em dois momentos da avaliação no G1, um no G3 e três no Controle. Quando se empregou a cepa de referência (MT), os valores foram significativamente inferiores em um momento da avaliação no G1 e outro no G2. O emprego de uma cepa de campo decorreu do fato de que em testes anteriores houve diferenças no grau de proteção de cobaias vacinadas com diferentes produtos comerciais desafiados com as cepas de referência (MT) e a cepa de campo (SANTOS, 2003).

Dentre todos os fatores relevantes na produção de imunidade contra o *Clostridium chauvoei*, o mais importante é a diferença de proteção que é estimulada pelas vacinas compostas por cepas homólogas às do ambiente e pelas vacinas compostas por cepas heterólogas às encontradas no campo (SCHIPPER et al., 1978). Dessa forma, a vacinação empregando-se cepas homólogas protege melhor contra o desafio homólogo do que contra o desafio heterólogo, pois algumas cepas induzem imunidade com maior espectro de proteção que outras (KERRY, 1967).

A ocorrência de episódio de alta mortalidade bovina na Austrália na década de 1970, decorrente provavelmente de falha vacinal, obrigou as autoridades sanitárias daquele país a exigirem a inclusão de cepas de campo representativas nos produtos comerciais (REED & REYNOLDS, 1977).

CONCLUSÕES

Analisando-se os resultados do presente estudo é possível afirmar que: o protocolo de vacinação do G1 (primovacinação dos bezerros aos quatro meses de idade e reforço na desmama) apresenta a melhor resposta sorológica quando comparado aos outros protocolos; e a resposta sorológica dos bovinos é significativamente inferior quando se emprega a cepa de campo (SP) como antígeno. Assim, presume-se que o ideal seria a introdução de cepas de campo regionais na fabricação dos produtos comerciais e a melhoria da vigilância epidemiológica.

REFERÊNCIAS

CRICHTON, R.; SOLOMON, J.; BARTON, A. M. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for measuring the potency of vaccines containing *Clostridium chauvoei* antigens. **Biologicals**, London, v. 18, p. 49-54, 1990.

KERRY, J. B. Immunological differences between strains of *Clostridium chauvoei*. **Research in Veterinary Science**, London, v. 8, p. 89-97, 1967.

KRIEK, N. P. J.; ODENDAAL, M. W. *Clostridium chauvoei* infections. In: COETZER, R.; TUSTIN, R. C. **Infectious diseases of livestock**. Cape Town. Oxford Press, vol 3, p. 1856-1862, 2004.

REED, G. A.; REYNOLDS, L. Failure of *Clostridium chauvoei* vaccines to protect against blackleg. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 53, p. 393, 1977.

ROGERS, G. M.; SWECKER, W. S. JR. Clostridial vaccines: timing and quality assurance. **Food Animal**, p. 278-285, 1997.

SANTOS, B. A. **Avaliação da eficácia em cobaias de imunógenos contra carbúnculo sintomático em uso no Brasil**. 2003. 35f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SCHIPPER, I. A.; KELLING, C. L.; MAYER, J.; PFEIFFER, N. W. Effects of passive immunity on immune response in calves vaccinated against *Clostridium chauvoei* infection (blackleg). **Veterinary Medicine/Small Animal Clinician**, Lenexa, v. 73, p. 1564-1566, 1978.

ANTICORPOS DE ORIGEM COLOSTRAL EM BEZERROS CONTRA O *CLOSTRIDIUM CHAUVOEI*

Rafael Ferreira de Araujo¹, Vera Cláudia Lorenzetti Magalhães Curci², Iveraldo dos Santos Dutra³

1. Médico Veterinário, MSc, Pós-graduando nível de doutorado do Curso de Medicina Veterinária área de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - *Campus* Jaboticabal – E-mail: rafaelvetxuxa@bol.com.br (autor correspondente)

2. Médica Veterinária, MSc, PhD, Pesquisadora Científica da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Secretaria da Agricultura (SP), Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Araçatuba.

3. Médico Veterinário, PhD, Livre-docência, Laboratório de Enfermidades Infecciosas dos Animais Domésticos, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - *Campus* de Araçatuba

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, carbúnculo sintomático, doenças infecciosas, imunidade passiva.

ABSTRACT

COLOSTRAL ANTIBODIES AGAINST *CLOSTRIDIUM CHAUVOEI* IN CALVES

Blackleg is a cosmopolitan disease that causes major economic losses in livestock production. It mainly affects young cattle of 6 months and 2,5 years old due to the fact that, at this time, there is a reduction in antibody levels and animals are more vulnerable to the disease. This study evaluates colostral antibodies against *Clostridium chauvoei* in calves by an ELISA test with reference and field strains as antigens. Mother cows had been vaccinated with two commercial polyvalent vaccines at least 2 months before calving and received a booster after 42 days. The animals were randomly allotted to three groups (V2, V3, and control group) and serum samples were taken at 7 ($\pm$ 2), 45 and 90 days of age. Results show the importance of the mother cow's vaccination a few months before calving because of colostral transfer of antibodies for protective immunity of the neonate against diseases. Furthermore, serological responses of calves were significantly lower when the field strain was used as antigen.

KEYWORDS: Blackleg, cattle, infectious diseases, passive immunity.

INTRODUÇÃO

O *Clostridium chauvoei* é o agente etiológico do carbúnculo sintomático. Essa clostridiose é uma enfermidade infecciosa e não contagiosa caracterizada por uma miosite

necrosante. A moléstia é cosmopolita e responsável por perdas econômicas, predominando sua incidência no gado jovem de 6 meses e 2,5 anos de idade, quando ocorreriam as condições favoráveis, associadas à redução do título de anticorpos séricos (KRIEK & ODENDAAL, 2004).

A imunização contra o carbúnculo sintomático é uma medida profilática das mais importantes na bovinocultura mundial, sendo executada desde o século XX (ROGERS & SWECKER, 1997). A melhora da imunidade ativa dos bovinos por meio da vacinação visa o aumento dos valores de anticorpos séricos. Essa medida traz benefícios diretos à imunidade passiva, pois eleva significativamente a proteção dos bovinos jovens por meio de anticorpos passivos transferidos pelo colostro. Uma indicação prática para exacerbar a imunidade passiva seria aumentar os valores de anticorpos colostrais das vacas (mães) utilizando-se da vacinação antes do parto.

Entretanto, em diversas regiões do Brasil têm sido registrados surtos de carbúnculo sintomático, em bovinos com idade inferior a 6 meses. Essa situação indica uma eventual falha de ingestão do colostro pelo bezerro, esquemas de vacinação das vacas inapropriados ou até mesmo variações antigênicas entre as cepas vacinais e as de campo. Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo mensurar, pelo teste de Elisa, os valores de anticorpos colostrais em bezerros contra o *Clostridium chauvoei*, empregando-se duas vacinas comerciais polivalentes e duas cepas distintas da bactéria como antígeno para avaliação sorológica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados sorologicamente 36 bezerros recém-nascidos da raça Nelore, cujas mães foram vacinadas contra o carbúnculo sintomático pelo menos dois meses antes da parição e receberam um reforço 42 dias após, com duas vacinas comerciais polivalentes (V2, n=12 e V3, n=12). Como controle (n=12), foi avaliado sorologicamente bezerros filhos de vacas não vacinadas.

As amostras de sangue foram coletadas dos bezerros aos 7 (± 2), 45 e 90 dias após o nascimento através de punção da veia jugular externa, com auxílio de tubos Vacuntainer® e mantidas a temperatura ambiente até a retração completa do coágulo. Posteriormente, foram centrifugadas para obtenção do soro que permaneceu congelado (-20°C) até o momento de sua utilização no teste sorológico.

A presença de anticorpos séricos contra o *Clostridium chauvoei* foi mensurada pelo teste de Elisa (CRICHTON et al., 1990) utilizando-se duas cepas distintas como antígenos: a

cepa de referência (MT) fornecida pelo MAPA e a cepa de campo (SP) isolada de surto natural, devidamente identificada pelo método de reação em cadeia de polimerase (PCR) e mantida na bacterioteca do Laboratório de Enfermidades Infecciosas dos Animais, no Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal, Unesp, Campus de Araçatuba. A comparação entre os tratamentos e as vacinas foi realizada pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve uma redução significativa ($p < 0,05$) dos valores de anticorpos passivos dos bezerros, quando avaliados aos 45 e 90 dias após o nascimento. Não houve diferença entre as duas vacinas polivalentes avaliadas.

A avaliação da resposta sorológica passiva dos bezerros, nascidos de vacas vacinadas contra o *Clostridium chauvoei* pelo menos 30 dias antes do parto, revelou valores significativamente superiores aos bezerros cujas vacas não receberam a vacinação. Esses resultados são similares aos descritos por TROXEL et al (1997).

Entretanto, esses anticorpos colostrais diminuem significativamente no transcorrer de três a quatro meses (SCHIPPER et al., 1978; TROXEL et al., 2001). De fato, a estratégia da imunização natural passiva pelo colostro deve ser viabilizada operacionalmente em nível de rebanho, pois existe uma variação do tempo gestacional das vacas em sistema extensivo de pecuária de corte. Em tal situação deve-se considerar ainda a possibilidade de interferência entre a imunização ativa aos três meses de idade e os anticorpos de origem colostrais.

Na análise dos valores obtidos pelos grupos aos sete dias de vida, foi verificada uma correlação linear entre os dias de vacinação das mães antes do parto e o nascimento dos bezerros. À medida que transcorreu mais tempo da vacinação das mães até o parto, menores foram os valores de anticorpos de origem materna detectados nos bezerros. Assim, a imunização das mães deve ser executada o mais próximo ao parto, com o intuito de elevar os valores de anticorpos passivos detectados nos bezerros. Sob esse aspecto, torna-se relevante a vacinação das fêmeas reprodutoras pelo menos 30 dias antes da parição (segunda dose).

A resposta sorológica passiva do grupo controle apresentou-se significativamente inferior ($p < 0,05$) quando o antígeno empregado no teste de Elisa foi elaborado com a cepa de campo (SP). Esses resultados também foram demonstrados por SANTOS (2003), porém a cepa de campo (SP) foi empregada no teste de potência em cobaias.

Devido à ausência de conhecimentos técnico-científicos quanto à presença do antígeno O somático termoestável e do antígeno H flagelar termolábil na composição estrutural das cepas de *Clostridium chauvoei*, há uma dificuldade no processo de fabricação das vacinas

quanto a sua potência e capacidade de estimular uma imunização aos animais de forma satisfatória quando estes são desafiados pelas cepas de campo, pois se acredita que esses antígenos sejam responsáveis pela imunogenicidade das cepas (MOUSSA, 1959).

A vacinação empregando-se cepas homólogas protege melhor contra o desafio homólogo do que contra o desafio heterólogo, pois algumas cepas induzem imunidade com maior espectro de proteção que outras (KERRY, 1967).

CONCLUSÕES

Analisando-se os resultados do presente estudo é possível afirmar que: independente das vacinas empregadas na imunização ativa das mães, a resposta sorológica passiva dos bezerros é similar até os três meses de idade; há uma correlação linear da resposta sorológica passiva dos bezerros com a data de vacinação das mães e o dia do parto; e a resposta sorológica dos bovinos é significativamente inferior quando se emprega a cepa de campo (SP) como antígeno. Assim, ressalta-se a importância da vacinação das mães próximo ao parto para assegurar a transferência de anticorpos colostrais capazes de garantir uma imunidade protetora frente a desafios naturais em bovinos com idade inferior a seis meses. Além disso, torna-se necessário a introdução de cepas de campo regionais no processo de fabricação das vacinas e a melhoria da vigilância epidemiológica.

REFERÊNCIAS

CRICHTON, R.; SOLOMON, J.; BARTON, A. M. The development of an Enzyme-linked immunosorbent assay for measuring the potency of vaccines containing *Clostridium chauvoei* antigens. **Biologicals**, London, v. 18, p. 49-54, 1990.

KERRY, J. B. Immunological differences between strains of *Clostridium chauvoei*. **Research in Veterinary Science**, London, v. 8, p. 89-97, 1967.

KRIEK, N. P. J.; ODENDAAL, M. W. *Clostridium chauvoei* infections. In: COETZER, R.; TUSTIN, R.C. **Infectious diseases of livestock**. Cape Town. Oxford Press, vol 3, p. 1856-1862, 2004.

MOUSSA, R. S. Antigenic formulae for *Clostridium septicum* and *Clostridium chauvoei*. **Journal of Pathology and Bacteriology**, Edinburgh, v. 77, p. 341-350, 1959.

ROGERS, G. M.; SWECKER, W. S. JR. Clostridial vaccines: timing and quality assurance. **Food Animal**, p. 278-285, 1997.

SANTOS, B. A. **Avaliação da eficácia em cobaias de imunógenos contra carbúnculo sintomático em uso no Brasil**. 2003, 35f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva,) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SCHIPPER, I. A.; KELLING, C. L.; MAYER, J.; PFEIFFER, N. W. Effects of passive immunity on immune response in calves vaccinated against *Clostridium chauvoei* infection (blackleg). **Veterinary Medicine/Small Animal Clinician**, Lenexa, v. 73, p. 1564-1566, 1978.

TROXEL, R.; BURKE, G.L.; WALLACE, W. T.; KEATON, L. W.; McPEAKE, S. R.; SMITH, D.; NICHOLSON, I. Clostridial vaccination efficacy on stimulating and maintaining an immune response in beef cows and calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 19-25, 1997.

TROXEL, R.; GADBERRY, M. S.; WALLACE, W. T.; KREIDER, D. L.; SHOCKEY, J. D.; COLBURN, E. A.; WIDEL, P.; NICHOLSON, I. Clostridial antibody response from injection-site in lesions in beef cattle, long-term response to single or multiple dose, and response in newborn beef calves. **American Society of Animal Science**, v. 79, p. 2558-2564, 2001.

DISTRIBUIÇÃO DE ANTICORPOS PARA *Leptospira* sp EM BÚFALOS (*Bubalus bubalis*) DA REGIÃO NORDESTE DO ESTADO DO PARÁ, BRASIL

Geanne Rocha da Silva¹, Carla Cristina Guimarães de Moraes², Keyla Cristina do Nascimento de Melo¹, Amanda de Sousa Matos¹, Ivan Mattoso de Andrade¹, João Maria do Amaral Jr¹, Dinaiaara de Souza Fragoso¹, Carolina Ferreira Freitas Pereira¹, Iara Costa Soares¹, Carmen Silvia Araujo Neves¹, Rosely Bianca dos Santos³, André Marcelo Conceição Meneses⁴, Ana Paula Vilhena Beckman Pinho⁵, Zenaide Maria de Moraes⁶, Gisele Oliveira de Souza⁷, Silvio Arruda de Vasconcellos⁸

¹ Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará

² Médica veterinária, doutora, professora do curso de Medicina Veterinária - Universidade Federal do Pará, CEP: 68743-000 – Castanhal – Pará – Brasil. E-mail: ccmoraes@ufpa.br (autor correspondente)

³ Médica veterinária, doutoranda CAPES, FMVZ – Universidade de São Paulo

⁴ Médico Veterinário, doutor, professor do curso de Medicina Veterinária - Universidade Federal Rural da Amazônia

⁵ Médica veterinária, mestranda, Universidade Federal do Pará

⁶ Bióloga, laboratório de zoonoses bacterianas, FMVZ- Universidade de São Paulo

⁷ Nutricionista, laboratório de zoonoses bacterianas, FMVZ- Universidade de São Paulo

⁸ Médico Veterinário, professor titular, professor da FMVZ-Universidade de São Paulo

PALAVRAS-CHAVE: Bubalino, leptospirose, soroaglutinação microscópica.

ABSTRACT

PREVALENCE OF ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP. ANTIBODIES IN BUFFALOES RAISED IN PARÁ, BRAZIL

This study investigates the occurrence of leptospirosis in buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the northeast region of Pará, Brazil. Sera samples from 127 animals were tested by microscopic agglutination test (MAT) with live antigens using reference strains of 24 different leptospiral serovars, which was carried out in the Laboratory of Bacterial Zoonosis (FMVZ/USP). Positive MAT titres (between 100 and 3,200) were found. A total of 67,72% of samples were reactive to one or more *Leptospira* spp. serovars, of which serovar Hardjo genotype hardjioprajitno was the most common (15,75%), followed by serovars grippotyphosa, pomona (11,81% each), and wolffi (7,09%). Research findings were very similar to those of other studies in Brazil, although some differences were observed as regards predominant serovars in buffaloes. We conclude that the prevalence of *Leptospira* spp. in the herds studied is probably due to the region's climate, which facilitates the spread of bacteria.

KEYWORDS: Buffalo, leptospirosis, microscopic seroagglutination.

INTRODUÇÃO

A região norte concentra 63% da população de bubalinos (*Bubalus bubalis*) criados no território nacional e segundo dados do IBGE (2007) grande parcela destes animais é criada na ilha do Marajó/Pará. As características geográficas desta região dificultam o manejo dos animais, fazendo com que sejam criados em regime basicamente extensivo e sem devidos cuidados para uma alimentação adequada. Por outro lado, em outras regiões do estado o manejo desta espécie é mais adequado mesmo porque são animais destinados para a reprodução e produção de carne ou leite (MARQUES, 2000).

A leptospirose é uma zoonose de curso agudo que afeta diversas espécies de animais domésticos, silvestres e pode, acidentalmente, acometer os seres humanos. Possui como agente etiológico bactérias espiraladas, pertencentes a ordem Spirochaetales, família Spirochaetaceae e gênero *Leptospira* (SMITH, 2006). As infecções por *Leptospira* sp na espécie bubalina comumente são determinadas pelos sorovares Hardjo, Wolffii, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola e Grippothyphosa (LANGONI et al., 1999; RADOSTITS, 2002; AGUIAR et al., 2006).

A bactéria após penetrar as mucosas ou a pele, lesionadas ou integras friáveis, alcança a circulação sangüínea onde se multiplica ativamente, caracterizando um processo denominado de leptospiremia, indo colonizar praticamente todos os tecidos, causando comprometimento de órgãos vitais (RIET, 2007). Assim como em bovinos, nos bubalinos esta fase pode ser responsável por importantes alterações reprodutivas algumas semanas após a infecção (COSTA et al., 1998; ELLIS, 1994; RADOSTITS et al., 2002).

A pesquisa de anticorpos (Ac) constitui a principal prova de diagnóstico da leptospirose, incluindo teste sorogrupos – específicos, dos quais a prova de soroaglutinação microscópica (SAM) é a mais importante e amplamente utilizada. A organização Mundial de Saúde (OMS) considera esta prova como de referência para o diagnóstico da enfermidade, tanto no homem quanto nos animais, pois, além de detectar Ac específicos é utilizada também na classificação e identificação dos sorotipos isolados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003; LOMAR et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2005).

Em virtude da escassez trabalhos científicos publicados com enfoque na bubalinocultura, este trabalho objetivou avaliar a ocorrência da leptospirose em rebanhos bubalinos em municípios da região nordeste do estado do Pará.

MATERIAL E MÉTODO

Animais e colheita de amostras

Os 127 bubalinos participantes deste estudo eram provenientes da região Nordeste do Estado do Pará, sendo 25 machos e 102 fêmeas, da raça Murrah e Mestiço, criados sob manejo de sombra e em regime extensivo. A colheita das amostras de sangue foi realizada por venopunção jugular com tubos de coleta a vácuo sem anticoagulante. O soro obtido foi armazenado em tubos de polietileno com capacidade de 2ml, em temperatura de -20°C, até o momento da execução da análise sorológica de soroaglutinação microscópica (SAM), no Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB) do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), no período de Janeiro do ano de 2008.

Método

Para a realização da prova de SAM, foram utilizadas como antígenos as culturas de cepas-padrão de 24 sorovares de *Leptospira* sp (Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo genotype hardjoprajtino, Wolffii, Hardjo (hardjobovis), Shermani, Tarassovi, Patoc, Sentot).

A prova de SAM é constituída por duas fases, antes das quais todos os antígenos foram isoladamente examinados ao microscópio de campo escuro, contudo convém informar que precedendo o teste, com o intuito de se observar presença de auto-aglutinação, mobilidade ou mesmo de contaminantes nestas culturas. Durante a fase de triagem o soro de cada animal foi diluído na proporção 1:50 em solução salina de Sorensen estéril e distribuído, com auxílio de pipeta automática, em microplacas de polietileno com fundo em “U”, onde cada amostra foi testado frente a um sorovar de *Leptospira* sp. Após a homogeneização do antígeno com o soro, as placas permaneceram em temperatura ambiente por aproximadamente 2 horas e, ao final deste período foi realizada a leitura de cada “Wells” (compartimento) em microscopia de campo escuro com objetiva de 10x e ocular de 10x a 15x. a interpretação dos resultados foi baseada na ausência ou intensidade de aglutinação das leptospiros, de modo que os soros que apresentaram valor $\geq 50\%$ de leptospiros aglutinadas foram encaminhados à titulação.

Durante a fase de titulação, as amostras reagentes na triagem eram diluídas em escala geométrica de razão dois a partir da diluição 1:100, sendo o título final análogo a maior diluição onde foi observada aglutinação leptospírica $\geq 50\%$. Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico pelo teste de comparação de proporções baseado na estatística Qui-quadrado (χ^2) no nível de 5% de significância (ZAR, 1996).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Das 127 amostras de soros búfalos analisadas, 67,72% (86/127) apresentaram-se reagentes para um ou mais sorovares de *Leptospira interrogans* pela prova de soroadglutinação microscópica (SAM), com títulos variáveis entre 100 a 3.200. O maior percentual de positivos foi observado para o sorovar Hardjo (hardjioprajitno) com 15,75% (20/127), seguido pelos sorovares Grippotyphosa e Pomona os quais reagiram igualmente em 11,81% (15/127) dos animais pesquisados. O sorovar Wolffi foi reagente em 7,09% (9/127) das amostras testadas, enquanto que as cepas de Autumnalis e Icterohaemorrhagiae foram igualmente reagentes em 4,72% (6/127) dos soros estudados. Os sorovares Shermani e Butembo foram observados na proporção de 3,94% (5/127) e 3,15% (4/127), respectivamente, enquanto que 1,57% (2/127) dos animais testados reagiram de modo equivalente aos sorovares Patoc e Pyrogenes. Novamente em igual proporção os sorovares Australis e Copenhageni reagiram para 0,79% (1/127) das amostras testadas. Por outro lado, os sorovares Australis, Bratislava, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Hebdomadis, Copenhageni, Javanica, Panama, Hardjo (hardjobovis), Tarassovi, Sentot não foram reagentes em nenhuma das amostras analisadas.

Ao analisar independentemente do sorovar, a positividade para anticorpos contra *Leptospira interrogans* os resultados desta pesquisa foram superiores aos encontrados por Langoni et al.,(1999) que ao testarem 403 soros de búfalos encontraram 37,7% de reações positivas em animais do Vale do Ribeira/SP; as respectivas amostras foram reagentes para os sorovares Wolffi (n=68, 44,8%), Icterohaemorrhagiae (n=51, 33,6%), Hardjo (n=51, 33,6%), Castellonis (n=25, 16,5%), Djasiman (n=12, 7,9%), Grippotyphosa (n=10, 6,6%), Pomona (n=8, 5,2%), Bratislava (n=6, 4,0%), Copenhageni (n=5, 3,3%) e Tarassovi (n=4, 2,7%). Como os sorovares Wolffi, Hardjo e Icterohaemorrhagiae foram os mais prevalentes, estes achados concordam parcialmente com o presente estudo em virtude do comportamento expressivo do sorovar Icterohaemorrhagiae.

O presente estudo também apresentou valores de positividade, independente de sorovar, superiores aos relatados por FAVERO, et al. (2002) que ao avaliarem 879 soros de búfalos observaram 43,7% de sororeagentes, no entanto, proporcionalmente o valor percentual de reagentes para os sorovares Hardjo (43,3%) e Wolffi (32,5%) demonstrou discordância com o presente trabalho que referiu valores percentuais de 15,75% e 7,09% para os mesmo sorovares, respectivamente.

Ao investigarem a prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp em 2.109 vacas bubalinas do município de Monte Negro/RO AGUIAR et al. (2006), encontraram 52,8% de

reagentes sendo os sorovares mais prevalentes representados por Hardjo (14,5%), Wolffi (12,3%), Shermani (10,8%), Patoc (7,9%) e Hebdomadis (6,1%), apesar dos valores próximos aos resultados aqui apresentados, se pode notar discordâncias entre os valores proporcionais na análise individual destes sorovares.

Como se acredita que o comportamento fisiológico dos bubalinos possua grande identidade com o dos bovinos, este estudo discute um paralelo com a investigação soroepidemiológica realizada por CASTRO et al. (2008) que analisaram 8.216 amostras soro de fêmeas bovinas em idade reprodutiva e referiram uma soroprevalência de 49,4% na qual foram encontrados identificados os sorovares Hardjo (46%), Wolffi (21%), Shermani (8,9%), Autumnalis (4,4%) e Grippytyphosa (3,9%).

A avaliação individual da ocorrência do sorovar Pomona figurando entre um dos mais prevalentes neste estudo 11,81% (15/127), demonstra discrepância em comparação proporcional com os estudos divulgados por LANGONI et al. (1999), AGUIAR et al. (2006) e de CASTRO et al. (2008). Por outro lado, os resultados obtidos nesta pesquisa corroboram com estes mesmo autores quando relata que os sorovares Hardjo, Pomona e Wolffi foram os de maior ocorrência nos soros testados.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. M.; GENNARI, S. M.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; VASCONCELLOS, S. A.; RODRIGUES, A. A. R.; MORAES, Z. M.; CAMARGO, L. M. A. Soroprevalence of *Leptospira* spp. in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p.102-104, 2006.
- CASTRO, V., AZEVEDO, S. S., GOTTI, T. B., BATISTA, C. S. A., GENTILI, J., MORAES, Z. M., SOUZA, G. O., VASCONCELLOS, S. A., GENOVEZ, M. E. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado de São Paulo, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 3-11, 2008.
- COSTA, M. C. R.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C.; et al. Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 50, p. 11-17, 1998.
- ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 10, p. 463-478, 1994.
- FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; NETO, J. S. F. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães da diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 2-16, 2002.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal** volume 35. 2007.

LANGONI, H., DEL FAVA, C., CABRAL, K. G., SILVA, A. V., CHAGAS, S. A. P. Aglutininas antileptospíricas em búfalos do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 305-307, 1999.

LOMAR, A. V.; DIAMENT, D.; BRITO, T.; VERONESI, R. Leptospirose In: VERONESI, R. **Tratado de infectologia**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. cap. 76, 1239-1255p.

MARQUES J.R.F. Búfalos: 500 perguntas e 500 respostas. **Embrapa Amazônia Oriental**, 176 p. 2000.

OLIVEIRA, R. C., FREITAS, J. C., SOUSA, E.M. DELBEM, A. C. B.; ALVES, L. A.; MULLER, E. E.; BALARIM, M. S.; REIS, A. C. F., BATISTA, T. N., VASCONECLOS, S.A. Diagnóstico laboratorial de leptospirose utilizando diferentes técnicas. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 111-113, 2005.

RADOSTITS, M. O. et al. **Clínica veterinária: Tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos, e eqüinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RIET, C. F.; SCHILD, L. A.; LEMOS, A. R.; BORGES, J. R. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3º Ed. Vol. 1. Rio Grande do Sul: Pallotti, 2007.

SALLES, R. S.; LILENBAUM, W. Leptospirose bovina no Brasil. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, n. 21, 2000. (Suplemento Técnico).

SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – LIS (2003) **Human leptospirosis: guidance for diagnosis surveillance and control** – ISBN9241545895.

ZAZ, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall. 1996. 718p.

OCORRÊNCIA DE TUBERCULOSE EM REBANHO BUBALINO (*Bubalus bubalis* VAR. *BUBALIS*-LINNEUS, 1758) EM UMA PROPRIEDADE DO MUNICÍPIO DE ARARI, MARANHÃO, BRASIL

Helder de Moraes Pereira¹, Hamilton Pereira Santos², Danilo Cutrim Bezerra³, Ana Cristina Costa Aragão⁴ e Vanessa Evangelista de Sousa⁴

1- Médico Veterinário, doutor, Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão – UEMA. E-mail: helderpereirap@yahoo.com.br (autor correspondente)

2- Médico Veterinário, Mestre, Professor do Curso de Medicina Veterinária, UEMA.

3- Médico Veterinário, Mestrando em Ciências Veterinárias, - UEMA.

4- Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária da UEMA

PALAVRAS-CHAVE: Búfalos, enfermidade infecciosa, tuberculinização.

ABSTRACT

TUBERCULOSIS IN BUFFALOES (*BUBALUS BUBALIS* – LINNEUS, 1758) RAISED IN THE MUNICIPALITY OF ARARI, MARANHÃO, BRAZIL

Tuberculosis is a chronic granulomatous infection which mainly affects cattle and buffalo herds. It is characterized by the progressive development of nodular lesions called tubers, which may be found in any organ or tissue. Therefore, this study evaluates the incidence of tuberculosis in buffaloes raised in a farm located in Arari, Maranhão. A total of 155 animals (147 males and 8 females) were tested by comparative cervical tuberculin test (CCT). They were of Murrah and Murrah mestizo breeds and different age groups. No animals presented any clinical signs; however, 21 had positive reactions (13,54%); 12,9% males and 0,64% females. Regarding age, the highest frequency was observed in animals aged 4 to 7 years old (18,18%), between 0 and 3 years old (14,03%), and more than 7 years old (11,84%). We conclude that this herd showed high incidence of positive animals, suggesting a need to develop public health measures for tuberculosis control.

KEYWORDS: Buffalo, infectious disease, tuberculosis test.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui o 11º maior rebanho de búfalos representando 0,71% do percentual mundial. (GARCIA, 2005). Os primeiros animais foram introduzidos no ano de 1890, da raça Carabao na Ilha de Marajó. No Maranhão a bubalinocultura iniciou no final dos anos 50 na

região da baixada maranhense. O estado tem um rebanho de 77.000 cabeças, sendo o maior rebanho da região Nordeste (IBGE, 2007).

São deficientes as informações científicas sobre a sanidade dos rebanhos bubalinos no país, uma vez que se consideram estes animais de alta rusticidade, sendo considerados resistentes a várias enfermidades que acometem os demais ruminantes. Entretanto, os búfalos são susceptíveis a vários agentes etiológicos sejam infecciosos ou parasitários que acometem principalmente os bovinos (MOTA et al., 2002).

A tuberculose é uma enfermidade infectocontagiosa de caráter crônico, caracterizada pela formação de granulomas específicos, denominados tubérculos e seu agente etiológico é o *Mycobacterium bovis*. As lesões nodulares podem acometer vários órgãos como linfonodos, pulmões, baço e fígado (OLIVEIRA et al., 2007).

Estudo realizado em búfalos abatidos em matadouro demonstrou uma prevalência de 60,3% de lesões compatíveis com tuberculose, principalmente nos pulmões. A maioria dos bubalinos não manifesta sinais clínicos, porém nos casos em que estes se manifestam se assemelham aos dos bovinos, bem como as lesões anatomopatológicas (FREITAS, 2001).

Por ser uma enfermidade de alto contágio é de suma importância o diagnóstico. O teste de tuberculinização tem sido o método empregado atualmente para o diagnóstico da tuberculose, sobretudo o comparativo cervical conforme recomendação do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (BRASIL, 2003).

Devido ao grande interesse dos bubalinocultores no melhoramento sanitário dos rebanhos no estado do Maranhão é que este trabalho teve como objetivo descrever a ocorrência da tuberculose em búfalos em uma propriedade no município de Arari, Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

Região

A cidade de Arari é uma das cidades que compõe a Baixada Maranhense juntamente com outros 20 municípios está a 7m de altitude, área 1.100,285 km², temperatura média variando de 30° a 40°, com população de 12.580 habitantes (IBGE, 2007).

Experimento

Foram testados 155 bubalinos sendo 147 fêmeas e oito machos de uma propriedade do município de Arari. O rebanho era constituído de animais da raça Murrah e mestiço de Murrah de diferentes faixas etárias. Estes búfalos foram submetidos à prova de tuberculinização comparada, sendo empregada a tuberculina PPD aviária e PPD bovina, na

concentração de 1 mg de proteína por mL (32.500 UI) e 0,5 mg de proteína por mL (25.000 UI) por dose, respectivamente. A aplicação das tuberculinas foi intradérmica na região cervical, a aviação anterior a PPD bovina em locais previamente tricotomizados, cerca de 20 cm um do outro. Foram usadas seringas com dose automática de 0,1ml. A leitura foi realizada 72 horas após a inoculação, baseando-se nas recomendações de interpretação da tuberculinização para bovinos, segundo o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose - PNCEBT (BRASIL, 2003). Foram considerados positivos animais que após tuberculinização apresentaram espessura superior a 4 mm. A reação cutânea foi quantificada pela diferença de mensuração antes e no ato da leitura. Feita com o cutímetro instrumento utilizado para medir a área da reação alérgica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 155 animais submetidos à prova alérgica de tuberculinização, nenhum apresentava sinais clínicos, entretanto, 21 tiveram reações positivas, com uma frequência de 13,54 %. Este resultado foi superior aos obtidos por FREITAS et al. (2001) que encontraram no estado de São Paulo frequência de animais positivos por meio do isolamento bacteriano de 7,7 % e reagentes a tuberculinização comparada de 8,11 %, respectivamente, e inferior aos obtidos por MOTA, (2002) que estabeleceu a prevalência de 20,4 % em animais da Amazônia submetidos à reação alérgica. Este resultado foi superior aos obtidos por MELO et al. (1965) e PORTUGAL et al. (1971), que encontraram no Estado de São Paulo frequência de animais reagentes à tuberculinização de 15,2% e 6,04%, respectivamente.

Houve uma frequência de animais positivos de 12,9 % e 0,64% para fêmeas e machos respectivamente. Estes dados diferem dos descritos por FREITAS et al. (2001), que encontraram 3,5% para fêmeas e 4,2% para machos. A frequência em um matadouro que abateu 62,1% de fêmeas apresentou a prevalência em 1997 de 1,2 % (BAPTISTA, 2004). Quanto à idade, a maior frequência foi observada nos animais de faixa etária de 4 - 7 anos com 18,18 % (n= 4), 14,03% (n= 8) entre 0 e 3 anos e 11,84% (n= 9) para animais maiores que 7 anos.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos em uma propriedade do município de Arari, Maranhão pode-se concluir que: houve uma maior frequência de fêmeas positivas; animais na faixa etária de 4 a 7 anos tiveram maior frequência quando comparado as demais faixas

etárias, o rebanho avaliado apresentou alta frequência de animais positivos, sendo necessário a adoção de medidas sanitárias de controle para a enfermidade.

REFERÊNCIAS

BAPTISTA, F.; MOREIRA, E. C.; SANTOS, W. L. M.; NAVEDA, L.A.B. Prevalência da tuberculose em bovinos abatidos em Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 5, p.577-580, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento de Defesa Animal (DDA). **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)**. Brasília: Ministério da Agricultura, 2003. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. acesso em 20 de abril de 2009.

FREITAS, J. A.; GUERRA, J. L.; PANETA, J. S. Características da tuberculose observada em búfalos abatidos para consumo: aspectos patológicos e identificação de micobactérias. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 170-176, 2001.

GARCIA, S. K. L.; AMARAL, A.; SALVADOR, D. F. Situação da bubalinocultura mineira. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 1, p. 18-27, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), 2007. Banco de dados agregados. Disponível em: [http:// WWW.sidra.igge.gov.br/dba/acervo](http://WWW.sidra.igge.gov.br/dba/acervo). Acesso em 15 de abril de 2009.

LOPES, L. B.; CUNHA, A. P.; MOTA, R. A.; LEITE, R. C. Comparação de duas técnicas de tuberculinização em búfalos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 2, p. 187-191, 2006.

MELLO, D.QUEIROZ, J. C.; GALVÃO, T. B. Reações positivas à prova de tuberculina em búfalos, *Bubalus bubalis*, var. *Bubalis* (Linneu 1758). **Revista de Medicina Veterinária**, São Paulo, v.1, p.115-116, 1965.

MOTA, P. M. P. C.; LOBATO, F. C. F.; ASSIS, R. A.; LAGE, A. P.; PARREIRAS, P. M.; LEITE, R. C. Ocorrência de tuberculose em rebanhos bubalinos (*Bubalus bubalis* var.

bubalis-Linneus, 1758) no Município de Parintins, Amazonas. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 4, p. 441-443, 2002.

OLIVEIRA, I. A. S.; MELO, H. P. C.; CÂMARA, A.; DIAS, R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Prevalência de tuberculose no rebanho bovino de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 395-400, 2007.

PORTUGAL, M. A. S. C.; GIORGI, W.; SIQUEIRA, P. A. Ocorrência de tuberculose em bubalinos (*Buballus bubalis* var. *Bubalis lineus*, 1758) no Estado de São Paulo. **Arquivo Instituto Biologico**, São Paulo, v. 4, p. 231-238, 1971.

PREVALÊNCIA SOROLÓGICA DA ARTRITE-ENCEFALITE CAPRINA EM REBANHOS CAPRINOS DO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO – BAHIA, BRASIL

Carla Caroline Valença de Lima¹, Thiago Sampaio Souza², Priscila Martinez Martinez³, Joselito Nunes Costa⁴, Maria das Graças Ávila Ribeiro Almeida⁵, Antônio Vicente Magnavita Anunciação⁶ e Raymundo Rizaldo Pinheiro⁷

1. Acadêmica da Escola de Medicina Veterinária (EMV), Universidade Federal da Bahia (UFBA) - CEP: 40170-110 Salvador- Bahia, Brasil. E-mail: carla.ccvl@gmail.com (autor correspondente)

2 Médico Veterinário, mestrando em Ciência Animal dos Trópicos, EMV/UFBA.

3 Médica Veterinária da CODEVASF 6ªSR, Ms. em Ciência Animal dos Trópicos EMV/UFBA.

4 Professor Doutor do Departamento de Patologia e Clínicas da EMV/UFBA.

5 Médica Veterinária do Laboratório de Víruses do Hospital Veterinário da EMV/UFBA.

6 Professor Ms. do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da EMV/UFBA

7 Pesquisador Doutor da Embrapa Caprinos e Ovinos.

PALAVRAS-CHAVE: CAEV, caprino, epidemiologia, IDGA, *Lentivirus*.

ABSTRACT

SEROLOGIC PREVALENCE OF CAPRINE ARTHRITIS-ENCEPHALITIS (CAE) IN THE CITY OF JUAZEIRO, BAHIA, BRAZIL

This study aims to verify serologic prevalence of caprine arthritis-encephalitis (CAE) in the city of Juazeiro, Bahia, by carrying out an agar gel immunodiffusion proof test (AGID). Furthermore, it attempts to characterize the region's breeding systems. To this end, 150 samples of goat blood serum were analyzed from 10 farms at different localities in Juazeiro. The health information management was recorded in the questionnaire itself. Extensive farming systems and mixed breeds are predominant in the region and animals are raised mainly for meat. The farms also show low productivity and technification. Several diseases were observed, such as caseous lymphadenitis, keratoconjunctivitis, and diarrhea ectoparasitic infestations. Seropositivity was not observed in caprine arthritis-encephalitis, which increases the need for further epidemiological surveys in the region, especially when importing animals for breeding improvement.

KEYWORDS: AGID, CAEV, epidemiology, goat, *Lentivirus*.

INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma das mais importantes atividades pecuárias da região Nordeste. Na maioria das propriedades, observa-se o uso extensivo da terra, com nível rudimentar de

tecnologia, pouca ou nenhuma assistência técnica, obtendo baixos índices de produtividade, resultando numa baixa remuneração ao produtor. O homem do campo dessa região utiliza a agricultura e a pecuária como modo de vida, sendo muito mais uma atividade para o autoconsumo (SOUZA, 2004). O município de Juazeiro possui uma população caprina estimada em 218.951 cabeças (IBGE, 2008). A maioria dos rebanhos tem origem local e não possui animais de raça exótica, ou seja, que apresentem características zootécnicas determinantes de raças importadas (SOUZA et al., 2007). Surge, portanto a necessidade de melhoramento genético utilizando-se animais de outras regiões, a fim de aumentar a produtividade. Isto reforça a importância de se controlar a entrada de enfermidades como a artrite-encefalite caprina (CAE).

A CAE é uma doença causada por vírus da família *Retroviridae*, gênero *Lentivirus*, e apresenta período de incubação longo, variando de meses a anos, evolução geralmente crônica, com agravamento progressivo das lesões, perda de peso e debilidade até a morte (FRANKE, 1998). É uma enfermidade que acarreta grandes perdas econômicas nos rebanhos caprinos, principalmente naqueles de produção leiteira, acometendo animais de diferentes raças, idades e sexo. As perdas econômicas se caracterizam por morte de animais jovens, diminuição da produção láctea e perda de peso dos adultos devido a dificuldades de locomoção. Perdas indiretas importantes decorrem da desvalorização dos rebanhos, reposição precoce de animais, despesas com medidas de controle e barreiras comerciais para produtos (matrizes, reprodutores e sêmen) (PINHEIRO et al., 2001).

Ao considerar-se a CAE como uma das enfermidades mais importantes para os caprinos, realizou-se este trabalho com o objetivo de verificar a sua prevalência sorológica no município de Juazeiro –Bahia e caracterizar os sistemas de criação da região.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de atuação desse levantamento epidemiológico da CAE envolve o município de Juazeiro, que pertence à Região do Baixo Médio São Francisco, composta por mais sete municípios: Pilão Arcado, Campo Alegre de Lourdes, Remanso, Sento Sé, Casa Nova, Sobradinho e Curaçá. O efetivo caprino desta região é de 985.076 caprinos, o que representa aproximadamente 30,9% do rebanho baiano e 10,4% do rebanho nacional (IBGE, 2008). As maiores concentrações são observadas nos municípios de Juazeiro e Casa Nova.

Como este trabalho representa estudos preliminares de um projeto de pesquisa que abrange toda a Região do Baixo Médio São Francisco, o cálculo de amostragem foi realizado

levando-se em consideração todos os municípios dessa região. O número mínimo de amostras foi de 619, determinado a partir da fórmula de ASTUDILLO (1979), sendo que esse total foi distribuído pelos oito municípios de forma proporcional ao rebanho de cada um deles. Os dados de rebanho utilizados nos cálculos foram do IBGE disponíveis no ano de 2008. Para o município de Juazeiro, foram testadas 150 amostras, oriundas de 10 propriedades.

As propriedades visitadas foram cadastradas. Além disso, foi aplicado um questionário abordando dados do criador, da fazenda e do rebanho, objetivando-se correlacionar diferentes variáveis acerca do nível tecnológico, sanidade e aspectos zootécnicos com a soroprevalência observada.

Os animais foram avaliados clinicamente, buscando-se alterações características da CAE, segundo RADOSTITS et al. (2002). A idade dos animais foi estimada com base no número de mudas de dentes. Após a anti-sepsia com álcool iodado, as amostras de sangue foram colhidas através da punção da veia jugular, utilizando-se tubos a vácuo, sem anticoagulante. Em seguida, após a formação de coágulo, os tubos foram centrifugados a 1600g por 10 minutos para a obtenção do soro, que foi acondicionado em tubos plásticos tipo *eppendorf*® e estocados a -20°C até a realização do teste sorológico.

Para detecção de anticorpos contra o lentivírus caprino (LVC), foi utilizada a técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), utilizando-se antígeno nacional produzido no Laboratório Biovetech®. Toda a técnica realizada seguiu rigorosamente as recomendações do fabricante. Este teste utiliza um antígeno específico do LVC, a proteína do capsídeo (p28). A leitura foi realizada após 48-72 horas, com luz indireta sobre fundo escuro, sendo considerada definitiva a última leitura. Considerou-se como reação positiva a presença de uma linha de precipitação esbranquiçada e uniforme entre o poço teste e o antígeno, apresentando identidade com a linha formada pelo soro padrão e como reação negativa a ausência de uma linha de precipitação ou linhas sem identidade (ABREU et al., 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram visitadas propriedades das comunidades do município de Juazeiro, BA, denominadas de Carnaíba, Juremal, Massaroca, Junco, Boqueirão e Campos, onde se colheu amostras de 150 animais. Verificou-se que os sistemas de criação são essencialmente extensivos, voltados para a exploração de carne, sendo que 80% realizam suas criações em terras devolutas, com capril de chão batido e apenas 20% destes possuem cobertura. Os animais ficam soltos em grandes áreas, comuns a vários produtores, onde o criador pouco atua

no controle da sanidade da criação. Além disso, 70% das criações são consorciadas com ovinos, destas 20% também com bovinos e 20% consorciadas apenas com bovinos. Com relação à presença de animais de raça, foram observados mestiços de Anglonubiano, Boer e Saanen em respectivamente 30%, 10% e 10% das propriedades, sendo que em todas eram predominantes animais sem raça definida.

Estas observações estão de acordo com as verificadas por SOUZA et al. (2007) ao trabalhar com ovinos na região de Juazeiro, salientando que os animais são criados sem nenhuma tecnologia e vivem principalmente do pastejo, o que acarreta baixa produtividade e também elevada morbidade em virtude de alterações climáticas, de manejo sanitário deficiente e de alimentação inadequada. Ainda assim é possível afirmar que a caprinocultura nesta região possui grande impacto social, econômico e cultural, exigindo, portanto, atenção e dedicação para maiores pesquisas (SOUZA, 2004).

Através dos questionários os proprietários relataram a ocorrência das seguintes enfermidades em seus rebanhos: linfadenite caseosa (100%), miíase (90%), ceratoconjuntivite (90%), diarreias (80%), ectoparasitas (70%), ectima contagioso (70%), mastite (60%), artrite (20%) e pododermatite (20%).

Os resultados obtidos demonstraram que anticorpos para o vírus da CAE não ocorrem nestes rebanhos caprinos, corroborando com estudos que associam a ocorrência do lentivírus a criações de exploração leiteira ou com animais de raça, em sistema intensivo (ALMEIDA et al., 2001; PINHEIRO et al., 2001; SILVA et al., 2005, OLIVEIRA et al., 2006).

A soroprevalência encontrada é similar à relatada por PINHEIRO et al. (2001) em um estudo realizado no estado do Ceará, no qual foi obtido uma soroprevalência de 0,1% em caprinos mestiços. No estado da Bahia, ALMEIDA et al. (2001) observaram uma soropositividade de 3,06% para caprinos sem raça definida (SRD), contrastando com 18,92% para animais da raça Saanen, 16,06% para Pardo Alpino, 15,76% para Anglonubiano, criados intensivamente. Num outro levantamento realizado com caprinos criados extensivamente no Sudoeste do estado, OLIVEIRA et al. (2006) observaram uma soroprevalência de 0% para animais SRD, diferente dos resultados obtidos ao se trabalhar com animais das raças Anglonubiano e Saanen, de 1,87% e 5,6% respectivamente. Resultados de baixa ocorrência sorológica para CAE em animais oriundos do semiárido baiano foi detectado por RAMALHO (2000), que obteve uma soropositividade de 3,3% para CAE pelo método de IDGA, contrastando com os 48,8% observados no mesmo estudo para animais da Região Metropolitana de Salvador.

CONCLUSÕES

Não foi observada soropositividade para CAE no município de Juazeiro – Bahia, demonstrando a aparente ausência da doença nesta região. O sistema de criação observado foi predominantemente extensivo, com presença de animais nativos, mestiços e sem raça definida, visando principalmente a produção de carne, com baixa produtividade e baixo índice de tecnificação. A ausência da sorologia positiva para o vírus da CAE no município estudado aponta a importância da realização de um levantamento epidemiológico mais abrangente no estado, servindo como base para a elaboração de um programa sanitário que evite a entrada de animais portadores do vírus e a disseminação deste para outras regiões.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) pelo financiamento do projeto, à Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba (CODEVASF 6ªSR) pelo apoio técnico às ações realizadas a campo, ao Laboratório de Viroses da EMV/UFBA pela estrutura laboratorial utilizada para a realização dos exames e aos criadores de caprinos da Microrregião de Juazeiro - BA pela disponibilidade dos animais para que as colheitas pudessem ser realizadas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, S. R. O.; CASTRO, R. S.; NASCIMENTO, S. A.; SOUZA, M. G. Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o do vírus Maedi-Visna para utilização em teste de imunodifusão em ágar gel. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 2, p. 57-60, 1998.
- ALMEIDA, M. G. A. R.; ANUNCIAÇÃO, A.V. M.; FIGUEIREDO, A. MARTINEZ, T. C. N.; LABORDA, S. S. Dados sorológicos sobre a presença e distribuição da artrite-encefalite caprina (CAE) no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 1, n. 3, p. 78-83, 2001.
- ASTUDILLO, V. M. **Encuestas por muestro para estudios epidemiologicos en poblaciones animales**. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de la Salud – Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 1979. 60p.
- FRANKE, C. R. **Controle sanitário da artrite-encefalite caprina (C.A.E.)**. Salvador: EDUFBA, 1998. 70p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2006 - Rebanho caprino**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 22 dez. 2008.

OLIVEIRA, B. F. L.; BERGAMASCHI, K. B.; CRUZ, M. H. C.; SANTOS, D. D.; CRUZ, A. D.; CRUZ, J. F. Prevalência de lentivirose em rebanhos caprinos e ovinos na região sudoeste da Bahia. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UESC, 12. 2006, Ilhéus. **Anais...** 2006, p. 134-135.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. Prevalência da infecção pelo vírus da Artrite-Encefalite Caprina no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 449-454, 2001.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F.; ANDRIOLI, A. Perfil de propriedades no estado do Ceará relacionado à presença do lentivírus caprino. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 14, n. 1, p. 29-37, 2004.

RADOSTITS, O. H.; GAT, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. Artrite encefalite caprina. In: __ **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 9.ed. 2002. p. 1098-1101.

RAMALHO, E. J. **Artrite-encefalite caprina - CAE: prevalência de anticorpos séricos em caprinos criados no Estado da Bahia**. 2000, 109 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.

SILVA, J. S.; CASTRO, R. S.; MELO, C. B.; FEIJÓ, F. M. C. Infecção pelo vírus da artrite encefalite caprina no Rio Grande do Norte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 6, p. 726-731, 2005.

SOUZA, R.L. Agricultura familiar e pluriatividade no semi-árido baiano. **Bahia Análises & Dados**, Salvador, v. 13, n. 4, p. 921-930, 2004.

SOUZA, T. S.; COSTA, J. N.; MARTINEZ, P. M.; PINHEIRO, R. R. Estudo sorológico da Maedi-Visna pelo método da Imunodifusão em Gel de Ágar em rebanhos ovinos de Juazeiro, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 8, n. 4, p. 276-282, 2007.

DETECÇÃO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAEV) PELA IMUNODIFUSÃO EM GEL DE AGAROSE (IDGA) E REACÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Lídia Maria Marques dos Santos¹, Elmiro Rosendo do Nascimento², Juliana Ferreira de Almeida², Karine de Castro Meirelles³, Roberto Soares de Castro⁴, Virginia Léo de Almeida Pereira²

1. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal - CMV/Universidade Federal Fluminense - UFF e bolsista CNPq

2. Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, CMV/UFF. Faculdade de Veterinária: R. Vital Brasil Filho, 64, Vital Brazil . CEP: 24.230-340. Niterói, RJ, Brasil.

E-mail: elmiro@vm.uff.br (autor correspondente)

3. Médica Veterinária, Leopoldina, MG

⁴Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE

PALAVRAS-CHAVE: Diagnóstico, doença infecciosa, pequenos ruminantes.

ABSTRACT

DETECTION OF CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS VIRUS INFECTION BY AGAR GEL IMMUNODIFFUSION AND POLYMERASE CHAIN REACTION

Caprine arthritis encephalitis (CAE) is a long-lasting, degenerative, fatal disease of high prevalence in goat herds in Brazil. Serologic analysis remains an indispensable means for confirming viral infection, especially by immunodiffusion gel agarose test (IDGA), although other methods might be used, such as polymerase chain reaction (PCR). This study investigates the positivity rate for CAE by PCR in animals previously diagnosed by IDGA. Seropositivity was observed in 25,40% of blood samples (n=63), which were analysed in the Molecular Biology Laboratory at Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense. One of the reactive samples by IDGA was also positive by PCR. The co-positivity between CAE detection by PCR and IDGA was lower. It is reported that after seroconversion, CAE positivity by PCR may decrease when compared to serologic test results. Based on this fact, we recommend using the association between the two tests for development of monitoring programs for CAE control.

KEYWORDS: Diagnosis, goats, infectious disease.

INTRODUÇÃO

A artrite encefalite caprina (CAE) é uma enfermidade incurável, degenerativa, com evolução lenta e de alta prevalência nos rebanhos caprinos nacionais (ANDRIOLI et al., 2007). O agente etiológico foi identificado no início da década de oitenta como um RNA-vírus pertencente ao gênero *Lentivirus* da família Retroviridae e subfamília Lentivirinae. Trata-se de uma doença infecciosa dos caprinos, podendo ocorrer também ovinos, que geralmente se apresenta de forma crônica, caracterizada por um longo período de incubação, em que, os animais infectados passam a ser portadores permanentes do vírus. A doença pode se manifestar por quadros clínicos de artrite, encefalite, mastite, pneumonia e emagrecimento crônico (FRANKE, 1998).

O diagnóstico dessa infecção viral é baseado na sorologia, sendo a prova de escolha a imunodifusão em gel de agarose (IDGA), embora outras técnicas para detecção do vírus possam ser utilizadas, tais como o isolamento viral, a hibridização *in situ* e a reação em cadeia da polimerase – PCR (ANDRIOLI et al., 2006).

Embora a IDGA seja a principal forma de detecção de animais infectados pelo CAEV e o teste indicado pela *World Organization for Animal Health* (OIE), possui um valor limitado na identificação de animais em fase inicial da infecção (FROTA et al., 2005). Por isso, para o diagnóstico precoce da enfermidade técnicas moleculares de detecção viral têm sido aplicadas, dentre elas a PCR, cujo objetivo é a amplificação *in vitro* dos ácidos nucleicos, permitindo a obtenção de milhares de cópias de uma sequência específica de DNA (FROTA et al., 2005; ANDRIOLI et al., 2006).

A PCR tem sido utilizada para a pesquisa do DNA proviral dos lentivírus de caprinos em diferentes amostras, como: sangue, líquido sinovial, leite e soro do leite, tecidos e sêmen (REDDY et al., 1993; RIMSTAD et al., 1994; BARLOUGH et al., 1994; CLAVIJO & THORSEN, 1996; ANDRIOLI et al., 2006).

Dessa forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a positividade para CAE por PCR, em animais com resultado positivo pela IDGA.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de material

Foram coletadas amostras sanguíneas por venopunção jugular, em 63 caprinos assintomáticos, provenientes de um rebanho do município de Leopoldina, Minas Gerais, Brasil. Para o teste de IDGA o sangue foi transferido para tubos *eppendorf* sem anticoagulante e para a PCR em tubos *vacutainer* com anticoagulante EDTA. As amostras

foram acondicionadas sob refrigeração em caixa isotérmica e encaminhadas ao Laboratório de Epidemiologia Molecular da Faculdade de Veterinária – UFF, para diagnóstico da CAE pela IDGA e PCR.

Detecção de anticorpos

As amostras de sangue foram dessoradas em temperatura ambiente e/ou centrifugadas (20.000Xg) por cinco minutos, quando necessário, para a obtenção final dos soros, os quais foram armazenados a -20°C até o momento de uso. Os soros foram submetidos ao teste de IDGA para diagnóstico de CAE, pela utilização de reagente comercial (Kit Biovetech®, Recife, PE), direcionado à detecção de anticorpos antip28 em soros de caprinos e ovinos.

Após a disposição dos soros suspeitos, dos controles positivos e do antígeno nos respectivos orifícios, as placas foram incubadas em atmosfera úmida à temperatura entre 20°C e 25°C por 48 horas. A presença de uma linha formada entre o antígeno e o soro controle positivo indicou a presença de anticorpos no soro testado e, consequentemente, a classificação do animal como positivo.

Detecção do DNA proviral no sangue

A extração do DNA foi realizada a partir do sangue com anticoagulante utilizando-se o “illustra™ blood genomic Prep Mini Spin Kit” (GE Healthcare®) de acordo com as instruções do fabricante. O DNA purificado foi estocado em *freezer* a -20°C.

Na amplificação do DNA foram utilizados dois pares de oligonucleotídeos iniciadores determinados a partir da região gag da amostra padrão CAEV-Cork (SALTARELLI et al., 1990; ANDRIOLI et al., 2006), sendo os iniciadores P1= 5'CAA GCA GCA GGA GGG AGA AGC TG3' (posição genômica 953-975) e P2= 5'TCC TAC CCC CAT AAT TTG ATC CAC3' (posição genômica 1249-1226) descritos Barlough et al. (1994) que amplificaram um fragmento alvo de 297pb. Em seguida foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores internos P3= 5'GTT CCA GCA ACT GCA AAC AGT AGC AAT G3' (posição genômica 997-1024) e P4= 5'ACC TTT CTG CTT CTT CAT TTA ATT TCC C3' (posição genômica 1181-1154) para a segunda amplificação (Nested PCR) para a obtenção de *amplicon* de 185pb (RIMSTAD et al., 1993; ANDRIOLI et al., 2006). A reação consistiu de um volume total de 50µL e os reagentes obedeceram às concentrações segundo BARLOUGH et al. (1994), contendo: tampão Tris HCl 10mM; KCl 50mM; MgCl₂ 1,5mM; dNTP 100µM de cada; 20 pmol de cada *primer* (ciclo 1: oligos P1 e P2; ciclo 2: oligos P3 e P4); Taq DNA polimerase (2UI); DNA da amostra: 3µL no ciclo 1 e 1µL de produto do ciclo 1 no ciclo 2, sendo o volume final completado com água livre de DNase.

As reações de amplificação foram realizadas em termociclador (Thermo Electron Corporation) com as seguintes etapas: um ciclo inicial para desnaturação a 94°C por 5 minutos; seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 53°C por 1 minuto e 72°C por 45 segundos; seguidos de extensão final a 72°C por 7 minutos e término a 4°C.

Os produtos obtidos na PCR, juntamente com o marcador molecular, foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídio e visualizados em transiluminador de luz ultravioleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de IDGA resultou em 16 amostras positivas das 63 analisadas. Das positivas na sorologia, seis foram submetidas à técnica de PCR, onde uma foi confirmada para infecção pelo CAEV. A discordância dos resultados poderia ser explicada pelo fato do DNA viral não estar presente no sangue dos cinco animais que apresentaram resultado positivo na IDGA (ANDRIOLI et al., 2006). Uma diferente explicação para tais resultados consiste na possibilidade da carga viral ter sido baixa em função dos altos títulos de anticorpos, o que explicaria um número pequeno de células contendo o provírus e diminuindo a possibilidade de detecção pela PCR. Outra possibilidade gira em torno do fato do CAEV não infectar leucócitos, mas sim monócitos, os quais constituem apenas 10% dos leucócitos do sangue periférico e somente nessas células seria detectado o provírus (RUTKOSKI et al., 2001).

Embora a PCR identifique animais portadores dos lentivírus caprinos antes da soroconversão, tem-se relatado que após esta, a PCR apresenta-se menos sensível quando comparada aos testes sorológicos, de forma que há recomendação que se utilize a associação dos dois testes em um programa de monitoramento e controle da enfermidade (DE ANDRÉS et al., 2005; ANDRIOLI et al., 2006).

CONCLUSÃO

A detecção de CAEV pela PCR em animais IDGA positivos para CAE resultou em co-positividade inferior. Resta saber, se em animais negativos à CAE pelo IDGA aumenta a positividade pela PCR.

REFERÊNCIAS

ANDRIOLI, A.; PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA A. M. G.; SOUZA, K. C.; SANTOS, D. O. Controle da artrite encefalite caprina através do uso de tecnologias reprodutivas aplicadas às

fêmeas. **Comunicado Técnico Embrapa**, nov. 2007. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/cot86.pdf>>. Acesso em: Out. 2008.

ANDRIOLI, A.; SOUZA, K. C.; PINHEIRO, R. R.; SOUSA, F. M. L. Protocolos para extração do DNA-proviral e PCR do lentivírus caprino em sangue. **Comunicado Técnico Embrapa**, dez. 2006. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/cot72.pdf>>. Acesso em: Jun. 2008.

BARLOUGH, J.; EAST, N.; ROWE, J. D.; HOOSEAR, K.V.; DEROCK, E.; BIGORNIA, L.; RIMSTAD, E. Double-nested polymerase chain reaction for detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA in blood, milk, and tissues of infected goats. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 50, p. 101-114, 1994.

CLAVIJO, A., THORSEN, J. Application of polymerase chain reaction for the diagnosis of caprine arthritis-encephalitis. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 22, p. 69-77, 1996.

DE ANDRES, D.; KLEIN, D.; WATT, N. J.; BERRIATUA, E.; TORSTEINSDOTTIR, S.; BLACKLAWS, B. A.; HARKISS, G. D. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 25, n. 107(1-2), p. 49-62, 2005.

FRANKE, C. R. Uma virose emergente ameaça o rebanho caprino nacional: Artrite-encefalite caprina (CAE). **Revista Bahia Agrícola**, Salvador, v. 2, n. 3, 1998.

FROTA, M. N. L.; SILVA, J. B. A.; ARAÚJO, S. A. C.; TEIXEIRA, M. F. S. Artrite encefalite caprina em cabritos de rebanhos com programa de controle no Estado do Ceará. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, p. 147-152, 2005.

REDDY, P. G., SAPP, W. J., HENEINE, W. Detection of caprine arthritis-encephalitis virus by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 31, n. 11, p.3042-3043, 1993.

RIMSTAD, E., EAST, N., DeROCK, E., HIGGINS, J.; HIGGINS, J.; PEDERSEN, N. C. Detection of antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus using recombinant gag proteins. **Archives of Virology**, New York, v. 134, p. 345-356, 1994.

RIMSTAD, E.; EAST, N.E.; TORTEN, M.; HIGGINS, J.; DeROCK, E.; PEDERSEN, N. C. Delayed seroconversion following naturally acquired caprine arthritis-encephalitis virus

infectious in goats. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 54, n.11, p. 1858-1862, 1993.

RUTKOSKI, J. K.; WERENICZ, R.; REISCHAK, D.; WENDOLSTEIN, A. C.; MOOJEN, V.; RAVAZZOLO, A. P. Detecção da infecção pelo vírus da artrite-encefalite caprina: imunodifusão em ágar e reação em cadeia da polimerase com “primers” degenerados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 6, p. 635-640, 2001.

SALTARELLI, M.; QUERAT, G.; KONINGS, D. A. M.; VIGNER, R.; CLEMENTS, J. E. Nucleotide sequence and transcription analysis of molecular clones of CAEV which generate infectious virus. **Virology**, New York, v. 179, p. 347-364, 1990.

OCORRÊNCIA DO VÍRUS PARAINFLUENZA-3, VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL, VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA E HERPEVÍRUS TIPO 1 EM REBANHOS OVINOS DA REGIÃO DE BOTUCATU-SP

Roberto Calderon Gonçalves¹, Andreza Amaral da Silva², Danilo Otávio Laurenti Ferreira³,
Júlio Marcondes⁴, Edwiges Maristela Pituco⁵, Adriano Dias⁶

1. Médico Veterinário, MS, Dr., Prof. Ass. do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – UNESP.

2. Médica Veterinária, MS, Doutoranda em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, S/N - CEP: 18.618-000 - Botucatu/SP - Brasil.

E-mail: andrezamedvet@yahoo.com.br (autor para correspondência)

3. Médico Veterinário, Mestrando em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

4. Médico Veterinário, Doutorando em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu - UNESP.

5. Médica Veterinária, MS, Dr., Responsável pelo Laboratório de Vírus de Bovídeos do Instituto Biológico de São Paulo - SP.

6. Fonoaudiólogo, MS, Dr., Prof. Ass. do Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina de Botucatu -UNESP.

PALAVRAS-CHAVE: Anticorpo, estudo sorológico, viroses respiratórias

ABSTRACT

OCCURRENCE OF PARAINFLUENZA 3 VIRUS, RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS, BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS AND HERPESVIRUS 1 IN SHEEP FROM BOTUCATU, SÃO PAULO

This study investigates the production of antibodies against parainfluenza 3 virus (PI-3), respiratory syncytial virus (RSV), bovine viral diarrhea virus (BVDV) and herpesvirus 1 (HV-1) in herds from Botucatu, São Paulo. Blood samples were collected from 194 clinically healthy female sheep aged 1-3 years for detection of neutralizing antibodies against these viral agents. The frequency of antibodies was 82% for PI-3, 58,8% for RSV, 5% for DVB, and 0% for HV-1. Therefore, results indicate that PI-3, RSV and DVB viruses affect sheep herds in the region studied and that PI-3 is probably the main viral agent responsible for viral pneumonia cases.

KEYWORDS: Antibody, respiratory viruses, serologic study

INTRODUÇÃO

Atualmente, as doenças respiratórias são consideradas um sério problema de sanidade na ovinocultura, levando a sérios problemas de cunho econômico devido aos altos índices de morbidade e mortalidade (MARTIN, 1996; CUTLIP et al., 1998), sendo responsáveis por 10 a 40% das mortes em animais adultos (VIEIRA et al., 1993) e por 17% das mortes durante o período perinatal (ROOK et al., 1990).

Infecções e condições ambientais levam a processos inflamatórios freqüentes, com manifestações de doença respiratória, devido à superfície mucosa dos pulmões e vias aéreas anteriores estarem constantemente expostas a patógenos e estresses ambientais (PUGH, 2005). Dentre as enfermidades respiratórias infecciosas destacam-se as de origem bacteriana e viral, apresentando como principais agentes de viroses respiratórias o vírus da parainfluenza tipo 3 (PI-3) (LEHMKUHL & CUTLIP, 1982) e vírus sincicial respiratório (VSR) (ALLEY, 1975). Ocorrem ainda, entretanto com menos frequência, o Adenovírus Ovino 6 (AVO-6), o vírus da diarreia viral bovina (DVB) (POMMER & SCHAMBER, 1991), herpes vírus tipo 1 (HV-1) e a pneumonia progressiva ovina (PPO) causada por um lentivírus conhecido como maedi (PUGH, 2005).

Na última década a ovinocultura vem expressando aumento nos índices produtivos no contexto da pecuária paulista, tornando-se uma das principais atividades agropastoril em muitas propriedades rurais. Com a intensificação dos sistemas de produção, ocorre maior aglomeração de animais, surgindo doenças relacionadas ao rebanho, principalmente viroses respiratórias. Neste contexto, torna-se necessário, precocemente, o conhecimento dos agentes presentes para que medidas de prevenção, controle e de manejo adequadas sejam adotadas, restringindo assim a ocorrência e perdas inerentes às viroses respiratórias. O presente trabalho teve por objetivo conhecer os níveis de anticorpos para os vírus PI-3, VRS, DVB e HV presentes em ovinos da região de Botucatu-SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado com 194 ovinos, fêmeas, da raça Santa Inês, com um a três anos de idade, sadios ao exame clínico e provenientes de propriedades da região de Botucatu-SP. O período de estudo foi de Junho a Agosto de 2008 e os animais que participaram da pesquisa eram criados em regime semi-extensivo e, eventualmente, tinham contato com animais de outra espécie, especialmente bovinos.

Após a realização do exame clínico, foram colhidos, por venipuntura da jugular, 8ml de sangue de todos os animais, em tubo vacutainer com gel separador para obtenção de soro.

As amostras de sangue foram identificadas e transportadas, a temperatura de 4° C, em caixas isotérmicas ao Laboratório de Viroses de Bovídeos do Instituto Biológico de São Paulo, onde foram centrifugadas a 720 x G durante cinco minutos para obtenção do soro.

A pesquisa de anticorpos neutralizantes contra o PI-3, BVD e HV foi realizada por vírus-neutralização, de acordo com “Code of Federal Regulations” (CFR, 2005) e para o vírus VRS segundo SAMAL et al. (1993) e DOMINGUEZ, (2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 194 amostras analisadas, em 82% (159/194) foram detectados anticorpos para PI-3, em 58,8% (114/194) anticorpos para VRS e em 5% (1/194) anticorpos para DVB. Nenhuma das amostras avaliadas mostrou-se reagente para o HV-1. Os títulos das amostras reagentes variam de 1:2 a 1:2048 para o PI-3, de 1:2 a 1:64 para o VRS e foi de 1:10 para a única amostra reagente ao DVB.

Os resultados deste estudo demonstram a presença dos vírus PI-3, VRS e VDB em rebanhos ovinos da região de Botucatu-SP. Os anticorpos detectados indicam que os animais foram expostos por infecção natural aos três vírus, sendo uma importante evidência da circulação desses agentes na região.

A frequência de 82% dos ovinos reativos para o vírus PI-3 é maior do que a reportada por DAL PIZZOL et al. (1989), MANCHEGO et al. (1998) e CABELLO et al. (2006), e indica que este vírus é o mais difundido entre os rebanhos ovinos de Botucatu-SP. Os altos títulos de anticorpos contra o vírus PI-3 (>1:256) observados neste estudo, sugerem uma maior susceptibilidade desses animais ao PI-3, além de indicar que os animais com elevada titulação podem ser fonte de infecção para o resto do rebanho.

A ocorrência do VRS neste estudo, apesar de semelhante à observada por outros autores (CABELLO et al., 2006), foi menor do que a encontrada para o PI-3. Os vírus VRS e PI-3 tem um tropismo especial pelo tecido respiratório e estão amplamente difundidos nos ovinos, principalmente nos animais jovens (LEHMKUHL et al., 1985; VAN DER POEL et al., 1994). Segundo a literatura, a menor frequência do VSR nos ovinos, quando comparada ao PI-3, pode estar associada ao seu período de incubação mais prolongado, retardando assim a infecção pelo VRS em outros animais (COLLINS et al., 1988).

Apesar da baixa frequência do DVB nos ovinos desse estudo, a presença do agente na região não deve ser negligenciada, principalmente em casos de surto de doenças respiratórias, quando pesquisas mais intensas podem esclarecer melhor o papel do DVB na etiologia das enfermidades respiratórias na região.

Apesar de não ser possível estabelecer a verdadeira procedência das infecções virais nesses rebanhos, é provável que o contato eventual dos animais deste estudo com bovinos favoreceu a infecção dos animais e manutenção dos vírus nesses rebanhos. Vale ressaltar ainda que grande parte dos animais que compõem os rebanhos do Centro-Oeste Paulista é proveniente de propriedades da Região Sul do país, principalmente do Rio Grande do Sul, onde a prática de criações mistas de bovinos e ovinos é bastante comum.

CONCLUSÕES

Os vírus PI-3, VRS e DVB estão presentes e infectam animais de rebanhos ovinos da região de Botucatu-SP. Devido a sua grande ocorrência, o vírus PI-3 é provavelmente o principal agente implicado em casos de pneumonia viral na região. Entretanto, uma pesquisa mais ampla e intensa para compreender melhor o papel de cada um desses agentes em casos de surto de doença respiratória na região faz-se necessária.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao auxílio financeiro concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP.

REFERÊNCIAS

ALLEY, M. R. The bacterial flora of the respiratory tract of normal and pneumonic sheep. **The New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 23, p. 113-118, 1975.

CABELLO, K. R.; QUISPE, R. C. H.; RIVERA, H. G. Frecuencia de los virus parainfluenza-3, respiratório sincitial y diarrea viral bovina en un rebaño mixto de una comunidad campesina de Cusco. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, Lima, v. 17, n. 2, p. 167-172, 2006.

CFR - Code of Federal Regulation. Title 9. Animals and animal products. 2005. Chapter 1. **Animal and plant health inspection service**, USDA. Part 113.216. Disponível em: http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx_05/9cfr113_05.html.

COLLINS, J. K; TEEGARDEN, R. M; MAC VEAN, D. W. Prevalence and specificity of antibodies to bovine respiratory syncytial virus in sera from feedlot and range cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Washington, v. 8, p. 1316-1319, 1988.

CUTLIP, R. C.; BROGDEN, A. K.; LEHMKUHL, H. D. Changes in the lungs of lambs after intratracheal injection of lipopolysaccharide from *Pasteurella haemolytica* A1. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 118, p. 163-167, 1998.

DAL PIZZOL, M.; et al. Detecção de anticorpos para o vírus Parainfluenza-3 em bovinos e ovinos no Rio Grande do Sul, Brasil, 1986. **Arquivos da Faculdade de Veterinária - UFRGS**, Porto Alegre, v. 17, p. 59-64, 1989.

DOMINGUEZ, H. G. **Vírus respiratório sincicial bovino: padronização e comparação de técnicas sorológicas**. Campinas, 2000. 98p. Dissertação de Mestrado – Faculdade da Biologia - Universidade Estadual de Campinas.

LEHMKUHL, H. D., CUTLIP, R. C. Characterization of parainfluenza type 3 virus isolated from the lung of a lamb with pneumonia. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 43, n. 4, p. 626-628, 1982.

LEHMKUHL, H. D.; RANDALL, C.; BOLIN, S. R.; BROGDEN, K. A. Seroepidemiologic survey for antibodies to selected viruses in the respiratory tract of lambs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 46, n. 3, p. 2601-2604, 1985.

MANCHEGO, A.; RIVERA, H.; ROSADIO, R. Seroprevalencia de agentes virales en rebaño mixto de una comunidad andina peruana. **Revista de Investigaciones Pecuárias**, Lima, v. 9, n. 2, p. 25-31, 1998.

MARTIN, W. B. Respiratory infections of sheep. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, London, v. 19, p. 171-179, 1996.

POMMER, J.; SCHAMBER, G. Isolation of adenovirus from lambs with upper respiratory syndrome. **The Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, New Jersey, v. 3, p. 204-210, 1991.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. 513p.

ROOK, J. S.; SCHOLMAN, G.; WING-PROCTOR, S.; SHEA, M. Diagnosis and control of neonatal losses in sheep. **Veterinary Clinics of North American: Food and Animal Practice**, Philadelphia, v. 6, n. 3, p. 531-562, 1990.

SAMAL, S. K.; PASTEY, M. K.; MCPHILLIPS, T. H.; CARMEL, D. K.; MOHANTY, S. B. Reliable confirmation of antibodies to bovine respiratory syncytial virus (BRSV) by enzyme-linked immunosorbent assay using BRSV nucleocapsid protein expressed in insect cells. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 5, p. 3147-3152, 1993.

VAN DER POEL, W. H. M.; BRAND, A.; KRAMPS, J. A.; OIRSCHOT, J. T. Respiratory syncytial virus infections in human beings and cattle, na epidemiological review. **Journal of Infection Diseases**, Chicago, v. 29, p. 215-228, 1994.

VIEIRA, F. J. B.; TRIGO, T. F. J.; MEZA, L. J.; ROMERO, F. A.; PÉREZ, G. T.; GÜEMES, F. S. Serotipos de *Pasteurella multocida* y *Pasteurella haemolytica* aislados a partir de pulmones com lesions inflamatorias en ovinos y caprinos. **Veterinária México**, Cidade do México, v. 27, n. 2, p. 107-112, 1993.

MANHEIMIOSE EM OVELHA NO SEMIÁRIDO PARAIBANO: RELATO DE CASO

Tatiane Rodrigues da Silva¹, Diego Barreto de Melo², Felício Garino Junior³, Roseane Portela¹, Amanda Carvalho², Antônio Flávio Medeiros Dantas⁴, Fabíola Carla de Almeida², Franklin Riet-Correa⁴

1. Alunos do Curso de Mestrado em Medicina Veterinária, Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB 58700-000, Brasil. E-mail: ane_vet@hotmail.com (autor correspondente).

2. Alunos do Programa de Aperfeiçoamento em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande

3. Doutor em Microbiologia, Pós-Doutorando da Universidade Federal de Campina Grande

4. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000 Patos, PB.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças respiratórias, *Mannheimia haemolytica*, ruminantes

ABSTRACT

MANNHEIMIOSIS IN SHEEP IN THE SEMIARID REGION OF PARAÍBA: CASE REPORT

Pasteurellosis in sheep leads to great economic losses in many parts of the world due to high mortality rates and reduction in weight gain. *Mannheimia haemolytica* – a bacterial agent previously known as *Pasteurella haemolytica* – causes mannheimiosis, which mainly affects the respiratory system. Pasteurella septicemia in association with pasteurella pneumonia and mastitis constitute another type of infection that frequently occurs in young sheep. The animal was attended to at the Veterinary Hospital of Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba State. It had recently aborted and clinical signs included apathy and hyporexia. After general physical examination, systemic antibiotics with anti-inflammatory effects were used as treatment based on the presumptive diagnosis of endometritis and acute clinical mastitis. At necropsy, fragments of the affected organs were collected for microbiological and histopathological examinations. Bacteriological findings revealed macroscopic lesions in all organs identified as *Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica* infection. Therefore, this study reports the risk factors as well as the clinical, pathological, and histological features of a sheep showing signs of *Mannheimia haemolytica* infection.

KEYWORDS: *Mannheimia haemolytica*, respiratory diseases, ruminants.

INTRODUÇÃO

A pasteurelose é uma das causas de perdas econômicas nos ovinos em muitas partes do mundo, pelos óbitos e redução do ganho de peso corpóreo. A *Mannheimia haemolytica*, que anteriormente era denominada de *Pasteurella haemolytica* (MARTIN, 1996) causa a enfermidade denominada manheimiose, a manifestação mais comum da infecção por este agente é a forma pulmonar que ocorre em todas as idades. Os cordeiros durante os primeiros dias de vida e as ovelhas no parto são mais susceptíveis. Outra manifestação da infecção pela *mannheimia haemolytica* nos cordeiros muito jovens é a pasteurelose septicêmica, que freqüentemente ocorre em associação com a pasteurelose pneumônica e com a mastite em ovelhas (RADOSTITS et al., 2002).

A colonização da nasofaringe e da tonsila pela *Mannheimia haemolytica* ocorre muito rapidamente após o nascimento, principalmente do ovino, e o mesmo carrega a bactéria por toda sua vida adulta. A *M. haemolytica* é isolada em 95% das tonsilas e 64% dos *swabs* nasofaríngeos de ovinos adultos normais, e está presente também no pasto e na água em área de pastejo, bem como na cama dos apriscos de ovinos, sendo a sobrevivência nesses ambientes prolongada nas condições úmidas e frias (RADOSTITS et al., 2002). A *Mannheimia haemolytica* em condições de imunossupressão do animal, ou pela ação de agentes primários pode ultrapassar as barreiras de defesa do trato respiratório e colonizar as porções crânio-ventrais dos lobos pulmonares, ocasionando uma pneumonia fibrinótica (VECHIATO, 2009).

Em decorrência da limitação de diagnósticos sobre a doença no Brasil, em especial na região Nordeste, este trabalho objetiva relatar fatores de risco, os achados clínicos, anatomopatológicos e histológicos de um ovino apresentando sinais de infecção por *Mannheimia haemolytica*.

MATERIAL E MÉTODOS

Dados epidemiológicos e clínicos do caso foram obtidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, localizado no Município de Patos- PB. Deu entrada um ovino de aproximadamente dois anos de idade, pesando 31 kg, fêmea, sem raça definida, oriundo da Cidade de Patos-PB, com o histórico de aborto há quatro dias e desde então se apresentava apática e sem querer se alimentar. Após a identificação do animal realizou-se o exame físico geral, foi instituído um tratamento, mas este veio a óbito. Durante realização da necropsia foram coletados fragmentos de todos os órgãos que apresentavam

lesão macroscópica, que foram fixados e processados por métodos convencionais para exames histológicos e corados pela hematoxilina-eosina. Também foram colhidos fragmentos de tecidos do útero, pulmão, fígado e cavidade nasal, em frascos estéreis, sendo estes encaminhados ao laboratório de microbiologia da UFCG - Campus Patos, sob refrigeração. No laboratório, as amostras foram semeadas em meio ágar-sangue de carneiro 5%, MacConkey agar, Sabouraud dextrose agar com cloranfenicol e BHI (*brain heart infusion*) incubadas a 37° C em aerobiose, sendo realizadas leituras após 24 e 48 horas de incubação. Procedeu-se então ao exame bacterioscópico pelo método de Gram, sendo os microrganismos isolados submetidos às provas de identificação. As provas utilizadas foram: produção de catalase, urease, oxidase, indol; crescimento em Mac Conkey agar, acidificação de carboidratos; a identificação foi realizada baseada em MURRAY et al., (1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao ser realizado exame físico constatou-se anormalidades como apatia, hipertermia, taquipnéia, mucosas oculares congestas, hipomotilidade ruminal, hipertrofia dos linfonodos parotídeos, secreção nasal serosa, vulva com presença de secreção seropurulenta de odor fétido, animal assumia freqüentemente a posição de micção, apresentava secreção sanguinolenta na região perianal e ausência de fezes na ampola retal. As glândulas mamárias estavam endurecidas e com sensibilidade à palpação, aumento de temperatura e secreção láctea tipo F. O tratamento instituído foi o uso de antibiótico e antiinflamatório sistêmicos, com base em um diagnóstico presuntivo de endometrite e mastite clínica aguda.

Durante o acompanhamento clínico diário do animal, foi observado que o animal não respondia ao tratamento e passou a apresentar crepitação à auscultação da área pulmonar, com secreção nasal seromucóide, vasos episclerais ingurgitados, atonia ruminal, evoluindo no dia seguinte para secreção nasal purulenta, rinite com presença de supostos pólipos nasais, silêncio à auscultação de algumas áreas pulmonares e sons crepitantes acentuados durante à auscultação da traquéia, linfonodos retro-faríngeos, parotídeos e pré-escapulares hipertrofiados, demonstrando assim um comprometimento sistêmico do animal.

O óbito ocorreu após o terceiro dia de internamento e durante a necropsia foi observada focos amarelados nodulares multifocais a coalescentes presentes na cavidade nasal, útero, pulmão, rim e bexiga. Linfonodos retrofaríngeos e submandibulares aumentados de volume que ao corte evidenciava áreas avermelhadas. Ambas as glândulas mamárias estavam com consistência firme e ao corte apresentavam secreção pastosa amarelo-esverdeada.

Histologicamente observou-se áreas multifocais a coalescentes de necrose disseminadas nos órgãos supracitados e acentuado infiltrado inflamatório polimorfonuclear neutrofílico estando muitos degenerados, associado a fibrina, trombos e discretas colônias bacterianas intralesionais.

No exame bacteriológico o microorganismo foi identificado como *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* em todos os órgãos que apresentavam lesão macroscópica.

A associação de *Mannheimia haemolytica* com a ocorrência de aborto na espécie ovina (SMITH, 2006), sugere que o abortamento ocorrido possa ter sido decorrente da enfermidade e que a condição de estresse tenha sido o que predispôs disseminação da infecção. As lesões macro e microscópicas encontradas no animal são semelhantes as descritas por JONES (2000) em casos de pasteurelose sistêmica por *Mannheimia haemolytica*.

O comprometimento da glândula mamária e a identificação do agente no tecido glandular demonstra que a mastite clínica aguda também foi causada pela *Mannheimia haemolytica*, o que está de acordo com RADOSTITS et al. (2002) e JONES (1991) que informaram que este agente, juntamente com *Staphylococcus aureus*, está comumente relacionado a mastite em ovelhas e representam 80% dos casos de mastite aguda.

CONCLUSÃO

Diante dos achados clínicos e patológicos, o isolamento e a identificação da *Mannheimia haemolytica* através do exame microbiológico podemos afirmar que o caso tratava-se de mannhemiose septicêmica, forma mais comumente evidenciada em ovinos jovens.

REFERÊNCIAS

- JONES, J.E.T. Mastitis in sheep. In: OWEN, J.B.; AXFORD, R.F.E. (Eds.). **Breeding for disease resistance in farm animals**. Bangor: CAB International, p 412-423, 1991.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6.ed., 2000, 1415 p.
- MARTIN, W. B. Respiratory infections of sheep. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 19, p. 171-179, 1996.

MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of Clinical Microbiology**. 7.ed., Washington: American Society for Microbiology, 1999.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,. 1737p. 2002.

SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728 p.

VECHIATO, T. A. F. Artigo II. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, Belo Horizonte, jan. a mar, p. 19–21, 2009.

TÉTANO EM OVINOS APÓS CASTRAÇÃO COM LIGADURA DE BORRACHA

Diego Medeiros Oliveira¹, Tatiane Rodrigues Silva¹, Rafael Otaviano Rego², Luciano Anunciação Pimentel³, Josemar Marinho Medeiros⁴, Sara Vilar Dantas Simões, Franklin Riet-Correa⁵

1. Alunos do Curso de Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000, Patos, PB, Brasil. E. mail: diegomedeiroscaj@yahoo.com.br (autor correspondente).

2. Aluno da Residência em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco

3. Aluno de Curso de Doutorado em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB 58700-000, Brasil.

4. Médico Veterinário, MSc, Universidade Federal de Campina Grande

5. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000 Patos, PB, Brasil

PALAVRAS-CHAVE: *Clostridium tetani*, doenças infecciosas, pequenos ruminantes.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF TETANUS IN SHEEP AFTER CASTRATION WITH A RUBBER BAND

Tetanus is of high importance for animal production. *Clostridium tetani* is an anaerobic and gram-positive bacillus and it is most commonly caused by a contaminated wound. This study reports a case of tetanus in 6-month-old sheep raised in Coremas, Paraíba, Brazil. A total of 11 lambs were submitted to castration with a rubber band. Four animals died and one was taken to the Veterinary Hospital at Universidade Federal de Campina Grande. The animal presented congestion of mucous membranes, tachycardia, dyspnea, staggering gait, muscular tremors, squint, limb spasms, erect ears, stiff tail, sensitivity to sonorous stimuli, mandibular spasms, and nystagmus. Based on the epidemic data, clinical analysis, and absence of pathological changes, the diagnosis of tetanus was established. We conclude that good hygiene and disinfection of wounds and surgical area are essential before castration procedures in order to minimize the chance of infection.

KEYWORDS: *Clostridium tetani*, infectious disease, ovine.

INTRODUÇÃO

O tétano ocorre em todo o mundo e acomete diversas espécies, principalmente em áreas de zonas tropicais e subtropicais. É causado por toxinas do *Clostridium tetani* quando

este, que está presente nas fezes e no solo contaminado, infecta feridas e encontra as condições de anaerobiose que favorecem a germinação dos esporos até a forma vegetativa. A doença clínica só ocorre quando os esporos encontram as condições tissulares ideais de proliferação. Os fatores que incrementam a esporulação e multiplicação do *C. tetani* incluem tecido necrótico, pus e infecção bacteriana concomitante e corpos estranhos. Os cordeiros são mais acometidos após serem submetidos a castração, tosquia, corte de cauda, vacinação ou injeções de medicamentos contaminados. A doença ocorre de forma esporádica, porém pode ocorrer também em forma de surtos. Os eqüinos são os animais mais sensíveis, seguidos de ovinos, caprinos e bovinos. Em ruminantes jovens a taxa de mortalidade é superior a 80% (RADOSTITS et al., 2002; SMITH, 2006; DRIEMEIER et al., 2007).

O *C. tetani* produz as toxinas tetanolisina, que causa necrose tissular contribuindo com a disseminação da infecção, tetanospasmina que se dissemina por via hematogênica e chega a área pré-sináptica das placas motoras e interfere nos neurotransmissores glicina e ácido gama aminobutírico provocando hiperexcitabilidade e a toxina não-espasmogênica que leva a hiperestimulação do sistema nervoso simpático (SMITH, 2006).

O período de incubação varia de três dias a quatro semanas. Quanto menor o período de incubação mais grave é o tétano. Em ovinos e cordeiros, os casos aparecem três a dez dias após a tosquia ou corte da cauda. A doença se caracteriza por intensos espasmos tônicos da musculatura esquelética, a morte do animal ocorre por asfixia provocada por uma paralisia dos músculos respiratórios (RADOSTITS et al., 2002; SMITH, 2006). O presente trabalho tem por objetivo relatar um surto de tétano em ovinos associado à castração.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi encaminhado ao Hospital Veterinário (HV), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), um ovino macho, mestiço de Santa Inês, seis meses de idade, proveniente de um rebanho onde estava ocorrendo mortes de borregos apresentando endurecimento dos membros posteriores. No ambulatório de grandes animais o animal foi submetido a exame clínico e posteriormente realizou-se necropsia. Durante a necropsia, foram coletados fragmentos de órgãos da cavidade abdominal e torácica e sistema nervoso central (SNC), fixados em formol tamponado a 10%, clivados e processados rotineiramente para exame histopatológico, as lâminas histopatológicas foram coradas com hematoxilina e eosina.

RESULTADOS

Na anamnese foi obtida a informação que 11 borregos foram submetidos à orquiectomia com ligadura de borracha no saco escrotal e dez dias após o procedimento alguns animais começaram a apresentar dificuldade para andar e já haviam ocorrido quatro óbitos.

Ao exame físico o borrego apresentava mucosas congestas, taquipnéia, andar cambaleante e necrose da pele do escroto abaixo da ligadura de borracha. O tratamento foi iniciado e objetivou promover o relaxamento muscular (acepromazina), combater a infecção (penicilina) e assegurar a hidratação do animal. No dia seguinte o animal estava com apetite e defecava e urinava normalmente, permanecia em decúbito lateral, levantava com ajuda, caminhava com os membros posteriores abduzidos, foi observado tremor muscular dos membros anteriores e estrabismo ventromedial. No terceiro dia continuava com os sinais clínicos citados anteriormente e foi evidenciado espasticidade dos quatro membros, orelha e cauda eretas, não conseguia ficar em estação e apresentava sensibilidade a estímulos sonoros e ao toque. No quarto dia os sinais foram acrescidos de trismo mandibular e nistagmo horizontal. No quinto dia o animal não conseguia se alimentar apresentava dificuldade respiratória e discreto prolapso da terceira pálpebra. Após o sexto dia do início da doença o animal ainda se apresentava em péssimo estado de saúde, e foi submetido a eutanásia.

Na necropsia verificou-se que a pele do escroto apresentava lacerações e áreas necróticas e não foram identificadas outros achados macroscópicos ou histológicos. A bexiga estava distendida e repleta de urina. Na histopatologia a pele apresentava áreas de necrose com infiltrado inflamatório constituído por neutrófilos e alguns linfócitos e plasmócitos na derme profunda. Na derme superficial observou-se moderada quantidade de tecido de granulação. Na histopatologia do sistema nervoso central não foi encontrada nenhuma alteração significativa.

DISCUSSÃO

De acordo com a literatura os achados clínicos são similares em todas as espécies, iniciam com rigidez muscular, tremores e trismo mandibular que dificulta a alimentação. O prolapso da terceira pálpebra é precoce e consistente no tétano, exceto em ovinos, que pode passar despercebido. Observa-se cauda rígida, dilatação da narina e hiperestesia com resposta

exagerada a estímulos normais (RADOSTITS et al., 2002). Os sinais clínicos observados no animal eram semelhantes aos registrados na literatura.

A ausência de achados macroscópicos ou histológicos e a identificação de um local de infecção na pele do escroto reforçam o diagnóstico de tétano. A ausência de lesões no SNC permitiu excluir outras doenças que afetam esse sistema e que poderiam apresentar sinais clínicos semelhantes. Quanto aos outros órgãos não foram encontradas lesões significativas. Com exceção da pele do escroto, que apresentava lesão a lesão estava associada à ligadura de borracha e a infecção teria ocorrido por contaminação da mesma com o esterco que se encontrava no curral.

Apesar de terem sido seguidos os princípios básicos para tratar o tétano não houve respostas ao tratamento o que está de acordo com RADOSTITS et al. (2002) que se referem a baixa taxa de recuperação dos ovinos e eqüinos acometidos pelo tétano. Desta forma deve-se prevenir a ocorrência desta enfermidade e realizar castrações com procedimentos adequados, em ambiente limpo, com desinfecção dos equipamentos e anti-sepsia da pele. Após a castração os animais não devem ser colocados em local contaminado, evitando currais, matas utilizadas como abrigo e outros lugares muito contaminados por materiais fecais. Para evitar o tétano medidas adequadas são necessárias em outros procedimentos como assinalação de animais, corte de cauda, descorna e tosquia.

A vacinação não é necessária em rebanhos criados com boas medidas sanitárias. Entretanto, em animais de alto valor zootécnico a vacinação poderá ser recomendada. Os cordeiros podem ser vacinados aos 2, 3 e 6 meses de idade, seguindo-se uma dose de reforço após um ano. Para assegurar níveis protetores de anticorpos colostrais, as ovelhas devem receber uma dose de reforço anual do toxóide, um a dois meses antes da parição (RADOSTITS et al., 2002; SMITH, 2006).

CONCLUSÃO

A prática de castrar com ligas de borracha além de causar extremo desconforto aos animais levou a ocorrência de um surto de tétano com alta morbidade e mortalidade em cordeiros.

REFERÊNCIAS

DRIEMEIER, D.; SCHILD, A. L.; FERNANDES, J. C. T.; COLODEL, E.M.; CORREA, A. M. R.; CRUZ, C. E. F.; BARROS, C. S. L. Outbreaks of tetanus in beef cattle and sheep in Brazil associated with disopphenol injection. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 54, p. 333-335, 2007.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária. um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. 1728p,

SOROPREVALÊNCIA DE MAEDI-VISNA EM OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS NOS MUNICÍPIOS DA GRANDE VITÓRIA – ES

Graziela Barioni¹, Livia Volpe Pereira², Marcus Alexandre Vaillant Beltrame³, Pauliana
Tesoline² e Marcos Vinicius Gumieiro⁴

1. Médica Veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Centro
Universitário Vila Velha. CEP 29102-770, Vila Velha, ES, Brasil.

E-mail: gbarioni@uvv.br (autor correspondente)

2. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha

3. Médico Veterinário, especialista, professora do Curso de Medicina Veterinária, Centro
Universitário Vila Velha

4. Médico Veterinário, autônomo no Estado do Espírito Santo

PALAVRAS-CHAVE: Doença infecciosa, Espírito Santo, lentivirose

ABSTRACT

SEROPREVALENCE OF MAEDA-VISNA IN SANTA INÊS SHEEP IN GREATER VITÓRIA MUNICIPALITIES, ESPÍRITO SANTO

Maedi-Visna is a persistent, progressive, and debilitating disease in sheep. It is caused by lentivirus which primarily results in progressive interstitial pneumonia. This study identifies Maedi-Visna seropositive Santa Inês sheep that are raised in Greater Vitória municipalities, Espírito Santo. Serum samples of 150 animals were analyzed and submitted to agarose gel-immunodiffusion testing. The prevalence of 7,33% can be justified by the semi-intensive production system which probably allowed the virus to spread. These findings indicate a need for large-scale studies that assess the occurrence of small ruminants lentiviruses as well as develop health measures for disease control and prevention.

KEYWORDS: Espírito Santo, infectious diseases, lentiviruses

INTRODUÇÃO

Vários são as causas de queda na produtividade e de perdas econômicas na ovinocultura, dentre elas vem se destacando as lentivirose, as quais desencadeiam um quadro de perda progressiva de peso e queda da capacidade produtiva. Dentre as lentivirose de

pequenos ruminantes (LVPR) destaca-se o vírus Maedi Visna (MVV), muitas vezes subestimado (RIET-CORRÊA, 2001) e Artrite Encefalite Caprina (CAE).

Segundo QUINN et al. (2005) as LVPR estão intimamente relacionados e causam infecções persistentes e síndromes de doenças comparáveis, devido a existência de um grupo de hospedeiros variáveis e de diferentes capacidades patogênicas, podendo assim infectar caprinos e principalmente ovinos. E como existe uma tendência a intensificar a criação à medida que se busca aumentar a produtividade, a presença do Vírus Maedi-Visna pode significar um obstáculo a criação destes ovinos (DA-COSTA et al., 2007).

O vírus da Maedi-Visna encontra-se difundida nos rebanhos ovinos de vários países e tem sido motivo de restrições no comércio internacional dessa espécie animal. Acomete animais de todas as idades, mas os sintomas só são observados nos mais velhos, geralmente com idade entre três a quatro anos (VALLE, 2009).

A alta variabilidade genômica do vírus e o confinamento têm contribuído para a origem de muitas cepas virais com diferente patogenicidade, pois as manifestações clínicas e patológicas da infecção pelo MVV em áreas geográficas diferentes podem ser variáveis (ARAÚJO et al., 2004) graças à variação gênica viral que altera suas propriedades biológicas (DA-COSTA et al., 2007).

O vírus Maedi-Visna provoca nos ovinos uma infecção persistente, caracterizada por realizar replicação de células virais (BRUERE & WEST, 1993), dessa forma infectam as células do sistema monocítico-fagocitário. O MVV persiste no interior dos monócitos e macrófagos por um prolongado intervalo de tempo, do momento da infecção até o aparecimento de anticorpos em níveis detectáveis por provas sorológicas (PASICK, 1998).

Segundo QUINN et al. (2005) os sinais raramente são observados em animais com menos de dois anos de idade, devido ao curso lento e progressivo dos Lentivírus. Sendo os sinais clínicos precoces são: intolerância ao exercício, exagerado esforço expiratório e respiração com boca aberta. Com o progresso da doença os ovinos afetados perdem suas condições físicas, a despeito de apresentarem bom apetite (LOFSTEDT, 1993).

Os sinais quase sempre se manifestam após períodos de estresse, esforço físico ou clima desfavorável e podem durar de três a seis meses ou persistir ao longo dos anos. Pode ocorrer a manifestação clínica na forma articular, neurológica, respiratória e a mastite (BLOOD & RADOSTITS, 1991; BELKNAP, 2005)

Segundo MYIOSIS (1988) e DA-COSTA et al. (2007) a utilização de testes sorológicos para detecção de anticorpos contra o MVV é o método mais utilizado para

diagnóstico em rebanhos de ovinos. É interessante ressaltar que muitos animais sororreagentes não apresentam sintomatologia que possa ser correlacionada a Maedi-Visna (MV).

Os testes sorológicos utilizados em países onde o programa de controle e erradicação do MVV está implantado incluem o IDGA (Teste de Imunodifusão em Ágar gel), o Elisa (Ensaio Imunoenzimático) e o PCR (Reação em Cadeia pela Polimerase). O IDGA é um método simples, confiável, economicamente viável e sensível. Além de ser um método clássico para a detecção dos anticorpos contra lentivírus nos animais domésticos, sendo um teste recomendado para certificação internacional, é um teste que está bem adaptado para fins de controle (DA-COSTA et al., 2007)

Segundo ZEE E HIRSH (2003) a imunodifusão em ágar gel é usada como ferramenta diagnóstica para acompanhar a disseminação de patógenos virais específicos em várias doenças animais. Sendo que a base deste teste é a capacidade que certos antígenos virais solúveis têm de se difundirem em um meio semi-sólido (ágar), formando uma linha de precipitação com o anti-soro específico, nos casos positivos.

O diagnóstico através de exames laboratoriais torna-se muitas vezes necessário, pois os animais não apresentam sinais clínicos (ABREU et al., 1998).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 150 amostras de sangue, identificadas individualmente com registro de sexo e idade e obtidas através de punção da veia jugular utilizando sistema de coleta á vácuo, em ovinos da raça Santa Inês criados em seis diferentes propriedades rurais localizadas nos municípios da Grande Vitória - ES (Vila Velha, Guarapari, Viana, Cariacica e Serra), entre fevereiro e abril de 2009.

O sangue foi encaminhado para o Laboratório de Microbiologia e Imunologia do Centro Universitário Vila Velha (UVV) no Espírito Santo, para obtenção do soro por centrifugação a 5000 rpm por 10 minutos, sendo acondicionado em microtubos de 1,5 ml, e mantidos a temperatura de -20° C, até a realização do teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), que foi realizado de acordo com instruções do reagente comercial Biovetech® (Biotecnologia para Saúde Animal), para diagnóstico de Maedi-Visna. Em todas as propriedades foi realizado um inquérito epidemiológico, por meio de questionário.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização de antígenos específicos confere sensibilidade 35% maior que a utilização de antígenos heterólogos, como o CAEV. No entanto mesmo em testes de IDGA que utilizam antígenos específicos, há diferença na sensibilidade da técnica.

A análise sorológica para infecção pelo MVV, realizada através do teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), nos 150 ovinos, pertencentes a animais de seis diferentes criações estudadas, revelou um percentual de 7,33% (11/150) de animais soropositivos para a infecção pelo MVV.

A prevalência encontrada pode ser justificada pelo sistema de criação semi-intensivo, pois como os animais ficam presos no período noturno possibilitando a transmissão pela via respiratória. Quando levado em consideração o manejo sanitário das propriedades, era esperada uma maior prevalência, pois três apresentavam péssimas condições sanitárias.

Os resultados encontrados nesta pesquisa foram superiores aos descritos para ovinos Santa Inês em Fortaleza por ARAÚJO et al. (2004) que relatam uma prevalência de 4,93%; já em Pernambuco OLIVEIRA et al. (2006) encontraram 3,8%. Os valores inferiores relatados pelos autores podem ser justificados devido aos animais testados por eles, serem destinados a abatedouros e possuírem idade abaixo de dois anos, provavelmente não apresentavam anticorpos, pois a Maedi-Visna é caracterizada por ser doença crônica e de longo período de incubação.

D'ALENCAR et al. (2008) descreveram uma ocorrência de 0,66% (1/150) para Maedi-Visna, em Sergipe, segundo os autores a baixa incidência deve-se ao fato do animal soropositivo ser um reprodutor criado em sistema intensivo e as fêmeas em sistema de criação semi-intensivo, dificultando assim a propagação do agente para o restante do rebanho.

Já em Pernambuco DA-COSTA et al. (2007) observaram uma prevalência de 1,07%, muito inferior a encontrada neste trabalho na ocorrência de lentivirose através do teste IDGA.

A alta taxa de animais soropositivos, 15% constatada na propriedade A (6/40) pode ser decorrente da altíssima lotação, associada ao sistema de manejo que permite o acesso de outros animais a placenta de fêmeas contaminadas, além dos borregos não serem separados das mães contaminadas, permitindo assim que essas limpem os cordeiros e esses ingiram o colostro contaminado com o vírus. Ressalta-se ainda que existe um alto trânsito (compra/venda) de animais na propriedade, além da participação de exposições, fatos estes que podem predispor a alta prevalência de Maedi-Visna, pois não há controle no trânsito e nem exigência de atestados negativos para lentivirose.

A prevalência elevada da propriedade B também de 15% (3/20) é justificada pela aquisição de um grande número de animais da propriedade A.

A prevalência das propriedades E e F é nula (0/20 e 0/21), fato esse que pode ser justificado por terem sido testados 7% dos animais da propriedade e/ou pelo teste, imunodifusão em agar gel, realizado para diagnóstico de Maedi-Visna, que depende da sensibilidade do anticorpo.

Na propriedade C foi encontrada uma soropositividade de 5,26% (1/19), já na propriedade D o resultado obtido no teste de imunodifusão em ágar gel, foi de 3,33% (1/30).

Os resultados encontrados neste trabalho, assim como destacado por SOBRINHO et al. (2004), são considerados importantes para ressaltar a presença do Maedi-Visna no Espírito Santo e indica a possibilidade de disseminação do vírus para outros rebanhos.

CONCLUSÃO

A prevalência para Maedi-Visna nos ovinos Santa Inês nos municípios da Grande Vitória - ES foi de 7,33%. Essa identificação de animais positivos pode representar risco para desenvolvimento da ovinocultura, indicando assim a necessidade de implantação de medidas para controle e comercialização.

REFERÊNCIAS

- ABREU, S. R. O.; CASTRO, R. S.; NASCIMENTO, S. A.; SOUZA, M. G. Produção de antígeno nucleoprotéico do vírus da artrite-encefalite caprina e comparação com o vírus Maedi-Visna para utilização em teste de imunodifusão em agar gel. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 2, p. 57-60, 1998.
- ARAÚJO, S. A. C.; DANTAS, T. V. M.; SILVA, J. B. A.; RIBEIRO, A. L.; RICARTE, A. R. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Identificação do Maedi-Visna vírus em pulmão de ovinos infectados naturalmente. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 431-436, 2004.
- BELKNAP, E. B. Enfermidades do sistema respiratório. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2005. p. 132-134.
- BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. Doenças causadas por vírus e clamídias. In: ___. **Clínica veterinária**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p 758.
- BRUERE, A. N.; WEST, D. M. Exotic diseases. In: ____ **The Sheep: breath, disease and production**. Veterinary Continuing Education: New Zealand, 1993. p 369-373.

D'ALENCAR, C. E.; BARROS, S. L. B.; D'ALENCAR MENDONÇA, M. A.; FRANCO, I.; LISBOA, M. L. O.; PINHEIRO, R. R. Detecção de ovino sororreagente para Maedi-Visna no Estado de Sergipe. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35. 2008, Gramado. **Anais ...** Porto Alegre/RS: SOVERGS, 2008. v. cd

DA-COSTA, L. S. P.; LIMA, P. P. de; CALLADO, A. K. C.; NASCIMENTO, S. A. do; CASTRO, R. S. de. Lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos Santa Inês: isolamento, identificação pela PCR e inquérito sorológico no Estado de Pernambuco. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 11-16, 2007.

LOFSTEDT, J. Pneumonias virais progressivas de ovinos e caprinos. In: SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1993. p. 616.

MYIOSIS, N. Disease of the respiratory system. In: JENSEN, L.; SWIFT'S, F. **Diseases of sheep**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988. p. 274-279.

OLIVEIRA, M. M. M.; CASTRO, R. S.; CARNEIRO, K. L.; NASCIMENTO, S. A.; CALLADO, A. K. C.; ALENCAR, C. S. A.; COSTA, L. S. P. Anticorpos contra lentivírus de pequenos ruminantes em caprinos e ovinos em abatedouros do Estado de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 5, 947-949, 2006.

PASICK, J. Maedi-Visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus: distinct species or quasispecies and its implications for laboratory diagnosis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 62, n. 4, p. 241–244, 1998.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. Vírus e príons. In: __. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 355-357.

ZEE, Y. C.; HIRSH, D. C.; CASTRO, A. E. Diagnóstico laboratorial. In: ZEE, Y. C.; HIRSH, D. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 22-24.

PODODERMATITE INFECCIOSA EM OVINOS E CAPRINOS NO SERTÃO PARAIBANO

Gildeni Maria Nascimento de Aguiar¹, Adriana Cunha Oliveira Assis¹, Tatiane Rodrigues da Silva¹, João Ricardo B. Araújo², Felício Garino Junior³, Sara Vilar Simões⁴, Franklin Riet-Correa⁴

1. Acadêmicas do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000 Patos, PB
E-mail: gil_mev@yahoo.com.br (autor correspondente)
2. Acadêmico de Graduação em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Campina Grande
3. Doutor em Microbiologia, Pós-Doutorando da Universidade Federal de Campina Grande
4. Professores do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande

PALAVRAS- CHAVE: Claudicação, footrot, pequenos ruminantes.

ABSTRACT

INFECTIOUS FOOT PROBLEMS IN SHEEP AND GOATS IN THE SEMIARID REGION OF PARAÍBA

Foot rot is one of the most common foot diseases in goats and sheep. It is characterized by lameness, increased hoof sensitivity, interdigital dermatitis, and digital edema and necrosis. During the rainy season, there is an increase in body weight gain of animals due to the supply of good quality forage. It is also a time they are vulnerable to foot diseases. This study reports an outbreak of foot rot and other types of lameness in the semiarid region of Paraíba. Results revealed that 11,14% of animals presented typical virulent foot rot with underrunning lesions or benign foot rot with lesions limited to the interdigital skin. Goats and sheep of different breeds were affected by both forms of the disease. Other lesions observed included foot abscesses, sole ulcerations, pododermatitis, and abnormalities of hoof growth and development.

KEYWORDS: Foot rot, lameness, small ruminants

INTRODUÇÃO

Problemas podais são as principais causas de claudicação em pequenos ruminantes (PUGH, 2004), sendo responsáveis por grandes perdas econômicas, sejam pela redução do

consumo de forragens, do ganho de peso, da produção de leite, além de infertilidade, fatores que favorecem o descarte prematuro dos animais (TADICH & HERNÁNDEZ, 2000).

A pododermatite infecciosa está entre as enfermidades podais mais frequentes entre caprinos e ovinos (KALER & GREEN, 2008). Também chamada de *footrot*, trata-se da infecção da pele do interdígito e da lâmina sensitiva do casco, causando claudicação severa e prolongada (ABBOTT & EGERTON, 2003). É causada pela ação sinérgica entre bactérias, *Dichelobacter nodosus*, agente responsável pela transmissão entre os animais, e *Fusobacterium necrophorum*, onipresente no solo e fezes, promove uma dermatite interdigital o que propicia o desenvolvimento do *D. nodosus* (WANI & SAMANTA, 2005). *D. nodosus* é um parasito obrigatório do dígito de ruminantes e não persiste no meio ambiente por mais de sete dias. A exposição por longos períodos a ambiente e pastagens úmidas, em condições adversas do solo predispõem à infecção e a transmissão entre os animais (EGERTON, 2002). O *footrot* apresenta-se inicialmente como uma dermatite da pele interdigital, a região mostra-se hiperêmica e com exsudato amarelado, posteriormente é observado a separação do tecido córneo. Primeiramente há uma separação da região do talão, estendendo-se até a sola e a porção abaxial da muralha, levando a separação dos demais tecidos, há um exsudato com odor fétido, característico da ação de bactérias anaeróbias (RIET-CORREA, 1987). Com o processo doloroso os animais recusam-se a pastejar mantendo-se em decúbito esternal, levando à necrose neste local. A morte pode ocorrer devido ao estado debilitante dos animais ou pela infecção bacteriana sistêmica (OSLON et al., 1998).

Há variações na severidade das lesões provocadas pelo *D. nodosus* influenciadas por características de virulência das bactérias envolvidas na infecção e fatores ambientais (ABBOTT & EGERTON, 2003), caracterizando duas formas do *footrot*. Na forma benigna existe apenas a inflamação da pele interdigital, por isso a impossibilidade de diferenciar clinicamente da dermatite interdigital causada pelo *F. necrophorum*. As cepas responsáveis pelo *footrot* benigno não apresentam fatores de virulência. Nestes casos há uma regressão espontânea da doença na maioria dos animais acometidos quando o ambiente torna-se seco (GREEN & GEORGE, 2008). O *footrot* maligno (virulento) tem como sinal clínico marcante a separação do tecido córneo do dígito, neste caso as cepas que levam à infecção produzem proteases, que possibilitam a degradação do dígito (BILLINGTON et al., 1996).

Embora a maioria dos trabalhos relacione a ocorrência da pododermatite infecciosa a ovinos, caprinos também podem ser infectados e a transmissão entre as espécies é possível (GHIMIRE et al., 1999). Entretanto, as lesões em caprinos são menos severas, mas podem levar a claudicações significantes (PUGH, 2004).

O objetivo do presente trabalho é relatar a ocorrência de um surto de pododermatite infecciosa e lesões podais correlatas em caprinos e ovinos no semiárido Paraibano.

MATERIAL E MÉTODOS

O surto ocorreu em uma propriedade no município de Quixaba, semiárido Paraibano, tendo o seu início no mês de março de 2009. O rebanho era composto por 1050 animais entre caprinos e ovinos, de diferentes raças e idades e com propósitos produtivos variáveis, criados no mesmo ambiente. O local de pastejo dos animais era bastante acidentado, onde havia o predomínio de pedras. Em virtude das chuvas, freqüentes nesse período, um dos piquetes, onde os animais passavam a noite, tinha falhas no escoamento de água.

Na anamnese foi relatada a ocorrência de outros surtos anteriores, entretanto o atual acometeu um número maior dos animais, comprometendo os eixos produtivos da propriedade. Foram examinados 451 animais, sendo selecionados para um exame mais acurado apenas os que estavam com claudicação evidente. Nestes, os dígitos foram higienizados e feito a retirada do excesso do tecido córneo para melhor observação e então registro das lesões.

O diagnóstico da pododermatite infecciosa foi baseado no histórico do rebanho, características epidemiológicas e aspectos clínicos apresentado pelos animais e observação do *D. nodosus* em esfregaços das lesões corados pelo Gram.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os animais examinados 117 apresentavam claudicação, o que representa 25,94% dos animais examinados e 11,14% do rebanho. Destes, 43 (36,75%) eram caprinos. A doença afetava tanto ovinos das raças Santa Inês e Dorper como caprinos das raças Anglonubiano, Alpino Britânico, Savana e Saanen. Lesões características da pododermatite infecciosa foram encontradas em 81,2% dos animais examinados (95/117). Em 40 animais (13 caprinos e 27 ovinos) havia dermatite interdigital e separação de tecido córneo e em 55 animais (15 caprinos e 40 ovinos) havia somente lesões interdigitais sem separação do tecido córneo. Outras lesões observadas, consideradas secundárias ao footrot, foram: 14 animais (10 caprinos e 4 ovinos) com lesões ulceradas na sola; um caprino e um ovino com crescimento excessivo de casco; um caprino com lesão granulomatosa na sola; e três caprinos e dois ovinos com abscesso de pé. Entre os caprinos 41,86% apresentavam claudicação em apenas um membro, 13,95% em dois, 6,97% em três e 39,53% em todos os membros, já os ovinos 50% tinham somente um membro acometido, 10,81% dois membros, 4,05% três e 35,13% em todos os membros.

Após a avaliação e casqueamento dos animais, estes foram revisados e em seguida eram submetidos à passagem por pedilúvio com sulfato de cobre a 5%. Foram quatro passagens no pedilúvio, a cada oito dias. Após a segunda destas observou-se uma redução significativa das lesões em 80% dos animais que claudicavam.

A ocorrência deste surto, com alta frequência, tanto de lesões de dermatite interdigital quanto de lesões com separação do tecido córneo (footrot maligno) comprovam a ocorrência da doença no semiárido paraibano. Essa região é caracterizada por um clima semiárido de chuvas irregulares, com predomínio do período chuvoso entre janeiro e março, com índices anuais que variam de 300 a 600 mm, sendo este ano de 2009 marcado por valores acima do normal para o período (AESAs, 2009). Nestas condições os surtos de footrot ocorrem durante a época das chuvas, tanto em caprinos quanto em ovinos de diferentes raças, em condições de umidade. Nesta fazenda, além das chuvas mais frequentes do que o normal, outros fatores que aparentemente favoreceram a disseminação da doença foram a irrigação, utilizada em alguns piquetes, e a alta lotação de ovinos e caprinos. A permanência durante a noite em currais com numerosas pedras poderia também ter favorecido o desenvolvimento das lesões, principalmente a úlcera de sola, em cascos com lesões de footrot.

Três fatores devem ser considerados quando se avalia um surto de pododermatite, o tempo de disseminação da doença no rebanho, as condições ambientais no momento da ocorrência e fatores inerentes a resistência individual de cada animal. É possível que um animal do rebanho apresente lesões severas com a separação de tecido córneo, em outros essas lesões podem se restringir a região do talão, enquanto outros não apresentem lesões de separação de tecido, apenas lesões na pele da região interdigital. Nos estágios iniciais do surto a maioria dos animais infectados tendem a apresentar infecções restritas à pele interdigital (EGERTON et al., 1969 apud ABBOTT & LEWIS, 2005).

O abscesso de pé, observado em cinco animais, é uma infecção purulenta da articulação interfalângica distal pelo *Archanobacterium pyogenes* e/ou *Fusobacterium necrophorum*, geralmente, associada a complicações da dermatite interdigital (RIET-CORREA et al., 2007). O pastejo em áreas acidentadas e posterior infecção bacteriana podem ser a principal causa da ocorrência de abscesso de pé neste surto. Há uma relação entre o abscesso e a dermatite interdigital, já que esta é fator essencial ao desenvolvimento da doença. Nestes casos os abscessos são secundários as lesões interdigitais causadas tanto por *Fusobacterium necrophorum* quanto por *D. nodosus*.

Apesar de a doença ter sido controlada eficientemente após o casqueamento e a aplicação de pedilúvios com sulfato de cobre é necessário pesquisar medidas eficientes de profilaxia da enfermidade, nas condições da região semiárida do Brasil.

CONCLUSÃO

O *footrot* é uma doença importante em algumas fazendas do semiárido, quando as condições ambientais (umidade e temperatura) são favoráveis ao desenvolvimento da doença. Formas de *footrot* maligno, com separação de tecidos córneos, são observadas tanto em caprinos quanto em ovinos de diversas raças criadas no semiárido. Úlcera de sola e abscesso de pé também ocorrem sendo lesões secundárias ao *footrot*. Devem ser investigadas formas eficientes de controle e profilaxia do footrot e outras doenças podais em caprinos e ovinos nas condições do semiárido.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, K. A.; EGERTON, J. R. Effect of climatic region on the clinical expression of footrot of lesser clinical severity (intermediate footrot) in sheep. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 81, n. 12, p. 756-762, 2003.
- ABBOTT, K. A.; LEWIS, C. J. Current approaches to the management of ovine footrot. **The Veterinary Journal**, London, v. 169, p. 28- 41, 2005.
- AESA. Relatório de previsão climática da AESA. 2009. Disponível em: < http://www.aesa.pb.gov.br/relatorios/previsao/arquivos/previsao_climatica_jan_mar_2009_AESA.pdf>. Acessado em: 24 de julho de 2009.
- BILLINGTON, S. J.; JOHNSTON, J. L.; ROOD J. I.; Virulence regions and virulence factors of the ovine footrot pathogen, *Dichelobacter nodosus*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 145, p. 147-156, 1996.
- EGERTON, J. R. Management of footrot in small ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON LAMENESS IN RUMINANT, 12., 2002, Orlando, **Anais eletrônicos...** Orlando. Disponível em: < <http://ruminantlameness.com/all.pdf> > Acessado em: 20 de julho de 2007.

GHIMIRE, S. C.; EGERTON, J. R.; DHUNGYEL, O. P. Transmission of virulent footrot between sheep and goats. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 77, n. 7, p. 450-453, 1999.

GREEN, L. E.; GEORGE, T. R. N. Assessment of current knowledge of footrot in sheep with particular reference to *Dichelobacter nodosus* and implications for elimination or control strategies for sheep in Great Britain. **The Veterinary Journal**, London, v. 175, p. 173-180, 2008.

KALER, J. GREEN, L. E. Naming and recognition of six foot lesions of sheep using written and pictorial information: A study of 809 English sheep farmers. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 83, n. 1, p. 52-64, 2008.

OSLON, M. E.; GARD, S. M.; GRADIN, J.; MORCK, D. W. Serological classification and virulence determination of *Dichelobacter nodosus* isolate from Alberta and British Columbia sheep. **Canadian Journal Veterinary Research**, Ottawa, v. 62, p. 33-37, 1998.

PUGH, D.G. Enfermidades do Sistema Músculo Esquelético. In: _____ **Clínica de caprinos e ovinos**. São Paulo: Roca. 2004, p. 252-256.

RIET-CORREA, F. Enfermedades Del aparato locomotor. In: MARLAN, J. B.; CAMPO, A. D.; MARI, J. J. **Enfermedades de los lanares**. 2.ed., Montevideo: Hemisfério Sur, 1987. p. 219- 238.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDES, M. C.; LEMOS, A., BORGES, J. R. J. Doenças bacterianas. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDES, M. C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de ruminantes e equinos**. São Paulo: Varela, 2007, p. 199-305.

TADICH, N.; HERNANDEZ, M. Prevalencia de lesions podales en ovinos de 25 exploraciones familiares de la provincia de Valdivia, Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 32, n.1, 2000.

INCIDÊNCIA DE *BRUCELLA OVIS* EM OVINOS COM HISTÓRICO DE DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL

Huber Rizzo¹, Lilian Gregory², Eliana Scarcelli Pinheiro³, Aline Feola de Carvalho⁴, Rosana Lisboa Santana⁴, Lílían Márcia Paulin Silva³

1. Doutorando do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – E-mail: hubervet@usp.br (autor correspondente)

2. Professora Doutora da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

3. Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução, Instituto Biológico de São Paulo

4. Mestranda do Programa de Pós-graduação do Instituto Biológico de São Paulo.

PALAVRAS- CHAVE: Aborto, *Actinobacillus seminis*, brucelose, orquite.

ABSTRACT

INCIDENCE OF *BRUCELLA OVIS* IN SHEEP WITH A HISTORY OF REPRODUCTIVE DISORDERS IN SÃO PAULO, BRAZIL

To investigate the incidence of *Brucella ovis* in sheep, samples were collected from 22 males and 182 females raised in 26 farms located in 19 different cities in São Paulo. They all had a history of some kind of reproductive problem, such as abortion, impairment of fertility, neonatal deaths, delivery of weak neonates, distocic delivery, vaginal discharge, orchitis, epididymitis, testicular degeneration, and lack of sexual desire. The samples analysed included: 204 blood samples, 15 semen samples, 16 aborted fetuses, 4 placenta samples, and 12 vaginal mucous samples. The percentage of serologically positive females for *Brucella ovis* was 1,96%. It was not possible to isolate *Brucella ovis* from samples submitted to the microbiological examination, although *Actinobacillus seminis* was isolated from one of the semen samples, which is considered a differential diagnosis for ovine brucellosis.

KEYWORDS: Abortion, *Actinobacillus seminis*, brucellosis, orchitis.

INTRODUÇÃO

A brucelose em ovinos é uma doença de distribuição mundial. A primeira descrição da infecção foi feita por BUDDLE & BOYES em 1953, em 1956, BUDDLE isolou estirpes de *Brucella sp.* na Nova Zelândia e Austrália. No Brasil o primeiro diagnóstico clínico de brucelose por *Brucella ovis* foi firmado por RAMOS et al. (1966) e confirmado por BLOBEL

et al. (1972). Posteriormente, NOZAKI et al. (2004), examinaram 1.033 ovinos do Estado de São Paulo e encontraram 12% de positividade para *Brucella ovis*. AZEVEDO et al. (2004), no Rio Grande do Norte, observaram 11,3% e CLEMENTINO et al. (2007) 5,57% de ovinos sororeagentes na Paraíba.

O sinal clínico inicial da infecção de ovinos por *Brucella ovis* é febre, acompanhada de desgaste físico, dispnéia e inflamação escrotal e testicular (ROBLES, 1998). A infecção geralmente é disseminada e pode causar infertilidade em machos, abortamento em fêmeas e mortalidade neonatal em cordeiros, os principais órgãos comprometidos são: epidídimo, túnica vaginal, testículos e placenta (BUDDLE, 1956). Os animais naturalmente infectados apresentam epididimite (CAMERON & LAUERMAN Jr., 1976; BURGESS et al., 1982) e podem excretar o microorganismo no sêmen ou apenas apresentam resposta sorológica (BURGESS et al., 1982).

Em casos agudos os testículos estão aumentados de tamanho, há edema inflamatório, presença de exsudado fibrinoso na região da túnica vaginal, hiperemia testicular e edema do epidídimo (EPSTEIN et al., 1964, ROBLES, 1998). Na fase crônica são observadas regiões no testículo hipertrofiadas e endurecidas à palpação, deformações na cauda do epidídimo, bolsa escrotal espessa e com fibrosamento que restringe a mobilidade do testículo, há inclusive aderências fibrosas obstruindo a cavidade que separa as túnicas (ROBLES, 1998; RIDLER, 2002).

O objetivo desse trabalho é observar a incidência de *Brucella ovis* em ovinos que apresentaram distúrbio em sua vida reprodutiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram colhidas amostras de 22 machos e 182 fêmeas ovinas pertencentes a 26 propriedades de 19 municípios do estado de São Paulo, todos os animais apresentavam histórico de distúrbios reprodutivos como: aborto, infertilidade caracterizada por repetição de cio, morte neonatal, parição de cordeiro fraco, parto distócico, presença de secreção uterina, orquite, epididimite, degeneração testicular e baixo libido.

Avaliação clínica dos animais

Os animais foram examinados individualmente por meio do exame clínico geral e específico do aparelho genital de acordo com critérios recomendados por ROSENBERGER (1993) e as observações foram registradas em fichas clínicas.

Amostras

Foram colhidas 204 amostras de sangue para obtenção de soro e realização da técnica diagnóstica de imunodifusão em gel ágar, utilizando antígenos produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR).

Para realização do isolamento bacteriano de *Brucella ovis* foram utilizados 15 amostras de sêmen, colhidas com vagina artificial e os animais que não aceitassem esse método de colheita o procedimento foi efetuado com o uso da técnica de eletroejaculação, 16 fetos resultado de abortamento, 4 amostras de secundinas e 12 amostras de secreção uterina, todas as amostras foram mantidas sob refrigeração e processada até 24 horas após a colheita.

Cultivo microbiológico de *Brucella ovis*

As amostras foram semeadas no meio de cultura (100 µL), ágar triptose (Difco ou Oxoid) acrescido de 5% de soro fetal bovino e da seguinte mistura de antibióticos: polimixina B (Sigma) (1800 UI/L), ciclohexamida (Sigma) (30 mg/L) e bacitracina (Sigma) (7500 UI/L) (BROWN; et al., 1971). A Incubação foi executada em microaerofilia a 37°C durante 10 dias. Após o período de incubação, foi realizada a identificação das colônias isoladas de acordo com ALTON et al. (1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incidência de ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos sororeativos a *Brucella ovis* foi de 1,96% (4/204), observou-se que os quatro ovinos positivos pela prova de IDGA para pesquisa de anticorpos anti- *Brucella ovis* eram fêmeas. AZEVEDO et al. (2004), ao analisarem 115 soros de ovinos do Rio Grande do Norte, não observaram significância estatística ($P=0,14$) entre a positividade e o sexo, indicando assim que machos e fêmeas estão igualmente expostos ao risco de infecção, no entanto TAMAYO et al. (1989) descreve que os machos são mais susceptíveis que as fêmeas.

Dentre os animais positivos, três possuem histórico de abortos a no máximo seis meses do momento da coleta e um com queixa de repetição de cio, sinais que também foram observados por outros autores (LIBAL & KIRKBRIDE, 1983; HOMSE et al., 1995; GRILLO et al., 1999). Os animais pertencem a três rebanhos diferentes e no momento da coleta não apresentavam sinais característicos da enfermidade.

As fêmeas podem agir como disseminadoras da enfermidade no rebanho acometendo principalmente os machos no momento do coito (PLANT et al., 1986). Eliminam o agente na secreção vaginal, secundinas e abortamentos (LIBAL & KIRKBRIDE, 1983; GRILLO et al.,

1999), leite (BAIGUN et al., 1999) ou ainda podem parir cordeiros débeis ou prematuros que podem desenvolver a enfermidade após a puberdade (ESTEIN, 1999).

Não foi possível o isolamento do agente em nenhuma das amostras submetida ao exame microbiológico por isso não podemos afirmar que os abortos ocorreram devido a Brucelose, no entanto em uma das amostras de sêmen de um reprodutor que apresentava quadro clínico de orquite e azoospermia, ocorreu o crescimento de colônias de *Actinobacillus seminis* que é o diagnostico diferencial no caso de casos de orquite e epididimite em ovinos.

SCHAFER et al. (1997) em Santa Catarina, observaram que 18,84% dos animais que apresentavam alterações nos órgãos genitais, nem um reagiram positivamente ao teste de IDGA, isso porque outros patógenos podem ser responsáveis por lesões epididimárias e/ou testiculares em ovinos, como por exemplo, *Actinobacillus seminis*, *A.actinomycetemcomitans*, *Haemophilus somnus*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *C. pyogenes*, *Pasteurella spp.*, *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus spp.* (WALKER et al., 1986; ROBLES et al., 1990), limitando assim o uso do exame clínico como único método diagnóstico para *Brucella ovis*.

CONCLUSÃO

O resultado alcançado pela presente pesquisa sorológico prova a existência de *Brucella ovis* nos rebanhos comerciais de ovinos do estado de São Paulo, sendo que fêmeas sororeativas podem agir como disseminadoras da enfermidade no rebanho.

Faz-se necessário estudos mais amplos com amostragens significativas da população ovina, adoção de medidas sanitárias de controle e prevenção para evitar a propagação da doença.

REFERÊNCIAS

- ALTON, G. G.; JONES, L. M.; ANGUS, R. D.; VERGER, J. M. **Techniques for the brucellosis laboratory**. Paris: INRA, 1976. 109 p.
- AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J.; BATISTA, C. S. A.; CLEMENTINO, I. J.; SANTOS, F. A.; ALVES, F. A. L. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 25, n. 2, p. 45-50, 2004.
- BAIGÚN, R.; CONIGLIARO, A. S.; LUNA, F. Aislamiento de *Brucella ovis* y control de reaccionantes serológicos en epididimitos ovina. **Veterinaria Argentina**, Buenos Ares, v. 17, n. 162, p. 103-107, 2000.

BLOBEL, H.; FERNANDES, J. C. T.; MIES FILHO, A.; RAMOS, A. A.; TREIN, E. J. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 1-4, 1972.

BROWN, G. M.; RANGER, C. R.; KELLEY, D. J. Selective media for the isolation of *Brucella ovis*. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 61, n. 2, p. 265-280, 1971.

BUDDLE, M. B. Studies on *Brucella ovis* (n.sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. **Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 54, n. 3, p. 351, 1956.

BUDDLE, M. B.; BOYES, B. W. A *Brucella* mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 29, p. 145-153, 1953.

BURGESS, G. W.; McDONALD, J. W.; NORRIS, M. J. Epidemiological on ovine brucellosis in selected ram flocks. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 59, n. 2, p. 45-47, 1982.

CAMERON, R. D. A.; LAUERMAN Jr., L. H. Characteristics of semen changes during *Brucella ovis* infection in rams. **Veterinary Record**, London, v. 99, n. 12, p. 231-233, 1976.

CLEMENTINO, I. J.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; PAULIN, L. M.; MEDEIROS, K. A. Inquérito soro-epidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 137-143, 2007

EPSTEIN, B.; CIPRIAN, F.; ANDREATA, J. N.; BACIGALUPO, N. R. Estudios de la patologia y microbiologia espontanea y experimental en ovinos machos provocada *Brucella ovis*. **Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata**, La Plata, n. 3, p. 1-47, 1964.

ESTEIN, S. M. Aspectos inmunológicos en el diagnostico y control de la epididimitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. **Archivos Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 31, n. 1, p. 5-17, 1999.

GRILLÓ, M. J.; MARI-N, C. M.; BARBERÁN, M.; BLASCO, J. M. Experimental *Brucella ovis* infection in pregnant ewes. **Veterinary Record**, London, v. 41, p. 111-115, 1993.

HOMSE, A. C.; CASARO, A. P.; CAMPERO, C. M. Infertilidad en ovejas por *B. ovis*. **Veterinaria Argentina**, Buenos Aires, v. 12, n. 114, p. 243-249, 1995.

LIBAL, M. C.; KIRKBRIDE, C. A. *Brucella ovis*-induced abortion in ewes. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 183, n. 5, p. 553-554, 1983.

NOZAKI, C. N.; MEGID, K. C.; SILVA JUNIOR, F. F.; VELOSO, C. S. Comparação das técnicas de imunodifusão em gel de ágar e ELISA no diagnóstico de bucelose ovina em cabanhas da região Centro-Oeste do Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 1-5, 2004.

PLANT, J. W.; EAMENS, G. J.; SEAMAN, J. T. Serological, bacteriological and pathological changes in rams following different routes of exposure to *Brucella ovis*. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 63, n. 12, p. 409-412, 1986.

RAMOS, A. A.; MIES FILHOS, A.; SCHENCK, J. A. P.; VASCONCELLOS, L. D.; PRADO, O. T. G.; FERNANDES, J. C. T.; BLOBEL, H. Epididimite ovina, levantamento clínico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 211-213, 1966.

RIDLER, A. L. An overview of *Brucella ovis* infection in New Zealand, **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 50, n. 3, p. 96-98, 2002

ROBLES, C. A. Epididimitis contagiosa de los carneros por *Brucella ovis*. **Revista de Medicina Veterinaria**, v. 79, n. 1, p. 67-71, 1998.

ROBLES, C. A.; URCULLU, J. A.; UZAL, F. A.; MERIO, R. Primer diagnostico en Patagonia de orchideoepididimitis em carneros por bacilos pleomorficos Gram negativos. **Veterinaria Argentina**, Buenos Aires, v. 7, p. 453-455, 1990.

ROSENBERGER, G. 1983. **Enfermedades de los bovinos**. Tomo II. Hemisferio Sur, Montevideo. 577 p.

SCHAFER, I.; VAZ, A.; RAMELLA, J.; COUTINHO, G. Prevalência de carneiros reagentes a prova de imunodifusão em gel para *Brucella ovis* no Município de Lages-SC. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 17, n. 99, p. 60-61, 1997.

TAMAYO, R.; VALENTIN, H.; SCHOEBITZ, R. Determinación de anticuerpos a *Brucella ovis* en ovinos de la X Región de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 21, n. 1, p. 22-28, 1989.

WALKER R. L.; LEA MASTER B. R.; STELLFLUG J. N.; BIBERSTEIN E. L. Association of age of ram with distribution of epididymal lesions and etiologic agent. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 188, p. 393-396, 1986.

LINFADENITE CASEOSA EM REBANHOS OVINOS NO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL: PREVALÊNCIA E INFORMAÇÕES DE MANEJO

Alessandro de Sá Guimarães¹; Núbia Seyffert², Aurora Maria Guimarães Gouveia³, Andrey Pereira Lage³, Ricardo Wagner Dias Portela⁴, Roberto Meyer⁴, Vasco Ariston de Carvalho Azevedo⁵, Filipe Borges do Carmo¹, Juliano César Minardi Cruz¹, Marcos Bryan Heinemann⁶

1. Médico Veterinário, doutorando da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.
2. Médico Veterinário, doutoranda do Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.
3. Médico Veterinário, MSc, DSc, Professor da Escola de Veterinária, UFMG.
4. Médico veterinário, Dr., Prof. do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, – UFBA.
5. Médico Veterinário, MSc, DSc, Professor do Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.
6. Médico Veterinário, MSc, DSc, Professor, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Av. Antônio Carlos 6627, Caixa Postal 567, CEP 30123-970, Belo Horizonte, MG Fone: +55 31 3221-6966.
E-mail: mabryan@vet.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, epidemiologia, ovinos

ABSTRACT

CASEOUS LYMPHADENITIS IN SHEEP FLOCKS FROM MINAS GERAIS, BRAZIL: PREVALENCE AND MANAGEMENT SURVEYS

Corynebacterium pseudotuberculosis (Cp) is the etiological agent of caseous lymphadenitis (CL) and an economically important disease that affects sheep. Seroprevalence of *pseudotuberculosis* and risk factors associated with CL were studied in sheep herds from Minas Gerais, Brazil. Blood samples were collected from 642 sheep from 97 flocks and sera was tested for antibodies by ELISA. A questionnaire was applied in order to gather information about the farm, flock, and animals, such as breed, sex and age. This is the first seroepidemiological survey for CL in sheep flocks from Minas Gerais. Estimated animal prevalence was 70,9% (95% CI: 64,7 - 77,0%) and prevalence of infected flocks was 95,9% (95% CI: 89,8 - 98,9%). These values were considerably higher than those predicted in the questionnaire. Seropositivity frequency in sheep sera varied significantly depending on breed (P=0,021), and age (P=0,049), and the highest rates were observed in animals older than 12 months.

KEYWORDS: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, epidemiology, sheep

INTRODUÇÃO

A linfadenite caseosa (LC) é uma doença crônica supurativa que afeta principalmente caprinos e ovinos e tem como agente etiológico o *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Causas consideráveis prejuízos econômicos como condenação de peles e carcaças por abscessos, até perdas expressivas em eficiência na reprodução, na produção de lã, carne e leite. Infecções subclínicas também são importantes, pois possibilitam a disseminação do *C. pseudotuberculosis* intra- e inter-rebanhos. A dificuldade de erradicá-la decorre da fraca resposta aos antibióticos, da habilidade do agente em persistir no meio ambiente e das limitações em detectar animais infectados pelos sinais clínicos ou testes sorológicos (WILLIAMSON, 2001).

Poucos são os inquéritos epidemiológicos realizados no Brasil (SILVA et al, 1982; TINÔCO, 1983, GUIMARÃES, 2006) e não foram encontrados relatos anteriores de evidência sorológica de LC em Minas Gerais.

Esse estudo teve como objetivos determinar a soroprevalência da infecção por *C. pseudotuberculosis* em ovinos em Minas Gerais e os possíveis fatores de risco relacionados com a LC.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem foi realizada em dois níveis, propriedades e animais. Para a determinação do número de rebanhos a serem estudados foi utilizada amostragem simples empregando a prevalência crítica (50%), com intervalo de confiança de 95% e erro de 15% (NOORDHUIZEN et al., 1997). A partir da lista conjunta de propriedades da Associação dos Criadores de Caprinos e Ovinos de Minas Gerais (Caprileite/ACCOMIG) e do órgão governamental de defesa sanitária, Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), foram sorteados 97 rebanhos de ovinos, oito animais por propriedade (total 776) de nove das doze mesorregiões de Minas Gerais.

Questionário previamente testado (PINHEIRO et al., 2000) foi aplicado em cada rebanho, para a obtenção de dados da propriedade, do criador e características individuais (características raciais, sexo, idade). Os questionários foram aplicados e os soros coletados em 2002, por veterinários do IMA.

O ELISA indireto para realizado segundo (CARMINATTI et al., 2003). A sensibilidade e especificidade agregadas foram calculadas empregando-se o programa

Herdacc (Jordan, D.; Guelph, Ontario, Canada) (JORDAN, 1996). A distribuição da frequência de soropositivos foi correlacionada com variáveis individuais (sexo, idade, grupo racial) por meio do teste de qui-quadrado e empregando-se um erro α de 0.05, com os programas Epi-Info 6.04 (DEAN et al., 1995) e WinEpiscope® 2.0 (NOORDHUIZEN et al., 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo soroepidemiológico para a LC em rebanhos ovinos em Minas Gerais e demonstra que a prevalência é alta, com soropositividade de 70,9%. Isto contrasta com as informações obtidas pelo questionário que mostram a ausência de vacinação contra a linfadenite caseosa na amostra estudada, pois nenhum ovinocultor afirmou vacinar contra LC e 11 (11,3%) declararam ter a doença no rebanho. Além disso, como a sensibilidade e especificidade do ELISA empregado são altas (CARMINATTI et al., 2003) e o teste pode detectar a infecção em animais em estágios iniciais da doença, antes que os abscessos fiquem evidentes, muitos animais infectados poderiam se apresentar sem sinais clínicos que evidenciassem a doença aos proprietários. Isso comprova que a doença é negligenciada nesses rebanhos ou que há falta de informação sobre ela para os criadores. Além disso, o período de incubação longo (até 180 dias) e a ocorrência da forma visceral, detectada somente por testes sorológicos, no exame *post-mortem* ou no abate, contribuem para a menor percepção da doença no rebanho, com consequente maior facilidade de disseminação do agente.

Das propriedades amostradas, 95,9% (93/97) apresentaram pelo menos um animal positivo, demonstrando que quase a totalidade das propriedades amostradas possui animais infectados por *C. pseudotuberculosis* e dos 94 municípios amostrados, 90 (95,7%) apresentaram pelo menos uma propriedade positiva, indicando que o agente está disseminado uniformemente por todo o Estado. A caracterização, neste estudo, de focos de linfadenite caseosa a partir do encontro de apenas um animal infectado no rebanho foi possível pela alta sensibilidade e especificidade de rebanhos calculadas em função das características do teste diagnóstico e dos níveis de prevalência esperados e observados (JORDAN, 1996).

No Brasil, somente dois imunógenos comerciais estão disponíveis e a vacinação sistemática de ovinos contra o agente da LC é prática pouco utilizada, visto que nenhum produtor entrevistado afirmou utilizar essa vacina. Pode-se supor que um programa de controle da doença baseado na vacinação de animais possa ser de grande valia para a redução das prevalências de infecção por *C. pseudotuberculosis* no Estado.

Não houve diferença significativa na frequência de ovinos infectados entre os sexos ($\chi^2 = 0,75$, gl = 1, P = 0,386), concordando com o observado por Silva et al (1982) que demonstraram que o *C. pseudotuberculosis* acomete igualmente machos e fêmeas.

Os animais foram agrupados em puro exótico (Texel, Suffolk e Merino), puro nacional (Morada Nova, Somalis, Santa Inês), mestiço (cruzamentos entre raças nacionais ou exóticas) e SRD (sem raça definida) para a realização das análises. A frequência de animais soropositivos nos diferentes grupos raciais foi diferente ($\chi^2 = 9,78$, gl = 3, P = 0,021) e estas diferenças foram observadas entre os grupos puro nacional e mestiços ($\chi^2 = 4,34$, gl = 1, P = 0,037) e puro nacional e SRD ($\chi^2 = 7,51$, gl = 1, P = 0,006). A raça Santa Inês e o grupo sem raça definida são os componentes raciais principais do rebanho ovino mineiro, em grande parte composto por animais procedentes da região Nordeste do Brasil (ARCO, 2008), onde a incidência de LC é alta e a criação de ovinos e caprinos é frequente (TINÔCO, 1983; PINHEIRO et al, 2000).

Também houve diferença significativa na frequência de animais reagentes nas faixas etárias estudadas ($\chi^2 = 6,04$, gl = 2, P = 0,049), sendo maior o número de animais soropositivos dentre os animais adultos (faixa etária acima de 12 meses) quando comparada ao animais na faixa etária compreendida entre 5 e 12 meses ($\chi^2 = 5,36$, gl = 1, P = 0,021).

Os potenciais fatores de risco, selecionados pela influência na epidemiologia da LC, foram: não identificação individual de animais (razão de prevalência 1,060), ausência de assistência técnica (1,064), participação em exposições (1,067) e sistema de criação extensivo/semi-extensivo (1,082), porém essas variáveis não devem ser consideradas como reais fatores de risco, pois as razões de prevalência só foram marginalmente superiores a 1 e, para uma delas, ausência de assistência técnica, o intervalo de confiança da razão de prevalência incluiu a unidade (NOORDHUIZEN et al. 1997; MEDRONHO, 2003). Estes resultados podem se dever ao tipo de estudo realizado, transversal, que não é o melhor desenho experimental para se identificar fatores de risco e à alta prevalência de focos encontrada, pois somente quatro rebanhos não apresentaram animais infectados (MEDRONHO, 2003). Mesmo não tendo sido significativamente identificadas como fatores de risco para linfadenite caseosa nos rebanhos ovinos do Estado de Minas Gerais, mudanças nos níveis de manejo nas variáveis com razão de prevalência ligeiramente superiores a 1 podem ajudar no controle da doença. A correta identificação dos animais propicia um melhor controle do produtor sobre o rebanho, pois permite a separação de animais infectados e a introdução de práticas específicas de controle da linfadenite caseosa. Para isto se faz necessária a atuação do técnico no estabelecimento e monitoramento do programa de controle

da LC para cada propriedade, bem como no treinamento e educação sanitária dos recursos humanos envolvidos. A participação em exposições e leilões é sempre um risco para a introdução da LC na propriedade.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a linfadenite caseosa está amplamente disseminada no rebanho ovino do mineiro e é negligenciada pela maioria dos criadores, favorecendo o caráter endêmico da doença no Estado.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o suporte financeiro da Fapemig, do IMA, do CNPq e da FEP-MVZ Coordenação Preventiva. ASG, AVCA, APL são bolsistas do CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARMINATI, R., BAHIA, R., COSTA, L. F. M, PAULE, B. J. A., VALE, V. L., REGIS, L., FREIRE, S. M., NASCIMENTO, I., SCHAEER, R., MEYER, R.. Determinação da sensibilidade e da especificidade de um teste de ELISA indireto para o diagnóstico de linfadenite caseosa em caprinos. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 2, n. 1, p. 88-93, 2003.

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.. Epi info, version 6: **A word processing, database and statistic program for epidemiology on micro-computers**. Center for Disease Control, Atlanta, Geórgia, 1995.

GUIMARÃES, A. S. **Caracterização da caprinovinocultura em Minas Gerais**. 84p. 2006. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal Minas Gerais, Belo Horizonte.

JORDAN, D. Aggregate testing for the evaluation of Johne's disease herd status, **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 73, p. 16-19, 1996.

MEDRONHO, R. A.; CARVALHO, D. M.; BLOCH, K. V.; LUIZ, R. R.; WERNECK, G. L. **Epidemiologia**. São Paulo: Atheneu, 2006. 493p.

NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C. M.; GRAAF, E. A. M. **Application of quantitative methods in veterinary epidemiology**. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. 445p.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F.; HADDAD, J. P. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, p. 534-543, 2000.

SILVA, S. F., SANTOS, A. F., LAUZER J. J., COSTA, D. F. Linfadenite caseosa em ovinos abatidos na região de Campanha do Rio Grande do Sul. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v. 12, n. 2-3, p. 149 – 154, 1982.

TINÔCO, A. L. A. Diagnóstico de situação da ovino/caprinocultura em três municípios do sertão baiano – Euclides da Cunha, Quijingue, Monte Santo – Bahia, 1981/1982. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 13p. (Seminário), 1983.

WILLIAMSON, L. H. Caseous lymphadenitis in small ruminants; **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 17, p. 359–371, 2001.

ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA MAEDI-VISNA EM REBANHOS OVINOS DA MICRORREGIÃO DE JUAZEIRO - BAHIA

Priscila Martinez Martinez¹, Joselito Nunes Costa², Thiago Sampaio de Souza³,
Antônio Vicente Magnavita Anunciação⁴, Raymundo Rizaldo Pinheiro⁵

1. Médica Veterinária da CODEVASF 6ªSR, Ms. em Ciência Animal dos Trópicos EMV/UFBA.
CEP: 48 900-000. Juazeiro, Bahia, Brasil. E-mail: martinezpriscila@ig.com.br (autor correspondente)
2. Professor Doutor do Departamento de Patologia e Clínicas, EMV/UFBA.
3. Médico Veterinário, mestrando em Ciência Animal nos Trópicos, EMV/UFBA.
4. Professor Ms. do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, EMV/UFBA.
5. Pesquisador Doutor da Embrapa Caprinos e Ovinos.

PALAVRAS-CHAVES: IDGA, *Lentivirus*, pequenos ruminantes, prevalência.

ABSTRACT

ANTIBODIES AGAINST MAEDI-VISNA VIRUS IN SHEEP FLOCKS IN BAHIA STATE, BRAZIL

To detect the presence of Maedi-Visna virus in sheep in the Juazeiro microregion, Bahia, 919 serum samples were evaluated by an agar gel immunodiffusion test (AGID). The samples were collected in eight of the cities that make up this microregion: Juazeiro, Sento Sé, Sobradinho, Pilão Arcado, Campo Alegre de Lourdes, Remanso, Casa Nova and Curaça. A positive reaction to AGID was evidenced in 0,34% of the sheep sampled. We concluded that antibodies against sheep lentivirus are present in this microregion, which is probably due to the predominance of native animals in the investigated farms.

KEYWORDS: AGID, *Lentivirus*, prevalence, small ruminants.

INTRODUÇÃO

A maedi-visna (MV) é uma doença viral, caracterizada por um longo período de incubação, que provoca principalmente em ovinos adultos, uma infecção multissistêmica, muitas vezes assintomática, de evolução lenta, tendo por resultado uma doença degenerativa crônica (BRODIE et al., 1998). O vírus da Maedi-Visna (MVV) pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Lentivirus*, grupo Lentivírus de Pequenos Ruminantes (LVPR), ao qual também faz parte o vírus da artrite-encefalite caprina (ICTV, 2008). Esse lentivírus ovino causa com maior frequência sintomas respiratórios,

caracterizados por dispnéia, intolerância ao exercício, emagrecimento crônico e quadro secundário de pneumonia (MOOJEN, 2001; QUINN et al., 2005).

A MV encontra-se difundida nos rebanhos ovinos de diferentes países e tem sido motivo de restrições no comércio internacional dessa espécie (MOOJEN, 2001). Diversos estudos sorológicos das lentivirose de pequenos ruminantes no Brasil têm demonstrado a disseminação dos LVPR em vários estados, sendo que um dos fatores que tem contribuído para isso é a prática de melhoramento genético utilizando-se raças de outros países (ALMEIDA et al., 2001; ALMEIDA et al., 2003; PINHEIRO et al., 2004).

Baseando-se nas evidências de resultados sorológicos positivos para a MV em estados nordestinos, na escassez de informações sobre esta enfermidade na Bahia e na importância sócio-econômica da ovinocultura no Vale do São Francisco, objetivou-se pesquisar a prevalência sorológica desta lentivirose no rebanho ovino da Microrregião de Juazeiro – Bahia.

MATERIAL E MÉTODOS

Este levantamento epidemiológico foi realizado na Microrregião de Juazeiro, que é subdividida em oito municípios: Juazeiro, Pilão Arcado, Campo Alegre de Lourdes, Remanso, Sento Sé, Casa Nova, Sobradinho e Curaçá.

O estado da Bahia possui o segundo maior rebanho de ovinos do país, com 3.165.757 animais, representando 34% do rebanho nordestino e 20% do rebanho nacional. As maiores concentrações de ovinos nesse estado são observadas nos municípios de Remanso e Juazeiro, pertencentes à Região do Baixo Médio São Francisco (Microrregião de Juazeiro), que detém 776.095 ovinos, o equivalente a aproximadamente 25% do rebanho baiano e 5% do rebanho nacional (IBGE, 2008).

O número mínimo de amostras (n) foi calculado, considerando uma prevalência esperada de 10%, baseada na média de prevalências obtidas em outros estados brasileiros, com erro amostral de 20% e grau de confiança de 95% ($z = 1,96$). De acordo com o cálculo (ASTUDILLO, 1979), o número mínimo de amostras a serem colhidas teria que ser de 863. Estas foram distribuídas entre os oito municípios que compõem a Microrregião de Juazeiro proporcionalmente a participação de cada um deles no rebanho total da microrregião. Pelo número de amostras a serem colhidas por propriedade (15), determinou-se o número de propriedades a serem visitadas por município.

Foram visitadas 58 propriedades. O total de amostras ultrapassou o mínimo, pois em virtude da dificuldade de acesso às comunidades rurais e da possibilidade de hemólise das amostras, optou-se por colher algumas amostras a mais, totalizando então 919.

Após anti-sepsia adequada, as amostras de sangue foram colhidas através da venopunção da jugular, usando tubos a vácuo com gel ativador de coágulo. Em seguida, após a formação de coágulo, os tubos foram centrifugados a 1600g por 10 minutos para a obtenção do soro, que foi acondicionado em tubos plásticos tipo *eppendorf*® e estocados a -20°C até a realização dos testes sorológicos. Esses testes foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos e Ovinos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Caprinos e Ovinos), em Sobral – Ceará.

A sorologia para infecção pelo lentivírus ovino foi realizada pelo método de imunodifusão em gel de agarose (IDGA), que se baseia na detecção de linhas de precipitação, resultantes da ligação antígeno-anticorpo, segundo GOUVEIA et al. (2000), utilizando-se antígeno nacional produzido no Laboratório de Virologia da Embrapa Caprinos e Ovinos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testados 919 animais pertencentes a 58 propriedades situadas em oito municípios da Microrregião de Juazeiro, utilizando-se a técnica de IDGA (GOUVEIA et al., 2000), sendo observados 0,34% (4/919) de animais positivos, diferente dos levantamentos realizados por PINHEIRO et al. (1996), YORINORI (2001), MELO et al. (2003), GOUVEIA et al. (2003) e OLIVEIRA et al. (2006) no Ceará, Minas Gerais, Sergipe, Paraíba e Bahia respectivamente, onde não se observou animal positivo.

Nos levantamentos realizados no Brasil, nota-se de forma geral baixa prevalência (PINHEIRO et al., 1996; YORINORI, 2001; OLIVEIRA et al., 2006; FERNANDES et al., 2003; GOUVEIA et al., 2003; MELO et al., 2003; COSTA et al., 2007), porém importante uma vez que se trata de uma doença com repercussão internacional e que pode trazer consequências econômicas para a ovinocultura nacional. Percebe-se também que em alguns estados nordestinos, como Ceará e Rio Grande do Norte, foram detectadas elevadas prevalências (ALMEIDA et al., 2002; ALMEIDA et al., 2003; SILVA, 2003), o que coloca em risco os rebanhos nordestinos que são na sua maioria compostos por ovinos nativos, deslanados e sem raça definida (SRD).

Dos quatro animais soropositivos neste levantamento, nenhum apresentou alterações clínicas. Entretanto, sabe-se que a MV se caracteriza por longo período de incubação, curso clínico demorado e lentamente progressivo, apresentando-se na maioria das vezes na forma subclínica (BRODIE, 1998; MOOJEN, 2001).

CONCLUSÃO

A presença da sorologia positiva para o vírus da MV na região estudada aponta a importância da realização de um levantamento epidemiológico mais abrangente no estado, servindo como base para a elaboração de um programa sanitário que evite a entrada de animais portadores do vírus e a disseminação deste para outras regiões.

AGRADECIMENTOS

Aos criadores de ovinos da Microrregião de Juazeiro - BA pela disponibilidade dos animais para que as colheitas pudessem ser realizadas; à Embrapa Caprinos e Ovinos pelo antígeno disponibilizado e pela estrutura laboratorial utilizada para a realização dos exames; à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) pelo financiamento do projeto; ao Centro de Desenvolvimento da Pecuária (CDP) e à Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba (CODEVASF 6ªSR) pelo apoio técnico às ações realizadas a campo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. G. A. R.; ANUNCIAÇÃO, A. V. M.; FIGUEIREDO, A. MARTINEZ, T. C. N.; LABORDA, S. S. Dados sorológicos sobre a presença e distribuição da artrite-encefalite caprina (CAE) no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 1, n. 3, p. 78-83, 2001.
- ALMEIDA, N. C.; APRIGIO, C. J. L.; SILVA, J. B. A.; TEIXEIRA, M. F. S. Ocorrência de maedi/visna vírus em ovinos reprodutores do estado do Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2002, Gramado. **Anais...** 2002, v. 29-CD.
- ALMEIDA, N. C.; TEIXEIRA, M.F. S.; FERREIRA, R. C. S.; CALLADO, A. K. C.; FROTA, M. N. L.; MELO, A. C. M.; APRIGIO, C. J. L. Detecção de ovinos soropositivos para Maedi/Visna destinados ao abate na região metropolitana de Fortaleza. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 9, n. 1, p. 59-63, 2003.
- ASTUDILLO, V. M. **Encuestas por muestro para estudios epidemiologicos en poblaciones animales**. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de la Salud – Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 1979. 60p.
- BRODIE, S. J.; DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A.; SNOWDER, G. D.; DEMARTINI, J. C. Current concepts in the epizootiology, diagnosis and economic importance of ovine progressive pneumonia in North America: A review. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 27, p. 1-17, 1998.

COSTA, L. S. P.; LIMA, P. P.; CALLADO, A. K. C.; NASCIMENTO, S. A.; CASTRO, R. S. Lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos Santa Inês: Isolamento, identificação pela PCR e inquérito sorológico no estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 11-16, 2007.

FERNANDES, M. A.; ARAÚJO, W. P.; CASTRO, R. S. Prevalência da infecção pelo vírus Maedi-Visna em ovinos da microrregião da grande São Paulo, Estado de São Paulo. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 6, n. 1, p. 23-28, 2003.

GOUVEIA, A. M. G.; LIMA, F. A.; SOUSA, G. J. G.; LOBATO, Z. I. P.; SILVA, A. H.; SILVA, M. A. V.; CYPRESTE, B. M. Frequência sorológica de Maedi-Visna, Língua Azul em ovinos, em propriedades e matadouro da Paraíba. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO, 9. CONGRESSO BRASILEIRO, 5, CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 3. 2003, Salvador. **Anais...** 2003, p.52.

GOUVEIA, A. M. G.; MELO, L. M.; PIRES, L. L.; PINHEIRO, R. R. Microimunodifusão em gel de ágar para o diagnóstico sorológico de infecção por lentivírus de pequenos ruminantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 27, 2000, Águas de Lindóia. **Anais...** 2000, p.33.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pecuária 2006 - Rebanho ovino**. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 22 fev. 2008.

ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. Disponível em:<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>> Acesso em 22 abr. 2008.

MELO, C. B.; CASTRO, R. S.; OLIVEIRA, A. A.; FONTES, L. B.; CALLADO, A. K.; NASCIMENTO, S. A.; MELO, L. E. H.; SILVA, J. S. Estudo preliminar sobre a infecção por lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos e caprinos em Sergipe. In: XI CONGRESSO LATINOAMERICANO, V CONGRESSO BRASILEIRO, III CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA, 2003, Salvador. **Anais...** 2003, p.47.

MOOJEN, V. Maedi-visna dos ovinos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. D. C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2.ed. São Paulo: Varela, São Paulo, 2001, p.138-144.

OLIVEIRA, B. F. L.; BERGAMASCHI, K. B.; CRUZ, M. H. C.; SANTOS, D. D.; CRUZ, A. D.; CRUZ, J. F. Prevalência de lentiviroses em rebanhos caprinos e ovinos na região sudoeste da Bahia. In: XII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UESC, 2006, Ilhéus. **Anais...** 2006, p. 134-135.

PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; SANTA ROSA, J.; GOUVEIA, A. M. G. Levantamento sorológico em ovinos para diagnóstico da Maedi-Visna em Sobral - Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24, 1996, Goiania. **Anais...** Goiania: SOGOVE, 1996. P. 161. Resumo.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F.; ANDRIOLI, A. Perfil de propriedades no estado do Ceará relacionado à presença do lentivírus caprino. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 14, n. 1, p. 29-37, 2004.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Retroviridae. Grupo dos Lentivírus de Pequenos Ruminantes**. In: __Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 346-357.

SILVA, J. B. A. **Levantamento sorológico pelo teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA) da lentivirose ovina em rebanhos do Rio Grande do Norte, Brasil**. 2003. 60f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

YORINORI, E. H. **Região mineira do nordeste: características dos sistemas de produção de pequenos ruminantes domésticos e prevalências da artrite-encefalite caprina (CAE) e maedi-visna (MV) ovina, Minas Gerais**. 2001. 113f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

RAIVA: RELATO DE CASOS CLÍNICOS EM OVINOS

Thiago Sampaio de Souza¹, Neydiane Silva Rocha², Joselito Nunes Costa³,
Byanca Ribeiro Araújo⁴, Vitor Santiago de Carvalho¹ e Juliana Matos Batista⁴

1. Mestrandos em Ciência Animal nos Trópicos, Escola de Medicina Veterinária (EMV), UFBA.
CEP: 40 170-110 Salvador, Bahia, Brasil. E-mail: thiago_sampaio@hotmail.com (autor correspondente)

2. Aluna do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC).

3. Professor Doutor do Departamento de Patologia e Clínicas, EMV/UFBA.

4. Residentes do Centro de Desenvolvimento da Pecuária da EMV/UFBA.

PALAVRAS-CHAVES: Doença neurológica, *Lyssavirus*, ovinos, zoonose.

ABSTRACT

RABIES: CLINICAL CASES IN OVINES

Rabies is an acute, fatal, viral disease which affects mainly mammals. It is a zoonotic disease of global importance that can cause great economic losses. Therefore, this work discusses cases of ovine rabies. Two animals were attended to at the Clinic for Ruminants of the School of Veterinary Medicine, Universidade Federal da Bahia, presenting different clinical manifestations. After necropsy, fragments of tissues were sent to the Central Public Health Laboratory in Bahia, which confirmed the diagnosis of rabies.

KEYWORDS: *Lyssavirus*, neurologic disease, sheep, zoonosis.

INTRODUÇÃO

As enfermidades que acometem o sistema nervoso vêm se tornando cada vez mais importantes na clínica médica de grandes animais. No Brasil, a raiva tem gerado prejuízos incalculáveis à pecuária (BARBOSA et al., 2005). Sua importância é mundial, tanto pelas perdas econômicas, como por tratar-se de uma zoonose de grande relevância na saúde pública (REIS et al., 2003).

Trata-se de uma doença causada por um RNA-vírus envelopado, pertencente ao gênero *Lyssavirus*, da família *Rhabdoviridae*, que possui a estrutura do capsídeo em forma helicoidal (QUINN, et al., 2005). É caracterizada por uma encefalomielite aguda e fatal, que pode acometer todos os mamíferos, apresentando variação de suscetibilidade a depender da espécie (LIMA et al., 2005; FERREIRA, 2007).

Devido à diversidade dos sinais clínicos e a exacerbação ou omissão de algumas fases, diz-se que a raiva pode cursar com a forma furiosa ou forma parálitica. Nos herbívoros, a forma parálitica é a mais comum, porém pode ocorrer também a forma furiosa (FERNANDES et al., 2000; MAPA, 2005; BATISTA et al., 2007). O morcego hematófago *Desmodus rotundus* tem sido o principal reservatório do vírus nas áreas rurais (REIS et al., 2003).

Dessa forma, considerando a importância dessa enfermidade para a saúde pública, este trabalho teve por objetivo descrever casos de raiva em ovinos com diferentes manifestações clínicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois ovinos foram atendidos na Clínica de Ruminantes do Centro de Desenvolvimento da Pecuária (CDP) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), em Oliveira dos Campinhos - BA, sem apresentar sinais clínicos e histórico que pudessem fazer suspeitar-se inicialmente de raiva.

O primeiro, uma ovelha de elite da raça Dorper, fêmea, com 14 meses de idade, de ficha clínica 1245, oriunda de uma propriedade de ovinos localizada no município de Feira de Santana – BA, criada em sistema semi-extensivo. Foi recebida com a queixa principal de apatia observada na manhã do dia do atendimento clínico. A ovelha não apresentava dados de vacinação, havia sido vermifugada há uma semana com moxidectina e foi submetida a procedimento de colheita de embrião há 25 dias.

O outro animal também era uma ovelha, sem raça definida (SRD), com aproximadamente seis meses de idade, de ficha clínica 1366, oriunda de uma propriedade de ovinos localizada em Santo Amaro-BA, criada em sistema semi-extensivo, sem histórico de vacinação. Este animal foi conduzido à Clínica de Ruminantes por ter sido visto em decúbito lateral à tarde, sendo que no mesmo dia pela manhã, segundo o tratador, apresentava-se aparentemente normal, da mesma forma que no dia anterior ao atendimento, quando o animal se movimentava e se alimentava normalmente.

Esses animais foram internados no CDP e submetidos ao exame clínico completo segundo MACHEN et al. (2004). Amostras de sangue foram colhidas após anti-sepsia com álcool iodado, através da punção da veia jugular com agulha descartável, utilizando-se tubos à vácuo com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), para realização de hemograma. Amostras de fezes também foram colhidas para realização de exame parasitológico de fezes.

Após o óbito, os animais foram submetidos à necropsia e colheram-se fragmentos do Sistema Nervoso Central - SNC (corno de Amon, cerebelo, hemisférios cerebrais, bulbo, colículos rostrais e caudais, pedúnculos cerebelares, tálamo, medula e óbex). Os fragmentos foram acondicionados em um coletor de vidro com tampa de rosca, sendo o coletor devidamente identificado e envolvido por sacos plásticos transparentes. As amostras foram mantidas a uma temperatura de -20°C até o envio para o Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia (LACEN-BA), onde se realizou teste imunológico e biológico, pelo método de imunofluorescência direta para o diagnóstico da raiva.

RESULTADOS

Ao exame físico, o animal 1245 apresentou-se em estação, apático e consciente, com mucosas oculares hipercoradas, linfonodo poplíteo direito aumentado de volume, hipertermia (40.5°C), apetite presente, movimentos ruminais de médios a fracos e fezes pastosas de coloração verde amarronzada. Ainda observou-se taquicardia (126 bpm), taquipnéia (54 mrm), dorso arqueado, tenesmo e exposição parcial da mucosa retal.

Esse animal foi medicado com meloxicam (0,6 mg/kg), prescrito a cada 24 horas por três dias e enrofloxacino (5mg/kg), com intervalo de 48 horas entre uma dose e outra. Além disso, foi realizada fluidoterapia endovenosa com 500 mL de soro fisiológico e 500 mL de soro glicosado a 5%.

O hemograma revelou aumento da concentração sanguínea de fibrinogênio (600 mg/dL) e o exame parasitológico de fezes apontou verminose (2.800 OPG de *Strongyloidea*) e eimeriose (1.400 OOPG de *Eimeria* sp.).

Nos dois dias seguintes ao atendimento, a ovelha ainda apresentava-se apática, em estação, com dorso arqueado, mucosas hipercoradas, febre, apetite diminuído, movimentos ruminais fracos, tenesmo, fezes ressecadas com muco, taquicardia e taquipnéia. Deu-se continuidade à terapia implementada, administrando-se ainda oxfendazole (10ml por via oral), suplemento mineral e vitamínico por via oral e dipirona (50mg/Kg) por via intramuscular.

O animal não respondeu satisfatoriamente ao tratamento e foi a óbito três dias após o atendimento, apresentando convulsões tônico-clônicas. O exame necroscópico revelou mucosas aparentemente congestionadas e um leve prolapso retal. Os pulmões apresentaram superfícies intensamente avermelhadas e escurecidas, fluindo grande quantidade de sangue ao corte do parênquima, além de áreas de enfisema nas bordas. No coração, havia hemorragias dos tipos petequiais e sufusões no epicárdio. Na avaliação do SNC, observaram-se vasos ingurgitados no encéfalo.

Já o animal 1366 também apresentou apatia, mucosas oculares congestionadas, movimentos ruminais fracos, taquicardia (104bpm) e taquipnéia (36mm). Entretanto, foi atendido em decúbito lateral, com temperatura de 39°C, demonstrando condição física e estado nutricional ruim. Não apresentou apetite e observou-se ainda secreção nasal catarral bilateral, crepitação pulmonar fina e sensibilidade superficial diminuída.

Foi implementada fluidoterapia endovenosa com soro glicosado a 5% e administrou-se vitamina B1 (tiamina) por via endovenosa (0,5g). Entretanto, o animal foi a óbito poucos minutos após estes procedimentos, apresentando sialorréia e opistótono. No hemograma, não foram observadas alterações. O exame necroscópico revelou apenas edema pulmonar.

Através da metodologia de imunofluorescência direta, utilizando-se os fragmentos do SNC colhidos após a necropsia das duas ovelhas, foi diagnosticado raiva pelo LACEN-BA.

DISCUSSÃO

Este relato abordou dois casos de raiva em duas ovelhas, uma da raça Dorper com 14 meses de idade e outra SRD, com seis meses de idade. De acordo com RADOSTITS et al. (2002), todos os animais de sangue quente apresentam suscetibilidade, havendo variação de acordo com a espécie, sem predisposição com relação a raça, sexo e idade, sendo que caprinos e ovinos possuem suscetibilidade moderada ao vírus.

Os dois ovinos apresentaram apatia e inapetência. O animal 1245 ainda apresentou febre, tenesmo e fezes ressecadas com muco, que segundo RADOSTITS et al. (2002) são sinais clínicos comumente observados. Entretanto, manteve-se em estação até o último dia, o que também foi observado por GOMES (2004) em um estudo sobre a epidemiologia da raiva.

A apatia é uma alteração que costuma anteceder as manifestações mais típicas, aparecendo no início do quadro, na fase prodrômica (BATISTA et al., 2007). Num estudo desenvolvido por LIMA et al. (2005), foram avaliados quatro casos de raiva em ovinos, onde um animal apresentou apatia. Segundo estes autores, tal alteração é decorrente de lesões localizadas no cérebro.

De acordo com RIET-CORREA et al. (2002) e BATISTA et al. (2007), o tenesmo é um achado frequente em ruminantes devido ao comprometimento de nervos lombares e sacrais. RADOSTITS et al. (2002) afirmam que sua ocorrência costuma ser tardia, considerando-o como um achado característico, mas que pode ser transitório ou ausente. No entanto, no animal 1245, foi observado que esta alteração se manifestou no início do quadro, permanecendo até o dia do óbito e não foi observada no outro ovino.

Outro sinal manifestado pelo animal 1245 foi a hipertermia, que se manteve durante todo o quadro clínico. Segundo RIET-CORREA et al. (2002), lesões no hipotálamo podem causar distúrbios na regulação da temperatura. De acordo com RADOSTITS et al. (2002), alterações na temperatura corporal podem ocorrer nos estágios iniciais da raiva devido à atividade muscular.

Após a confirmação do diagnóstico, os proprietários foram notificados de imediato e orientados a procurar o serviço médico especializado visando a imunoprofilaxia das pessoas que tiveram contato direto e indireto com os animais. A raiva é considerada como uma das mais importantes zoonoses, devido à sua alta letalidade e por apresentar ampla distribuição geográfica, além de influenciar economicamente a pecuária causando grandes prejuízos.

CONCLUSÕES

A confirmação de casos positivos de raiva em ovinos com diferentes cursos clínicos ressalta a importância da utilização de equipamentos de proteção individual quando do exame clínico de animais e a realização do controle da doença nesses rebanhos, através da vacinação e eliminação dos morcegos hematófagos.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, J. D.; OLIVEIRA, C. M. C.; DUARTE, D. M.; ALBERNAZ, T. T. Intoxicações com manifestações neurológicas em ruminantes. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA. 2. 2005, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Buiatria, 2005.
- BATISTA, H. B. C. R.; FRANCO, A. C.; ROEHE P. M. Rabies: a brief review. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, n. 2, p. 125-144, 2007.
- FERNANDES, C. G. Raiva. In: SCHILD, A. L.; RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. C.; LEMOS, A. A. **Doenças de ruminantes e equinos**. Santa Maria: Paloti, v. 2, p. 349-361. 2000.
- FERREIRA, R. S. **Levantamento epidemiológico da raiva no estado de Minas Gerais, no período de 2002 a 2006**. 2007. 100f. Dissertação (mestrado em Ciência Animal) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade José do Rosário Vellano. Alfenas (MG). 2007.
- GOMES, A. A. **Epidemiologia da raiva: caracterização de vírus isolados de animais domésticos e silvestres do semi-árido paraibano da região de Patos, Nordeste do Brasil**. 2004. 107f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

LIMA E. F.; CORREA, F. R.; CASTRO R. S.; GOMES, A. A. B.; LIMA, F. S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 4, p. 250-264. 2005.

MACHEN, M. R.; WALDRIDGE, B. M.; CEBRA, C.; CEBRA, M.; BELKNAP, E. B.; WILLIAMSON, L. H.; PUGH, D. G. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, p. 311-352, 2004.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da Raiva dos herbívoros – Manual Técnico**. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://www.panaftosa.org.br/Comp/MAPA/263518.pdf>>. Acesso em: 20 de outubro de 2008.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed. 512p. 2005.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1077-1083 p. 2002.

REIS, M. C.; COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C.; FIGUEIREDO, L. J. C.; MENEZES, R. V.; FERREIRA, M. M.; SÁ, J. E. U. Aspectos clínicos e epidemiológicos da raiva bovina apresentados na casuística da Clínica de Bovinos (Oliveira dos Campinhos, Santo Amaro, Bahia), Universidade Federal da Bahia, durante o período de janeiro de 1990 a dezembro de 1999 (Relato de caso). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 4, n. 1, p. 12-17, 2003.

RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G.; SCHILD, A. L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 4, p. 161-168. 2002.

PERFIL DE EXPRESSÃO DE IL-8 APÓS INFECÇÃO *IN VITRO* DE CÉLULAS EPITELIAIS POR *Tritrichomonas foetus*

Telma Maria Alves¹, Monalisa de Sousa Moura Souto², Thiago Magalhães Resende³, Carlos
M. Campero⁴, Andrey Pereira Lage⁵

1 – Bióloga, MSc, doutoranda, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;

2 – Médica Veterinária, Mestranda, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;

3 – Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária, UFMG;

4 – Médico Veterinário, MSc, PhD, Laboratório de Patologia Veterinária, INTA, Balcarce, Argentina;

5 – Médico Veterinário, MSc, DSc, Professor, Laboratório de Bacteriologia Aplicada, Departamento de
Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio
Carlos, 6627, Caixa Postal 567, 30123-970 – Belo Horizonte – MG. Fax: (31) 3409 2080.

E-mail: alage@vet.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Células epiteliais, IL-8, quimiocina, tricomonose bovina.

ABSTRACT

IL-8 mRNA EXPRESSION IN EPITHELIAL CELLS WITH *TRITRICHOMONAS* *FOETUS* INFECTION

Trichomonas foetus is the causative agent of bovine trichomonosis, a sexually transmitted infection of cattle that leads to reproductive losses. Epithelial cell chemokine production is a major mechanism of inflammatory induction. This study evaluates IL-8 expression in HeLa cells after *T. foetus* infection. HeLa cells were infected with two strains to assess IL-8 induction at 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 hours post infection. IL-8 mRNA levels peaked between 18 and 21h and decreased at 24h, which suggests its importance in *T. foetus* infection.

KEYWORDS: Chemokine, epithelial cells, IL-8 mRNA, trichomonads

INTRODUÇÃO

Tricomonose bovina é uma doença sexualmente transmissível comum em bovinos e tem sido implicada como causa importante de perdas econômicas em rebanhos tanto de corte quanto leiteiros (GOODGER & SKIRROW, 1986). Em países que utilizam intensamente a

inseminação artificial, a doença encontra-se praticamente erradicada, porém naqueles que utilizam a monta natural, a doença permanece de forma endêmica. Em vacas, causa principalmente repetições de cio com intervalos irregulares e aumentados, vaginites, cervicites, endometrites, piometra, morte embrionária ou fetal, feto macerado e aborto (RAE, 1989). *T. foetus* pode ser encontrado na cavidade prepucial e uretra de touros, que são portadores assintomáticos.

A interação do protozoário com a camada epitelial vaginal do hospedeiro é crucial para o estabelecimento da tricomonose e constitui primeira linha de defesa do hospedeiro contra o patógeno (CORBEIL et al., 1989). Em resposta à infecção por *Trichomonas vaginalis*, foi observada maior expressão de IL-8 e TNF- α , sendo, IL-8 o principal quimioatraente de neutrófilos (CHANG et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi traçar a cinética de expressão de IL-8 por células HeLa em resposta à infecção por *T. foetus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas duas amostras de *T. foetus*, sendo uma isolada de trato genital de fêmea (04/417) e uma isolada de feto abortado (08/331), oriundas do Laboratório de Patologia Veterinária - INTA- Balcarce, Argentina. As amostras foram cultivadas em meio Diamond modificado (CAMPERO, 2006) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB-Gibco, USA) à 37°C e observada a cada 24 horas. Os parasitos foram centrifugados a 3000 x g por 10 min à temperatura ambiente, lavados em PBS pH 7,4 e quantificados após a adição de 10% de formol.

Foi utilizada a linhagem de célula HeLa (ATCC-CCL2), na concentração de 4×10^5 células/mL em placas de 6 poços, que foram inoculadas com suspensões das amostras *T. foetus* na multiplicidade de infecção de três protozoários/célula e incubadas por 6h, 9h, 12h, 15, 18h, 21h e 24h. Este experimento foi realizado duas vezes e em duplicata.

Para cada tempo foi realizada a extração de RNA e confecção do cDNA usando o kit TaqMan Reverse Transcription Reagents (Applied Biosystems, USA). A determinação dos níveis de acúmulo de RNAm para IL-8 foi realizada por RT-PCR em tempo real utilizando kit SYBR®Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, USA) e termociclador Applied Biosystems 7500 (Applied Biosystems, USA). Os valores de Ct foram utilizados para o cálculo do aumento de expressão em comparação com os controles não infectados após normalização com base na expressão de GAPDH. A diferença de expressão foi realizada por análise de variância empregando-se o teste de Duncan. Todas as análises foram realizadas

empregando-se um erro α de 0,05 (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu variação do acúmulo de mRNA para IL-8 em células HeLa infectadas com as amostras de *T. foetus* 08/331 feto e *T. foetus* 04/447 fêmea. As duas amostras testada seguiram o mesmo padrão de acúmulo de mRNA para IL-8, sendo que a amostra *T. foetus* 08/331 feto apresentou produção a partir de 18h com um pico em 21h e decréscimo às 24h. Já a amostra *T. foetus* 04/447 fêmea teve um acúmulo de IL-8 a partir de 12h com um pico em 18h tendo e decréscimo às 24h. As células HeLa sem infecção apresentaram, em todos os tempos, acúmulo basal de RNAm para IL-8.

Este estudo demonstrou haver diferenças entre amostras de *T. foetus* na indução da expressão de IL-8 por células epiteliais. Conforme demonstrado por CHANG et al. (2006) para *T. vaginalis*, a produção de IL-8 por células epiteliais durante a interação com o parasita é um dos mecanismos primários e mais importantes do processo inflamatório. Sua modulação pode modificar o curso da infecção.

CONCLUSÕES

Esses resultados permitem concluir que *T. foetus* estimula a produção de mRNA para IL8 e que esta produção pode ser importante na patogenia da infecção.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o suporte financeiro da Fapemig, do CNPq e da FEP-MVZ Coordenação Preventiva. TMA é bolsista da Capes, TMR da Fapemig e APL do CNPq.

REFERÊNCIAS

CAMPERO, C. M. Medios de cultivos, mezcla antibioticas para el diagnostico de la tricomoniasis bovina. INTA, PATOLOGIA VETERINÁRIA, Balcare Argentina, 2006.

CORBEIL, L. B.; HODGSON, J. L.; JONES, D. W.; et al. Adherence of *Tritrichomonas foetus* to bovine vaginal epithelial cells. **Infection and Immunity**, Washington, v. 57, n. 7, p. 2158-2165, 1989.

CHANG, J.O.; PARK, J.Y.; KIM, S.K. Dependence on p38 MAPK signalling in the up-

regulation of TLR2, TLR4 and TLR9 gene expression in *Trichomonas vaginalis*-treated HeLA cells. **Immunology**, Oxford, v. 118, p. 164-170, 2006.

GOODGER, W. J.; SKIRROW, S. Z. Epidemiologic and economic analysis of an unusually long epizootic of trichomoniasis in a large California dairy herd. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 189, p. 772-776, 1986.

RAE, D. O. Impact of trichomoniasis on the cow – calf producer's profitability. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 194, p. 771-775, 1989.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplica da à experimentação animal**. Belo Horizonte FEP – MVZ, p. 221, 1998.

SURTOS DE BABESIOSE CEREBRAL EM BOVINOS LEITEIROS NO NORDESTE BRASILEIRO

Antônio Carlos L. Câmara¹, Janaina Azevedo Guimarães², Alexandre Cruz Dantas², Carla
Lopes de Mendonça² e José Augusto Bastos Afonso²

1. Hospital Veterinário de Grandes Animais, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Semi-Árido. E-mail: aclcamara@yahoo.com.br (autor correspondente)
2. Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

PALAVRAS-CHAVE: *Babesia bovis*, doenças por protozoários, sintomas nervosos, sistema nervoso central.

ABSTRACT

CEREBRAL BABESIOSIS OUTBREAKS IN DAIRY CATTLE FROM NORTHEAST BRAZIL

This paper reports the epidemiological, clinical, laboratorial and necropsy findings of three cerebral babesiosis outbreaks in dairy cattle from northeast Brazil. These outbreaks affected a total of nine Holstein x Gir crossbred and Girolando cattle. Clinical signs included neurological disturbances, pale mucous membranes with variable degrees of icterus, hemoglobinuria, anorexia, fever, apathy, tachycardia, tachypnea, and reduction in milk yield. Five cases of marked regenerative anemia with *Babesia bovis* parasitized erythrocytes were identified by hematology analysis. Three necropsy findings revealed pale mucous membranes, splenomegaly, enlarged and yellowish liver, congested and edematous gall bladder containing viscous granular bile, red urine, and dark red kidneys. Gray matter of telencephalic and cerebellar cortices consistently had a typically pink-cherry discoloration. Imprint from the kidney reveals *B. bovis* in red cells. The disease can have an important economical impact in the northeast region due to productivity loss, mortality rate and costs of treatments.

KEYWORDS: *Babesia bovis*, central nervous system, nervous signs, protozoa diseases

INTRODUÇÃO

A babesiose bovina é um distúrbio hemolítico causado por várias espécies de protozoários do gênero *Babesia* (BARROS et al., 2006), que infectam ampla variedade de animais domésticos e selvagens, e, ocasionalmente, o homem (BOCK et al., 2004). No Brasil, *Babesia bigemina* e *Babesia bovis* são as duas espécies responsáveis pela doença em bovinos, e são inoculadas pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (FARIAS, 2007). A doença causa importantes prejuízos econômicos, mesmo em áreas livres de carrapato (SCHILD et al., 2008), mas a maior relevância ocorre principalmente nas áreas de instabilidade enzoótica ou epidêmicas, em que a maioria dos rebanhos é susceptível, sendo frequentes os surtos com elevada morbidade e mortalidade (FARIAS, 2007). Praticamente todo o estado do Rio Grande do Sul tem essa característica, sendo também incluído o sertão nordestino brasileiro, devido à ocorrência de períodos de estiagem prolongados (FARIAS, 2007).

A babesiose cerebral é a manifestação clínica da infecção por *B. bovis* em que são observados sinais neurológicos como incoordenação motora, hiperexcitabilidade, opistótono, cegueira, tremores musculares, paralisia dos membros pélvicos, movimentos de pedalagem, pressão da cabeça contra obstáculos, andar em círculos, ataques convulsivos, agressividade ou depressão e coma. Outros sinais clínicos encontrados em associação à manifestação neurológica incluem hemoglobinúria, anorexia, febre, taquicardia, taquipnéia e queda na produção leiteira (RODRIGUES et al., 2005; BARROS et al., 2006; FARIAS, 2007; ANTONIASSI et al., 2009). Assim, devido à importância desta enfermidade em algumas regiões do Brasil, o objetivo do presente trabalho é descrever os achados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e necroscópicos de três surtos de babesiose cerebral no Nordeste brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

As informações foram obtidas a partir das fichas de acompanhamento clínico de nove bovinos oriundos de dois surtos em propriedades localizadas na região Agreste de Pernambuco e de um terceiro surto em uma fazenda situada no semi-árido do Rio Grande do Norte. Os bovinos dos dois primeiros surtos foram atendidos na Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE), enquanto os animais do último surto foram encaminhados para o Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (HOVET-UFERSA). Os surtos ocorreram nos meses de junho e agosto de 2006 e julho de 2009, respectivamente. Foram resgatadas as informações

relacionadas aos dados epidemiológicos, obtido junto aos proprietários, além dos achados clínicos, laboratoriais e necroscópicos.

Os bovinos foram examinados clinicamente seguindo as recomendações de DIRKSEN et al. (1993). Amostras sanguíneas foram colhidas através de venipunção jugular em tubo a vácuo com anticoagulante EDTA (10%) para realização do hemograma segundo a metodologia de JAIN (1993) e confecção de esfregaços sanguíneos corados pelo método panótico® rápido para pesquisa de hematozoários. O tratamento instituído, após o diagnóstico laboratorial ou necroscópico, consistiu da aplicação de derivados da diamidina (diaceturato de diminazina; 3,5 mg/kg, via intramuscular; 24/24 horas, duas doses) e nos bovinos com hematócrito inferior a 15% (n=4) instituiu-se transfusão sanguínea com até 1,5 L de sangue completo obtido de bovinos adultos saudáveis. Os animais que morreram durante o internamento (n=3) foram necropsiados. Em um dos bovinos mortos foi realizado *imprints* de fragmentos do rim, cérebro e fígado, também corados pelo mesmo método supracitado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro surto (junho de 2006) consistiu de onze vacas Girolando de alta produção leiteira adquiridas aproximadamente 20 dias antes do início da mortalidade no município de Águas Belas-PE e transportadas para outra propriedade situada em Garanhuns, Agreste Meridional de Pernambuco. Os bovinos eram vacinados contra raiva e febre aftosa, criados intensivamente e mineralizados. O primeiro sintoma observado pelo proprietário foi a queda abrupta da produção leiteira (diminuição da produção média de 25 L para 2 L/vaca/dia), seguido por hemoglobinúria e episódios de agressividade, sendo medicadas com soluções de glicose e aminoácidos sem sucesso. Duas vacas morreram na propriedade, uma durante o transporte no caminhão, enquanto outro bovino morreu 30 minutos após o desembarque na CBG-UFRPE. Assim, apenas sete vacas foram examinadas clinicamente. O peso corporal dos animais variou de 435 a 656 kg (média: 547,7 kg).

O segundo surto ocorreu no mês de agosto de 2006 no município de Iati-PE. O proprietário possuía a queixa principal de que os bovinos acometidos apresentavam apatia e afastavam-se dos demais do lote, ocorrendo o óbito dentro de 24 horas após o início dos sintomas. O lote original era composto por 40 fêmeas com idades variando de 1 a 1½ anos; das quais três morreram com a mesma sintomatologia, sendo então uma bezerra mestiça (Holandesa x Gir) de 150 kg encaminhada e examinada na CBG-UFRPE. Este animal veio a óbito 4 horas após o exame clínico. Salienta-se ainda que na propriedade existia mais três bezerras do lote com os mesmos sintomas. Os bovinos deste surto eram vacinados contra

raiva e febre aftosa, criados extensivamente e mineralizados. Todos os bovinos do lote problema foram tratados.

O terceiro surto (julho de 2009) teve como cenário uma propriedade localizada no município de Mossoró, região semi-árida do Rio Grande do Norte. Nesta fazenda todos os animais (nove adultos e oito bezerras) foram adquiridos 60 dias antes do episódio em uma feira agropecuária regional. Duas vacas e um touro apresentaram apatia severa, anorexia e queda abrupta da produção de leite nas fêmeas. Os bovinos foram medicados no mesmo dia com diaceturato de diminazina e oxitetraciclina seguindo recomendações de um funcionário de loja agropecuária, entretanto para uma das vacas a dose estipulada havia sido inferior ao necessário para o peso vivo. No dia seguinte, dois bovinos apresentaram melhora do quadro clínico, mas a vaca que recebeu a subdosagem desenvolveu manifestações nervosas e hemoglobinúria. O proprietário procurou em seguida orientação veterinária no HOVET-UFERSA. A evolução clínica foi de dois dias. Os bovinos eram mestiços (Holandesa x Gir), vacinados contra febre aftosa, criados semi-intensivamente e mineralizados.

Após exame clínico dos nove bovinos oriundos do primeiro (n=7), segundo (n=1) e terceiro surto (n=1). Os principais sinais clínicos observados foram apatia, hiporexia ou anorexia, febre (temperatura retal média: 39,2°C), mucosas pálidas a rosa-pálidas com diferentes graus de icterícia, taquicardia, taquipnéia, hemoglobinúria (n=4) e presença de carrapatos em diferentes estágios de desenvolvimento. Os bovinos com sintomatologia neurológica apresentaram incoordenação motora, acuidade visual diminuída, mioclonias, pressionar a cabeça contra obstáculos, andar em círculos, agressividade, decúbito lateral com movimentos de pedalagem e vocalização, além de um dos bovinos mastigar compulsivamente a madeira da porteira do curral. Os sinais clínicos supracitados variaram de intensidade individualmente e são semelhantes aos relatados em trabalhos anteriores (BOCK et al., 2004; RODRIGUES et al., 2005; BARROS et al., 2006; FARIAS, 2007; ANTONIASSI et al., 2009).

Os achados laboratoriais consistiram, na maioria dos casos, em marcada anemia regenerativa normocítica normocrômica ou microcítica normocrômica, além da presença de anisocitose, policromasia e esquistócitos. A pesquisa de hematozoários foi positiva para o protozoário *B. bovis* em cinco dos nove bovinos examinados, alcançando o índice de 55,5%. Este dado sugere que o sangue para o diagnóstico da babesiose cerebral deva ser preferencialmente colhido de extremidades, como orelha ou ponta da cauda, já que a parasitemia no sangue circulante dos grandes vasos é baixa, raramente atingindo 5% (VALLI, 1993). Entretanto, RODRIGUES et al. (2005) sugerem que, pelo menos na doença aguda com

manifestação neurológica, a parasitemia pode ser suficiente para permitir o diagnóstico em amostras de sangue colhidas na jugular, fato este comprovado em mais da metade dos nossos casos. Em relação aos *imprints* dos órgãos, apenas foi possível a visualização do hemoparasita na lâmina confeccionada a partir do rim, entretanto preconiza-se preferencialmente o diagnóstico através de esfregaços teciduais do córtex encefálico (RODRIGUES et al., 2005; FARIAS, 2007; ANTONIASSI et al., 2009), podendo também o *imprint* de rim ser utilizado como exame complementar para o diagnóstico da enfermidade.

Os achados de necropsia dos três bovinos consistiram de mucosas e musculatura pálidas com diferentes graus de icterícia, rins vermelho-escuros, hepatoesplenomegalia, fígado vermelho-alaranjado, hemorragias petequiais e em sufusão na serosa do rúmen, gordura perirenal, epicárdio e endocárdio; vesícula biliar com parede edemaciada e contendo bile grumosa, além de bexiga com urina de coloração de vinho tinto. A substância cinzenta dos córtices telencefálico e cerebelar e dos núcleos da base (TIRAR) era consistente e caracteristicamente róseo-cereja. Os achados de necropsia são semelhantes a relatos anteriores da enfermidade (BOCK et al., 2004; RODRIGUES et al., 2005; BARROS et al., 2006; SCHILD et al., 2008; ANTONIASSI et al., 2009), confirmando que o diagnóstico definitivo de babesiose cerebral pode ser obtido através dos achados macroscópicos, principalmente por meio da coloração róseo-cereja da substância cinzenta do encéfalo indicada como alteração patognomônica da doença (RODRIGUES et al., 2005).

Os bovinos do presente estudo apresentaram índice de sobrevivência de 66,6% (6/9), entretanto salienta-se que os animais apresentam graus variados de sintomatologia clínica. Assim, reiteram-se os achados de estudos anteriores que citam que casos neurológicos não tratados precocemente têm um desenlace fatal após curso clínico agudo ou superagudo (BARROS et al., 2006). O tratamento com derivados de diamidina permanece como a opção terapêutica de eleição em casos de babesiose cerebral e sua eficácia depende da precocidade do tratamento instituído, sendo também indicada a transfusão sanguínea em bovinos com hematócrito inferior a 15%.

CONCLUSÕES

No presente trabalho, o diagnóstico definitivo de babesiose cerebral foi realizado através da associação entre os achados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e necroscópicos, confirmando a ocorrência e importância da enfermidade em bovinos na região Nordeste do Brasil. A enfermidade pode causar importante impacto econômico principalmente devido a queda da produtividade, mortalidade e custo do tratamento.

REFERÊNCIAS

- ANTONIASSI, N. A. B.; CÔRREA, A. M. R.; SANTOS, A. S.; PAVARINI, S. P.; SONNE, L.; BANDARRA, P. M.; DRIEMEIER, D. Surto de babesiose cerebral em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 933-936, 2009.
- BARROS, C. S. L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I. S.; LEMOS R. A. A. Babesiose cerebral. In: __. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. Coleção Vallée, São Paulo, p.87-95, 2006.
- BOCK, R.; JACKSON, L.; DE VOS, A.; JORGENSEN, W. Babesiosis of cattle. **Parasitology**, Cambrigde, v. 129, n. 7, p. 247-269, 2004.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger – Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1993. 419p.
- FARIAS, N. A. Tristeza parasitária bovina. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L., LEMOS, R.A.A., BORGES, J. R. J. **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3.ed. Santa Maria: Gráfica e Editora Palotti, v. 1. p.524-532. 2007.
- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia, Lea & Febinger. 1993. 417p.
- RODRIGUES, A.; RECH, R. R.; BARROS, R. R.; FIGUERA, R. A.; BARROS, C. S. L. Babesiose cerebral em bovinos: 20 casos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 121-135, 2005.
- SCHILD, A. L.; RUAS, J. L.; FARIAS, N. A.; GRECCO, F. B.; SOARES, M. P. Aspectos epidemiológicos de um surto de babesiose cerebral em bovinos em zona livre de carrapato. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 9, p. 2646-2649, 2008.
- VALLI, V. E. O. The hematopoietic system. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, v. 3, cap. 2, p. 101-265, 1993.

ISOLAMENTO DE *TRYPANOSOMA EVANSI* EM *BOS TAURUS INDICUS* NO PANTANAL NORTE, BRASIL

Carlos Eduardo Pereira dos Santos¹, Luiz Carlos Marques², Rosângela Zacarias Machado²,
Márcia Cristina Alves Teixeira¹

1. Doutorandos do Programa de Clínica Médica Veterinária, UNESP campus de Jaboticabal. São Paulo. Brasil. E-mail: cep.vet@ig.com.br (autor correspondente)
2. Professor titular da Universidade Estadual de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho” campus de Jaboticabal. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária. São Paulo. Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, doenças parasitárias, tripanossomíase.

ABSTRACT

ISOLATION OF *TRYPANOSOMA EVANSI* IN *BOS TAURUS INDICUS* IN NORTHERN PANTANAL, BRAZIL

A herd of 200 animals, originally raised in cerrado areas, were transferred to Mato Grosso's Pantanal, after which 5 cows died. Previous clinical analysis had shown progressive cachexy – though appetite was maintained, aggressiveness, submandibular edema, incoordination, frequent falls, and recumbency. Hematological results included anemia, leukocytosis, thrombocytosis, and increased platelet aggregation. Direct blood examination, such as thick drop smears and Woo tests, were negative for *T. evansi*, whereas IIF and PCR tests were positive. A severely affected cow was euthanized *in extremis*. It had signs of marked cachexy, submandibular edema, infarction of lymph nodes, sternal recumbency, and pleurothotonus. Histological and necropsy findings revealed lymphadenomegaly, splenic lymphoid hyperplasia, and lymph nodes showing immature cells or blasts. Wistar rats were inoculated by intraperitoneal blood injection at the moment of euthanasia and *T. evansi* strains were isolated. It was not possible to reproduce the clinical disease by inoculating cows with the same strain, although re-isolation of the agent from inoculated rats was achieved up to 30 days after inoculation in the cow. This study reports a case of trypanosomiasis by *T. evansi* in a symptomatic cow in Northern Pantanal.

KEYWORDS: Bovine, parasitic diseases, trypanosomiasis.

INTRODUÇÃO

Autores apontam que *T. evansi* é patogênico para a maioria dos animais domésticos e, de maneira geral, os animais mais severamente afetados são os camelos, eqüinos, cães e elefantes asiáticos, sendo a doença mais branda em carneiros e cabras e, geralmente inócua para bovinos e suínos. Entretanto, o grau de patogenicidade desse protozoário apresenta grande variação de acordo com a região e o hospedeiro envolvido (DAVILA, et al., 1999).

Dentre os animais domésticos, os eqüídeos e os cães naturalmente infectados pelo *T. evansi*, apresentam desenvolvimento evidente da doença. Ovinos, caprinos e bovinos desenvolvem infecções assintomáticas (WELLS, 1984). O sistema muscular parece ser alvo importante do *T. evansi* (FINOL et al., 2001), pois nos animais infectados há emagrecimento progressivo até caquexia, com perda de tônus muscular caracterizados por movimentos lentos até a incapacidade de sustentação do próprio peso nos membros pélvicos, evoluindo para paraplegias atribuídas às lesões envolvendo o SNC e o muscular (MARQUES et al, 2000; RODRIGUES et al., 2005).

Enfermidade caracterizada por caquexia progressiva, seguido de êxito letal, acometeu caninos e bovinos de um estrato localizado na região de Poconé – MT. Em investigação clínico-patológica acerca dos referidos casos isolou-se de um bovino sintomático, estirpes de *T. evansi*, que até o momento era considerado não patogênico para esta espécie, sendo o objetivo deste trabalho descrever características epidemiológicas, clínicas e patológicas desta entidade nosológica em *Bos taurus indicus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados epidemiológicos, clínicos e patológicos, foram subsidiados por visitas a propriedade onde surgiram os casos. Durante as visitas um bovino sintomático foi acompanhado por um período de uma semana e coleta de sangue fora executada por venopunção jugular, com alíquotas acondicionadas em frasco contendo EDTA destinado a hemograma, pesquisa de hematozoário em gota espessa, esfregaços e técnica de WOO (1970), além de alíquotas sem anticoagulante para sorologia. O animal foi eutanasiado *in extremis* sendo que imediatamente antes 1ml de sangue foi inoculado intraperitonealmente em 04 ratos Wistar mantidos posteriormente em gaiolas visando prova biológica. Seguidamente realizou-se necropsia e coleta de fragmentos de vísceras acondicionadas em formalina a 10% para análise histológica. Amostras de fezes foram colhidas e destinadas a exame de Mc Master.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um lote de bovinos com idades variando entre 8 a 18 meses, composto por 200 unidades foi adquirido em leilão. Os animais eram procedentes de áreas de cerrado e foram introduzidos em um estrato da região norte do Pantanal de Mato Grosso em fevereiro de 2007. Em março do mesmo ano foi constatada a morte de um animal seguido de cinco outros óbitos que se estenderam até julho de 2007 com a mesma padronização de sintomatologia segundo informações dos tratadores, que envolvia, emagrecimento progressivo, moderadas diarreias, edemas submandibulares, seguidos de quedas freqüentes e inanição até decúbito e morte. Não haviam registros anteriores em bovinos, porém ressaltar-se que dois meses precedendo estes óbitos, síndrome clínica similar foi constatada em cães nesta propriedade e no estrato vizinho, com óbitos e constatação de tripanossomíase por *T. evansi* em quatro animais nos exames complementares. Nenhum relato de ocorrência similar ocorrera em eqüinos nos dois estratos. A temporalidade dos casos é coincidente com maior amplitude de tabanídeos na área e chama atenção este aspecto epidemiológico, pois normalmente a doença é mais agressiva em eqüinos (RODRIGUES et al., 2005). Embora não tenham sido observadas alterações na população de capivaras que ali coabitavam o mesmo ambiente com os animais da propriedade, estas são apontadas como reservatórios principais do agente (MUÑOZ & CHAVEZ, 2001).

Oportunamente um bovino de aproximadamente 18 meses apontado com os mesmos sinais, apresentava um escore corporal baixo relativo à média do lote, com pelagem irregular e presença de piodermites distribuídas de modo difuso, alerta, porém com movimentos de esquiva desordenados com quedas freqüentes. Evidente edema submandibular e linfadenectasia generalizada foram observados. Dentre os sinais vitais, havia hipertermia e mucosas levemente hipocoradas. As fezes estavam semidiarreicas. O referido animal foi observado por uma semana, ponto em que os sinais se agravaram com animal demonstrando expressiva caquexia permanecendo a maior parte do tempo em decúbito externo abdominal com pleurotónico e conjuntivite bilateral, não conseguindo manter-se em estação. Estes sinais são compatíveis com tripanossomíases, sendo esta caquexia por vezes associada à atrofia de grandes massas musculares conforme verificado em surtos a campo envolvendo eqüinos no RS (RODRIGUES et al., 2005) e em condições experimentais (MARQUES et al., 2000). Não havia sinais significativos à necropsia exceto por anasarca. Trato gastrointestinal repleto de ingesta aparentemente normal. Esta condição é observada em casos de evolução crônica da enfermidade em eqüinos (MARQUES et al., 2000) e caninos (SOARES et al., 2007). Na microscopia os achados foram inespecíficos, porém, encontrados em outras tripanossomíases.

As alterações histológicas limitaram-se aos linfonodos com moderada quantidade de macrófagos com citoplasma espumoso nos seios subcapsulares e zonas paracorticais principalmente e contendo células morfológicamente imaturas (blásticas). Havia hiperplasia de folículos linfóides no baço. Estes achados foram verificados por RODRIGUES et al. (2005) em casos naturais envolvendo eqüinos. O mesmo autor aponta que são infrequentes descrições envolvendo histopatologia e necropsias, pois estas técnicas ainda são pouco executadas e julgadas desnecessárias uma vez que se encontram os parasitos circulantes. Por outro lado, parasitas circulantes são escassos quando de uma adaptação à resposta imune, condição comum em caráter subclínico ou de portadores assintomáticos. No fígado havia agregados multifocais leves com células espumosas, achados comuns em bovinos e normalmente relacionados ao consumo de plantas do gênero *Brachiaria*. Não foram encontrados ovos de parasita pela técnica de McMaster.

Exames hematológicos revelaram diminuição do hematócrito, fato compatível em condições naturais ou experimentais em outras espécies afetadas por *T. evansi* (MARQUES, 1996; AQUINO et al., 1999; MENEZES, 2004) por prováveis fenômenos imunossupressivos ou hemolíticos; leucocitose, normalmente associado a infecções, variável com curso clínico (LOSOS, 1980; AQUINO et al., 1999). Havia trombocitose com presença de aglomerados plaquetários e hipoproteinemia discreta. Exames de gota espessa, prova de Woo e pesquisa de hematozoários em diversos esfregaços testaram negativos. Prova biológica testou positiva na totalidade dos animais experimentais (ratos Wistar), sendo que os parasitas foram isolados a partir de 15 dias, e óbitos ocorreram em 30 dias PI ou houve cronificação do processo com sinais também de caquexia. Em face de dificuldade em observar parasitos circulantes decorrentes da cronicidade do processo e mecanismos de evasão dos parasitas, esta prova deveria ser mais amplamente utilizadas em animais a campo com suspeitas, corroborando como mais uma ferramenta de diagnóstico, mesmo porque é uma estirpe de tripanossomos que se replica nestes animais de laboratório, e que têm sido amplamente utilizados em modelos experimentais. Embora não seja considerado patogênico para bovino, esta é uma condição questionável, pairando dúvidas acerca da ocorrência ou mesmo diagnóstico, pois sinais inespecíficos e esporádicos são comuns a diversas enfermidades e invariavelmente não são investigados com profundidade em rotinas de campo. Condição de estirpe não patogênica, também, se estendia a humanos, porém há um relato de caso na Índia (JOSHI et al., 2005) com envolvimento de síndrome clínica similar e transmitida provavelmente por sangue de animal infectado.

CONCLUSÃO

Os dados clínicos, epidemiológicos e relativos a exames complementares foram consistentes para diagnóstico de *T. evansi* em bovino infectado naturalmente. Adaptação à região associada a causas multifatoriais como estresse determinado por desmame e transporte podem ter contribuído para expressão clínica, uma vez que não são considerados patogênicos para a espécie, obviamente não descartando co-infecções. Dados a partir da não ocorrência de outros casos e impossibilidade de reprodução experimental do quadro qualificam esta espécie como portadora e fonte de disseminação para outras sendo necessários estudos aprofundados a partir de isolados primários.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a CAPES pela concessão da bolsa de estudos Programa PRODOCTORAL

REFERÊNCIAS

- AQUINO, L. P. C. T. **Aspectos clínicos, imunológicos e patológicos da infecção experimental em cães por *Trypanosoma evansi***. 1997. 102 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – área de Patologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- DÁVILA, A. M. R. et al. The seroprevalence of equine trypanosomosis in the Pantanal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 2, p. 199-202, 1999.
- FINOL, H. J.; RONDA-SUCRE, A.; ROSSI, M. et al. Skeletal muscle ultrastructural pathology in mice infected with *Trypanosoma evansi*. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, Bologna, v. 33, n. 1-2, p. 65-71, 2001.
- JOSHI, P. P.; SHEGOKAR, V. R.; POWAR, R. M.; HERDER, S.; KATTI, R.; SALKAR, H. R.; DANI, V. S.; BHARGAVA, A.; JANNIN, J.; TRUC, P. Human trypanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi* in India: The first case report. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Mclean, v. 73, n. 3, p. 491-495, 2005.
- MARQUES, L. C. et al. Experimental infection with *Trypanosoma evansi* in horses: clinical and haematological observations. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. São Paulo, v. 9, n. 1, p. 11-15, 2000.
- MARQUES, L. C. **Infecção experimental em equinos com *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) (Sarcomastigophora: Trypanomatidae)**. 1996. 136 f. Tese (Livro Docência em Medicina Veterinária, Área de Patologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MENEZES, D. J.; QUEIROZ, A. O.; GOMES, M. A. M., et al. *Trypanosoma evansi* in inbred and Swiss-Webster mice: distinct aspects of pathogenesis. **Parasitology Research**, Berlin, v. 26, p. 67-72, 2004.

MUÑOZ, K.; CHAVEZ, A. *Trypanosoma evansi* isolated from capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 945-946, 2001.

RODRIGUES, A.; FIHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; SCHILD, A. L.; SOARES, M. P.; MILANO, J.; BARROS, C. L. S. Surtos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em eqüinos do Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 4, p. 239-249, 2005.

SILVA, R. A. M. S.; AROSEMENA, N. A. E.; HERRERA, H. M.; et al. Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and horse: hematological and clinical aspects. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, n. 2, p. 233-8, 1995.

SOARES, L. C. M.; SANTOS, C. E. P.; SANTOS, L. H. F. V.; BORGES, D. C.; BORGES, N. F.; ASSIS, C. J.; SILVA, M. F. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cães com passagem na região de Poconé-MT. In: COMVET, 2, 2007, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande-MS, 2007.

WELLS, E. A. Animal trypanosomiasis in South America. In: RIEMANN, H. P., BURRIDGE, M. J. **Impact of diasses on livestock production in the tropics**. Amsterdam: Elsevier, 1984. p.31-41

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnostic of African trypanosomiasis. **Acta Tropica**, Basel, v. 27, p. 384-386, 1970.

INFLUÊNCIA DA TRANSMISSÃO TRANSPLACENTÁRIA DO *ANAPLASMA MARGINALE* NO HEMOGRAMA E NO METABOLISMO OXIDATIVO DOS NEUTRÓFILOS (NBT) EM BOVINOS

Tamires Soares de Assis¹; Nívea Caroline M. Silva¹; Marcos Roberto A. Ferreira¹; Cecília Nunes Moreira²

1- Alunos (as) do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás – CAJ.

2- Professor Adjunto do Curso de Medicina Veterinária, CAJ/UFG, Jataí, Goiás, Brasil. CEP:75800-000.

E-mail: cissanm@yahoo.com.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Leucograma, nitroblue tetrazolium, parto.

ABSTRACT

INFLUENCE OF TRANSPLACENTAL TRANSMISSION OF ANAPLASMOSIS ON HEMOGRAM AND NEUTROPHILS OXIDATIVE METABOLISM PARAMETERS (NBT) IN CATTLE

This study determines the dynamics of transplacental infection by *Anaplasma marginale* in calves through assessment of hematological parameters and functional neutrophil activity by the NBT method. The animals investigated were reared in a dairy farm called “Fazenda Santa Rosa” located at Universidade Federal de Goiás, Jataí Campus, southwest of Goiânia, Goiás State. Blood smear tests were carried out to diagnose *A. marginale*. They showed that 71,43% of cows and 42,85% of calves were positive for anaplasmosis. As regards hemogram analysis, evidence revealed prepartum leukocytosis and decrease in leukocytes in the postpartum period due to stress during parturition. Transplacental transmission of *A. marginale* was detected in all cases and the infected calves presented an increase in neutrophils oxidative metabolism on their first day of life.

KEYWORDS: Leucocyte count, nitroblue tetrazolium, parturition.

INTRODUÇÃO

A anaplasmosose é causada por uma rickettsia intra-eritrocitária, gênero *Anaplasma*, que infecta ruminantes domésticos e alguns silvestres. O *A. marginale* é transmitido biológica e mecanicamente por um grupo diversificado de artrópodes, insetos hematófagos e instrumentos contaminados. O carrapato *Rhipicephalus boophilus microplus* é o principal

transmissor no Brasil. A forma transplacentária em infecções agudas pode ocorrer, ocasionando a anaplasmosse neonatal. O período de incubação varia de duas a doze semanas. Os sinais clínicos são: febre, anemia, perda de peso, queda na produção, aborto e, eventualmente, morte (PEREIRA, 2006).

Os animais que sobrevivem à infecção aguda permanecem infectados por vários anos, servindo de importantes reservatórios com níveis microscópicos indetectáveis de eritrócitos infectados. Os métodos de profilaxia empregados para a anaplasmosse são: o controle de dípteros hematófagos, medidas de controle de carrapatos, porém, o carrapato não deve ser erradicado da propriedade, e sim controlado, de forma que os animais sejam parasitados durante todo o ano com infestações baixas, permitindo assim doses infectantes adequadas; e o uso de vacinas (FRASER et al, 1997).

A imunidade conferida a *A. marginale* é de duração variável e de origem humoral e celular. O aumento da produção de substâncias oxidativas no interior do neutrófilo é fundamental para a eficiência deste processo de defesa (TIZARD, 2000). O teste da redução do nitroblue tetrazolium (NBT) foi um método desenvolvido para a determinação desta atividade oxidativa dos neutrófilos (BAEHNER & NATHAN, 1968).

O objetivo deste estudo foi determinar a dinâmica de infecção transplacentária por *Anaplasma marginale* em bezerros e suas mães, avaliando parâmetros hematológicos encontrados no hemograma e relacionando a atividade funcional neutrofílica avaliada pelo método NBT.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido na propriedade rural Fazenda Santa Rosa, da Universidade Federal de Goiás – Campus Jataí, situada na região Sudoeste do Estado de Goiás, no município de Jataí. Foram coletadas amostras de sangue de 11 vacas girolando, 7 dias antes do parto e 24hs após o parto, e de seus bezerros 24hs depois do nascimento. A colheita foi realizada por punção da veia jugular com anticoagulante EDTA, a 10%, obtendo 5ml de sangue, para a determinação do volume globular (COLES, 1984), proteína total por refratometria, fibrinogênio plasmático pela técnica de precipitação no tubo de micro hematócrito a 56°C, contagem total de hemácias e de leucócitos com utilização de câmara de Neubauer e dosagem de hemoglobina pelo método de cianometahemoglobina por espectrofotometria (JAIN, 1993).

Para a determinação do teste de NBT, foram obtidos 500 µL de sangue em tubos ependorf, contendo 2,0 µL de heparina (Roche, São Paulo, Brasil). Desta solução de NBT

foram pipetados e transferidos 50µL para frascos plásticos de e 50µL de sangue heparinizado, misturando-se as amostras com os reagentes, incubados a 37°C por 15 minutos em banho-maria e depois mais 15 minutos em temperatura ambiente (STIMULANT, USA). Em seguida, utilizando-se lâminas foram preparados esfregaços que foram corados pelo método de Leishman conforme JAIN (1993). Por meio de microscopia, com aumento de 1000X, para cada amostra foram contados 100 neutrófilos, discriminando o percentual de células NBT positivas ou negativas, no interior do citoplasma. Os esfregaços de sangue obtidos da veia jugular, fixados com álcool metílico, à temperatura ambiente e corados pelo método de Panótipo. Foram examinados em microscópio óptico, sob objetiva de imersão (100x), para o diagnóstico de *A. marginale*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação hematológica antes do parto, obteve-se os seguintes valores na série vermelha: hematócrito ($32,4\% \pm 6,4\%$), hemácias ($6,2 \text{ mm}^3 \pm 0,61 \text{ mm}^3$), fibrinogênio ($525 \text{ g/dL} \pm 320 \text{ g/dL}$), proteínas plasmática ($8,7 \text{ g/dL} \pm 0,68 \text{ g/dL}$), VCM ($52,8 \text{ fl} \pm 5,9 \text{ fl}$), CHCM ($33,3 \text{ g}\% \pm 0,61 \text{ g}\%$) e , plaquetas, ($316.625 \text{ mm}^3 \pm 188.348 \text{ mm}^3$). Quanto ao eritograma, no período pré-parto, 9,09% (1/11) das vacas apresentaram anemia, sendo que 100% foi do tipo normocítica e normocrômica, 45,45% (5/11) dos animais apresentaram trombocitopenia e 54,54% (6/11) contagem de plaquetas normais. Em relação às proteínas plasmáticas totais, 54,45% (6/11) apresentaram hiperproteinemia, enquanto 45,45% (5/11) tinham índices normais de proteínas.

Passando à análise da série branca, os valores médios obtidos foram: leucócitos totais ($15.675 \text{ mm}^3 \pm 5.715 \text{ mm}^3$). No leucograma diferencial, os linfócitos ($9.640 \text{ mm}^3 \pm 6.104 \text{ mm}^3$), segmentados ($10.238 \text{ mm}^3 \pm 11.620 \text{ mm}^3$), bastonetes ($402 \text{ mm}^3 \pm 727 \text{ mm}^3$). Com relação ao leucograma, no período pré-parto, 54,55% (6/11) dos animais apresentaram leucocitose e 45,45% (5/11) contagem de leucócitos normais; dos linfócitos, 45,45% (5/11) mostraram linfócitos normais e 54,55% (6/11) linfocitose. Em relação à contagem de neutrófilos totais, 54,55% (6/11) resultou em contagem normal e 45,45% (5/11) neutrofilia. Na contagem dos monócitos, 36,36% (4/11) apresentaram monocitose e 63,64% (7/11) contagem de monócitos normais. Evidenciou-se que 63,64% (7/11) apresentaram eosinofilia e 36,36% (4/11) contagem normal de eosinófilos.

Na avaliação hematológica após o parto, obteve-se os seguintes valores na série vermelha: hematócrito ($33\% \pm 5,6\%$), hemácias ($6,2 \text{ mm}^3 \pm 0,60 \text{ mm}^3$), fibrinogênio ($2.188 \text{ g/dL} \pm 4.000 \text{ g/dL}$), proteínas plasmática ($8,3 \text{ g/dL} \pm 0,66 \text{ g/dL}$), VCM ($53,4 \text{ fl} \pm 4,16 \text{ fl}$),

CHCM ($33,3 \text{ g\%} \pm 0,42 \text{ g\%}$) e , plaquetas, ($362.286 \text{ mm}^3 \pm 167.305 \text{ mm}^3$). Quanto ao eritrograma pós-parto, 100% (11/11) das vacas apresentaram-se sem alterações, 27,27% (2/11) apresentaram trombocitopenia e 72,73% (8/11) contagem de plaquetas normais. Em relação às proteínas plasmáticas totais, 45,45% (5/11) apresentaram hiperproteinemia, enquanto 54,55% (6/11) apresentaram índices normais de proteínas.

No que se refere à série branca, leucócitos totais ($13.594 \text{ mm}^3 \pm 3.108 \text{ mm}^3$), no leucograma diferencial, os linfócitos ($8.051 \text{ mm}^3 \pm 3.360 \text{ mm}^3$), segmentados ($3.991 \text{ mm}^3 \pm 2.357 \text{ mm}^3$), bastonetes ($14 \text{ mm}^3 \pm 39 \text{ mm}^3$). Quanto ao leucograma pós-parto, 45,45% (5/11) dos animais apresentaram leucocitose, 54,55% (6/11) contagem de leucócitos normais. Quanto aos linfócitos, 36,36% (4/11) apresentaram linfopenia e 63,64% (7/11) contagem de linfócitos normais. Já na contagem de neutrófilos totais, 72,73% apresentaram contagem normal e 27,27% neutrofilia. Na contagem dos monócitos, 36,36% (4/11) apresentaram monócitopenia e 63,64% (7/11) estavam com contagens normais. Evidenciou-se que 9,09% (1/11) apresentaram eosinofilia, enquanto 90,91% (10/11) apresentaram índice normal de eosinófilos.

Na avaliação hematológica dos bezerros recém nascidos, obteve-se os seguintes valores na série vermelha: hematócrito ($36,3\% \pm 7,1\%$), hemácias ($6,5 \text{ mm}^3 \pm 0,74 \text{ mm}^3$), fibrinogênio ($1029 \text{ g/dL} \pm 293 \text{ g/dL}$), proteínas plasmática ($7,9 \text{ g/dL} \pm 0,98 \text{ g/dL}$), VCM ($55,3 \text{ fl} \pm 5,13 \text{ fl}$), CHCM ($33,4 \text{ g\%} \pm 0,40 \text{ g\%}$) e , plaquetas, ($298.120 \text{ mm}^3 \pm 67.038 \text{ mm}^3$).

No eritrograma e na contagem de plaquetas, 100% destes animais apresentaram resultados dentro dos parâmetros fisiológicos normais (MEYER et al., 1995). Em relação às proteínas plasmáticas totais, 18,18% (2/11) apresentaram hiperproteinemia e 72,72% (8/11) apresentaram índices normais de proteínas. Quanto a série branca, leucócitos totais ($10.214 \text{ mm}^3 \pm 3.818,2 \text{ mm}^3$), contagem diferencial de leucócitos, os linfócitos ($4.669 \text{ mm}^3 \pm 1.731,5 \text{ mm}^3$), segmentados ($3.853 \text{ mm}^3 \pm 2.543,8 \text{ mm}^3$), bastonetes ($142 \text{ mm}^3 \pm 130,5 \text{ mm}^3$). No leucograma dos bezerros, 54,55% (6/11) dos animais apresentaram contagem de leucócitos normais e 45,45% (5/11) leucocitose. Quanto aos linfócitos, 18,18% (2/11) apresentaram linfocitose e 72,72% (8/11) da contagem de linfócitos normais. Quanto a contagem de neutrófilos totais, 63,64% (7/11) apresentaram contagem normal e 36,36% neutrofilia. Quanto aos monócitos, 18,18% (2/11) apresentaram monocitose e 72,72% (8/11) contagem de monócitos normais. Evidenciou-se que 18,18% (2/11) apresentaram eosinofilia, 36,36% (4/11) apresentaram eosinopenia e 36,36% (4/11) contagem normal de eosinófilos.

Da análise do NBT, verificou-se que os valores médios antes do parto foram ($47\% \pm 0,17\%$), e depois do parto foram de $32\% \pm 0,17\%$; sendo que 54,45% (6/11) das vacas

apresentaram significativo decréscimo na porcentagem do NBT pós-parto, em relação à porcentagem do NBT pré-parto. E 45,45% (5/11) das vacas tiveram um aumento na sua porcentagem. Com relação aos bezerros, os valores médios de NBT foram de $41\% \pm 0,15\%$.

Quanto à parasitemia, 54,54% (6/11) das vacas foram positivas para *Anaplasma marginale*, dessas, 18,18% (2/11) foram positivas pré e pós-parto e 72,72% (8/11) positivas somente no pós-parto. Quanto aos bezerros, 45,45% (5/11) foram positivos para *A. marginale*.

As vacas no pré-parto demonstraram uma leucocitose e uma redução nos leucócitos pós-parto, porém não caracterizando uma leucopenia, pois os valores estavam dentro dos parâmetros normais. As vacas pós-parto, independente da parasitemia, apresentavam um decréscimo na imunidade celular refletindo uma queda no NBT de 47% para 32%, sendo esta justificada provavelmente por um estresse puerperal. As vacas que se mostraram parasitadas pelo *Anaplasma marginale* apresentaram um acréscimo de 36% para 47% no resultado do teste de NBT do pré-parto para o pós-parto, concordando com BIRGEL JUNIOR & SAUT (2006) e demonstrando a resposta imunológica a infecção. Os bezerros positivos para o *Anaplasma marginale* apresentaram maiores valores no resultado do teste de NBT do que os bezerros não parasitados, o que reflete já o pleno funcionamento do metabolismo oxidativo dos neutrófilos nas primeiras horas de vida, concordando com TIZARD (2000).

Todos os bezerros que se mostraram positivos para *Anaplasma marginale* possuíam suas mães também parasitadas; comprovando a transmissão transplacentária do *Anaplasma marginale*, considerando que não houve tempo para contaminação dos bezerros recém-nascidos por vetores da anaplasmoze bovina, concordando com SILVA (2007).

CONCLUSÕES

Foi possível concluir que a transmissão placentária do *A. marginale* ocorreu em todos os casos estudados e os bezerros infectados apresentaram já no primeiro dia de vida um acréscimo no metabolismo oxidativo dos neutrófilos.

REFERÊNCIAS

- BAEHNER, R. L.; NATHAN, D. G. Chronic granulomatous disease. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 278, p. 1972-4, 1968.
- BIRGEL JUNIOR, E. H.; SAUT, J. P. E. Influência do período pós-parto sobre o leucograma de fêmeas bovinas da raça holandesa. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 588-597, 2006.

COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1984, 566p.

ELSIEVO, K. A.; MOORE, W. E. Effects of dietary protein and stage of lactation on the hematology and erythrocyte enzymes activities of high-producing dairy cattle. **Research in Veterinary Science**, London, v. 26, n. 1, p. 53-58, 1979.

FRASER, C. M.; BERGERON, J. A.; MAYS, A.; AIELLO, S. E.; **Manual Merk de veterinária**. 7.ed. São Paulo: Rocca, 1997. 2169p.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417p.

MEYER, J. D.; COLES, H. E; RICH, J. L. **Medicina de laboratório veterinária Interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995.

PEREIRA, M. A. **Dinâmica da infecção por *Anaplasma marginale* e *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bezerras de propriedades leiteiras da microrregião de Lavras, Sul de Minas Gerais**. 58p. 2006. Dissertação (Mestre em Ciência Veterinária) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, R. A.; CORRÊA, F. N.; BOTTEON, R. C. C. M.; BOTTEON, P. T. L. Infecção natural por hemoparasitos em bezerros submetidos à quimio-profilaxia aos 30 dias de idade. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 163-165 2007.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 6.ed. London: Saunders Company, 2000, 482p.

SOROPREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO DE BARRA DE SÃO FRANCISCO, ESPÍRITO SANTO, BRASIL

João Henrique Natalino Fanti¹, Graziela Barioni², Marcus Alexandre Vaillant Beltrame³

1. Médico veterinário, Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha
2. Médica veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha (UVV), 29.102-770, Vila Velha, ES, Brasil
E-mail: gbarioni@uvv.br (autor correspondente)
3. Médico veterinário, mestrando, professor do Curso de Medicina Veterinária; Centro Universitário Vila Velha (UVV)

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, doença parasitária, neosporose, prevalência, reação de imunofluorescência indireta

ABSTRACT

SEROPREVALENCE OF *NEOSPORA CANINUM* IN CATTLE FROM THE MUNICIPALITY OF BARRA DE SÃO FRANCISCO, ESPÍRITO SANTO, BRAZIL

This study assesses the prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle from Barra de São Francisco, Espírito Santo, Brazil. Venous blood samples were collected from 40 cows raised in 4 different properties. Anti-*Neospora caninum* antibodies were detected by indirect immunofluorescence testing (IIFT). A total of 7 animals (17,5%; 95% CI = 0,5 – 34,5%) were reactive. This is the first report of *Neospora caninum* infection in cattle herds from Espírito Santo. Although there was no evidence of reproductive failure, this possibility can not be excluded due to the fact that no control measures are adopted in the three farms where seropositive cows were found. Therefore, results indicate a need for further research to verify the actual prevalence of the disease in the state.

KEYWORDS: Cattle, indirect immunofluorescence, neosporosis, parasitic disease, prevalence

INTRODUÇÃO

O *Neospora caninum* é considerado um dos principais agentes causadores de forte impacto econômico na pecuária, em decorrência dos abortos e perdas neonatais na espécie bovina (NOAKES et al., 2001), ovinos, caprinos (LALLY ET AL., 1996), eqüinos (RIET-

CORREA et al, 2003), veados, lobos, chacais, alce (GONDIM et al., 2004), camelos (DUBEY, 2003), búfalos e seres humanos (PETERSEN et al., 1999). Em seres humanos pode causar infecção congênita e até mesmo aborto (WALKER, 2004).

Antes confundido com o *Toxoplasma gondii* pela semelhança estrutural dos estágios evolutivos, o neosporose foi diagnosticada pela primeira vez em 1988 em um cão, apesar de ser reconhecido como causa de aborto em bovino desde 1970 (WALKER, 2004).

O protozoário é um hospedeiro intracelular obrigatório, que é encontrado em vários tecidos, principalmente no sistema nervoso central (URQUHART et al., 1998) e músculos (RIET-CORREA et al., 2003) das espécies infectadas. Em bovinos causa abortos do terceiro mês de gestação até próximo ao parto, mas em caninos e felinos seu papel é desconhecido.

A doença difunde-se rapidamente nos rebanhos, devido a transmissão horizontal, onde os cães e, mais recentemente, os coiotes atuam realizando a transmissão. Acredita-se que outros canídeos silvestres sirvam de hospedeiros definitivos (RIET-CORREA et al., 2003), podendo também ocorrer transmissão vertical (WALKER, 2004). Sugere-se que os cervos possam ter um papel importante na epidemiologia do parasito (GONDIM et al., 2004).

Na Califórnia, a doença é considerada a mais importante causa de aborto no rebanho leiteiro. O custo associado aos abortos por *N. caninum* na indústria leiteira da Califórnia foi estimado em 35 milhões de dólares, na Nova Zelândia em 24 milhões, na Austrália 85 milhões na indústria leiteira e 25 milhões de dólares na indústria de carne (WALKER, 2004). Os custos adicionais ficam por conta da redução da produção de leite (NOAKES et al., 2001). Resultados indicam um maior número de sororeagentes em animais com idade acima de 24 meses quando comparados às demais faixas etárias e a soroprevalência é maior em bovinos leiteiros em relação aos bovinos de corte (RAGOZO et al, 2003). DUBEY (2003) relata prevalências de até 87 % em rebanhos. Portanto, objetivou-se conhecer a dimensão da doença na região de Barra de São Francisco-ES, realizando-se um levantamento soroepidemiológico em rebanhos bovinos leiteiros.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram colhidas no município de Barra de São Francisco, localizado na região norte do Estado do Espírito Santo, Brasil, em julho de 2007. Neste município, foram contabilizados aproximadamente 29.000 bovinos com aptidão leiteira, segundo dados do IDAF-ES. Foi utilizado animais em lactação, sem raça definida, aparentemente sadios e maiores que 24 meses. Colheu-se o sangue na da veia mamária com agulha hipodérmica

40x12mm e tubo de ensaio sem anti-coagulante. Em seguida armazenava-se em caixa isotérmica com gelo e, no laboratório, centrifugava-se a 3.500rpm/10 min. para obtenção do soro que era identificado e congelado a -30°C até realização das análises. Foram colhidas 10 amostras por propriedade totalizando 40 soros bovinos.

Os rebanhos leiteiros avaliados, selecionados por conveniência, eram criados em regime extensivo e os animais eram vacinados contra brucelose, raiva e febre aftosa. Em cada propriedade foi aplicado um questionário para se obter informações epidemiológicas do local.

As amostras foram enviadas ao laboratório da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para a pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* por meio da técnica de reação de imunofluorescência indireta (IFI) segundo a metodologia estabelecida pelo laboratório.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 40 amostras testadas sete animais apresentaram reação positiva ao teste. Portanto, a prevalência geral detectada foi de 17,5% (7/40; 95%CI: 0,5-34,5%) para a pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* em vacas com idade acima de 24 meses. Quando analisados os resultados por propriedade, pode-se identificar que na propriedade A, o percentual de animais positivos foi de 30% (3/10), na propriedade B 0% (0/10) e nas propriedades C e D, constatou-se uma percentagem de 20% (2/10). Em nenhuma das propriedades estudadas houve relato de casos esporádicos de abortamentos, inviabilizando relacionar o enterro de placenta e feto abortados com a inexistência da doença nas propriedades pesquisadas.

A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* apresentou-se maior nas propriedades onde haviam cães com livre acesso às pastagens e demais instalações. Este achado corrobora as afirmações de COSTA et al. (2001) e WALKER (2004) ao relatarem que aspectos da região, ecossistemas e manejo são fatores que podem beneficiar a ocorrência de infecção pelo *N. caninum*. WALKER (2004) considera que a prevalência depende de fatores de risco que podem variar entre fazendas e regiões como: carnívoros, tipo de alimentação, proximidade com áreas urbanas, etc. Entretanto, um estudo no Paraná não identificou diferença significativa quando analisados os aspectos de manejo, produção de leite, problemas reprodutivos, alimentação, presença de cães, gatos e roedores (OGAWA et al 2005).

A prevalência encontrada (17,5%) foi semelhante aos resultados encontrados por outros autores utilizando a técnica de IFI como: 16,83% SP e MG (COSTA et al., 2001); 28,2% MS; 22,2% PR; 14,7% RJ (RAGOZO et al., 2003); BA 35,9% em búfalos (GONDIM et al., 2007). No RS a prevalência foi de 11,4% pela técnica de ELISA (VOGEL et al., 2006).

O contato com animais selvagens, uma vez que os bovinos tinham acesso às matas e florestas adjacentes às pastagens, possivelmente, contribuiu com os resultados encontrados nas propriedades. GONDIM et al. (2004) ao identificarem o aborto pelo parasita em um rebanho de vacas co-infectadas por *Hammondia heydorni*, sugeriram relação com uma população numerosa de gatos selvagens presentes na região. A detecção de soroprevalência de 39% em lobos, 11% em coiotes e 13% em alces, contribuem com a constatação da infecção pelo *Neospora caninum* na população de animais selvagens.

Embora grande parte dos abortos ainda permanecerem com etiologia desconhecida, abortos causados por protozoários têm apresentado relevância mundial, apesar de SANTOS et al. (2005) ressaltarem que o aborto por *N. caninum* parece ser potencializado pela presença de outros agentes causadores de aborto como a Leptospirose, BVD, HVB tipo-1.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho podemos concluir que: a infecção por *N. caninum* está presente em 75% (3/4) dos rebanhos pesquisados, totalizando numa prevalência média de 17,5% (7/40) de animais soropositivos; fatores de risco como, presença de caninos e contato com animais selvagens, contribuíram com a prevalência da doença no rebanho; identificou-se animais soropositivos nas propriedades, mesmo não havendo notificação da ocorrência de abortos pelos proprietários.

Pesquisas de maior amplitude e mais aprofundadas merecem ser realizadas no Estado do Espírito Santo, para que seja demonstrada a real importância desta doença no âmbito da cadeia produtiva de bovinocultura de leite e corte, permitindo estimar as perdas econômicas decorrentes da presença deste agente no rebanho. Desta maneira, a adoção de medidas sanitárias poderão ser justificadas e implementadas dentro das propriedades.

REFERÊNCIAS

COSTA G. H. N.; CABRAL D. D.; VARANDAS N. P.; SOBRAL E. A.; BORGES F. A.; CASTAGNOLLI K. C. Frequência de anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Revista Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 61-66, 2001.

DUBEY J. P.; Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals, **The Korean Journal of Parasitology**, Seoul, v.41, n.1, p. 1-16, 2003.

GONDIM L. F. P.; MCALLISTER M. M.; PINILLA N. E. M.; PITT W. C.; MECH L. D.; NELSON M. E. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animais. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 90, n. 6, p. 1361-1365, 2004.

GONDIM L. F. P.; PINHEIRO A. M., ALMEIDA M. A. O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora* em búbalos (*Bubalus bubalis*) criados no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, Salvador, v. 8, n. 2, p. 92-96, 2007.

LALLY N. C.; JENHINS M. C.; DUBEY J. P. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 3, n. 3, p. 275–279, 1996.

NOAKES D. E.; PARKINSON T. J.; ENGLAND G. C. W. **Veterinary Reproduction and Obstetrics**, 8.ed. Saunders, 2001.

OGAWA L.; FREIRE R. L.; VIDOTTO O.; GONDIM L. F. P.; NAVARRO I. T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n.3, p. 312-316, 2005.

PETERSEN E.; LEBECH M.; JENSEN L.; LIND P.; RASK M.; BAGGER P.; BJÖRKMAN C.; UGGLA A. *Neospora caninum* Infection and repeated abortions in humans, **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 5, n. 2, p. 278-280, 1999.

RAGOZO A. M. A.; PAULA V. S. O.; SOUZA S. L. P.; BERGSMASCHI. D.P.; GENNARI S. M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros, **Resista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003.

RIET-CORREA F.; SCHILD A. L.; MENDEZ M. D. C.; LEMOS R. A. A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**, v. 2, Varela, 2003.

SANTOS A. P. M. E.; NAVARRO I. T.; BRACARENSE A. P. F. R. L.; FREIRE R. L.; MARANA E. R. M.; OGAWA L.; ALFIERI A. A.; FREITAS J. C., VIDOTTO O. Dairy cow abortion associated with *Neospora caninum* and other infectious agents. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 4, p.545-547, 2005.

URQUHART G. M.; ARMOUR J.; DUNCAN J. L.; DUNN A. M.; JENNINGS F. W. **Patologia Veterinária**. 2.ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VOGEL F. S. F.; ARENHART S.; BAUERMAN F. V. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1948-1951, 2006.

WALKER B. *Neospora caninum* infection in cattle, Agnote DAI-314, **Veterinary Officer New South Wales Agriculture**, Australia, Editora Gunnedah, 2004.

PERFIL BIOQUÍMICO DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR *Trypanossoma vivax*

Dênia Monteiro de Moura¹, João Cláudio do Carmo Paneto², Eustáquio Resende Bittar², Joely
Ferreira Figueiredo Bittar³

1. Professora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba. UNIUBE/FAZU/ABCZ.

2. Professor Doutor do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba UNIUBE/FAZU/ABCZ.

2. Professor Doutor do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba UNIUBE/FAZU/ABCZ.

3. Professora Doutora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba UNIUBE/FAZU/ABCZ. Av:
Nenê Sabino 1801, B: Universitário. CEP: 38055-500 Uberaba-MG, Brasil.
E-mail: joely.bittar@uniube.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Doenças parasitárias, patologia clínica, tripanossomatídeos.

ABSTRACT

BIOCHEMICAL PROFILES IN CATTLE NATURALLY INFECTED WITH *TRYPANOSOMA VIVAX*

Animal trypanosomiasis represents serious health problems in most tropical countries, and the use of drugs is usually necessary to control the disease. The city of Uberaba, in Minas Gerais, is an important center of cattle breeding in Brazil. It has the finest zebu herds, and it is where the Brazilian Association of Zebu Breeders (ABCZ) is located. Due to lack of information on *T. vivax* parasites in Minas Gerais, this study evaluates biochemical profiles of infected animals. Blood samples from 45 animals were collected, of which 17 presented *T. vivax* infection. A semiautomatic spectrophotometer exam determined levels of aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), creatinine kinase (CK), urea, creatinine, calcium, and phosphorus. No significant differences were observed between infected and non-infected groups.

KEYWORDS: Clinical pathology, parasitic diseases, trypanosomiasis.

INTRODUÇÃO

O agente etiológico da tripanosomose bovina é o *Trypanossoma vivax*, um protozoário flagelado, pertencente à família Trypanosomatidae. Os tripanossomas patogênicos de importância pecuária se encontram todos localizados na seção Salivaria, dos quais apenas

Trypanosoma vivax, *T. equiperdum* e *T. evansi* podem ser encontrados na América do Sul. Membros do gênero *Trypanosoma* são parasitas digenéticos, normalmente um animal vertebrado é o hospedeiro final, enquanto diversos invertebrados hematófagos representam os hospedeiros intermediários ou vetores, os quais transmitem a infecção para novos hospedeiros vertebrados (SEKONI, 1990).

A tripanossomose limita a possibilidade da introdução de reprodutores de raças exóticas nas áreas de produção pecuária e também impede que algumas áreas sejam utilizadas o ano todo devido às variações sazonais na incidência da doença; e a economia, por causa do déficit na produção de carne e leite que fazem com que as regiões ou os países sejam obrigados a importar esses produtos (UZOIGWE, 1986). Embora os bovinos possam se infectar com esse parasita, freqüentemente não é observada enfermidade clínica. No continente africano, algumas raças de bovinos são resistentes a *T. vivax*. Este fenômeno, denominado tripanotolerância (SCHENK, 2001), tem origem genética e ambiental, e pode variar ainda de acordo com a idade, estado nutricional, condições de estresse, infecções intercorrentes e cepas envolvidas (DAVILA et al., 1997).

Nesse contexto, visando amenizar o impacto econômico e os prejuízos causados por esta hemoparasitose, o presente trabalho objetivou avaliar o perfil bioquímico dos animais parasitados. Uma vez que existem poucos estudos relacionados às alterações bioquímicas em animais naturalmente infectados por este hemoprotozoário, a realização destes testes e avaliação destes parâmetros torna-se uma ferramenta valiosa de identificação nas alterações clínicas e fisiológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 45 fêmeas, bovinas mestiças, adultas provenientes de uma Central de inseminação da região de Uberaba onde, anteriormente fora observada a presença de tripanossomatídeo em esfregaço sanguíneo (dados não publicados). Os animais foram acompanhados e utilizados para obtenção de sangue. Os experimentos bioquímicos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário de Uberaba. Os animais positivos avaliados bioquimicamente por meio das determinações dos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST), alanino aminotransferase (ALT), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP), creatina quinase (CK), uréia, creatinina, cálcio, fósforo (KANEKO, 1997).

As amostras de sangue utilizadas colhidas por intermédio da venopunção coccígea, sem anticoagulante (EDTA) para a obtenção do soro em tubos estéreis a vácuo. As determinações bioquímicas realizadas conforme recomendações do fabricante (Labtest)[®], e as análises do AST, ALT e GGT, determinadas por meio de técnicas cinéticas. A fosfatase alcalina (ALP), creatina quinase (CK), fósforo, falcio, e as proteínas totais foram obtidas através do ensaio do ponto final (WOO et al., 1970). As absorvâncias foram obtidas utilizando o espectrofotômetro Bioplus 2000[®]. A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o software Minitab 9.2. O estudo estatístico comparativo foi realizado empregando a Análise de Variância – ANOVA ONEWAY (STATSOFT, 2003). Diferenças estatisticamente significativas foram identificadas pelo teste t de *Student*. A diferença entre grupos foi considerada significativa quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dezessete animais foram considerados positivos onde foi detectada a presença da forma tripomastigota do *Trypanosoma vivax*. Na avaliação bioquímica, os parâmetros de AST analisados variaram de 36 a 78 U/L, considerando para o padrão normal, o intervalo entre 0 a 150 U/L, os animais não apresentaram alterações nos valores de AST. Na enzima ALT a variação foi de 5 a 89 U/L. Considerando para o padrão normal o intervalo de 11- 40 U/L, cinco animais (29,4%), apresentaram alterações, destes, três (17,64%) apresentaram aumento e dois animais (11,76%) diminuição. Considerando que a concentração de ALT nos hepatócitos de ruminantes é baixa, consequentemente, a atividade sérica de ALT nestas espécies não é útil para detectar doença hepática. Na avaliação dos níveis de GGT a variação foi de 8 a 29 U/L, considerando para o padrão normal o intervalo de 6,1 a 17,4 U/L. Cinco animais (29,4%) apresentaram alterações nos índices de GGT, destes, três (17,64%) apresentaram aumento no GGT, e dois animais (11,76%) diminuição no GGT. A γ -glutamilttransferase (GGT) é considerada uma enzima de indução. No entanto, a lesão hepática aguda pode provocar aumento imediato na atividade sérica do GGT, possivelmente devido à liberação de fragmentos de membrana que a contém. Em ruminantes, a limitada faixa de normalidade da atividade sérica de GGT torna mais valiosa a determinação de tal enzima.

Em relação à determinação dos níveis de uréia a variação foi de 11 a 31 mg/dL. Considerando para o padrão normal o intervalo de 21 a 43 mg/dL, 16 animais (88,23%) apresentaram diminuição nos índices de uréia. A diminuição de nitrogênio uréico sanguíneo

(NUS) pode ser considerada como indicador de doença hepática grave, uma vez que a uréia é sintetizada nos hepatócitos a partir da amônia. Em animais com insuficiência hepática, a menor quantidade de hepatócitos provoca menor taxa de conversão de amônia em uréia. Consequentemente, a taxa de amônia aumenta e o teor de nitrogênio da uréia sanguínea diminui.

Na avaliação dos parâmetros de creatinina a variação foi de 0,76 a 2,28 mg/dL, considerando para o padrão normal o intervalo de 1,0 a 2,0 mg/dL, quatro animais (23,52%) apresentaram alterações, e destes três (17,64%) apresentaram aumento e um (5,88%) apresentou diminuição. A produção diária de creatinina é relativamente constante não sendo influenciada por fatores extra-renais como acontece com a uréia. No entanto, a verdade é que a maioria das dietas pode causar diminuição do teor sérico da creatinina, porque os nutrientes absorvidos induzem um aumento pós-prandial da taxa de filtração glomerular.

O fósforo variou de 0,1 a 10,0 mg/dL, considerando para o padrão normal o intervalo de 2,3 a 9,06 mg/dL. Dois animais (11,76%) apresentaram alterações, e destes animais um (5,88%) apresentou aumento e um (5,88%) diminuição nos níveis de fósforo. A variação nos parâmetros das proteínas totais foi de 4,6 a 11,3 g/dL, considerando para o padrão normal o intervalo de 6,7 a 7,5 g/dL, 13 animais (76,47%) apresentaram aumento. A elevação nas concentrações de proteínas totais, também foram observadas em trabalho realizado com bovinos por MORAIS (2001), onde após 60 dias de infecção houve aumento significativo, refletindo a hemoconcentração ou estimulação antigênica causada pelo *Trypanossoma vivax*. Com relação à tripanossomíase, estudos demonstram que esta induz o catabolismo protéico (VERTEGEN et al., 1991).

A variação nos parâmetros de cálcio foi de 0,5 a 11,3 mg/dL. Considerando para o padrão normal o intervalo de 9,4 a 12,2 mg/dL. Onze animais (64,70%) apresentaram hipocalcemia. Nota-se ainda hipocalcemia acentuada nos animais, decorrente apenas da hipoalbuminemia transitória observada entre o 49º e 60º dia de infecção em bovinos infectados experimentalmente, ou ainda a concentração de cálcio ionizado pode estar normal, mas a fração ligada à proteína está decrescida.

A variação nos parâmetros de creatina quinase foi de 24 a 121 U/L. Considerando para o padrão normal o intervalo de 60 a 120 U/L. 15 animais (88,23%) estavam com os valores diminuídos. A atividade de CK aumenta rapidamente após a lesão muscular (miopatia) e diminui imediatamente depois da sua resolução. Esta lesão pode ocorrer devido ao estresse do animal, quando o mesmo se debate no tronco de contenção no momento da coleta das amostras.

A variação dos parâmetros de fosfatase alcalina foi de 24 a 257 U/L. Considerando para o padrão normal o intervalo de 0,0 a 488 U/L. Nenhum animal apresentou alterações nos valores normais. Na análise estatística dos parâmetros bioquímicos, não foram encontradas diferença estatística com significância de 5% ($p < 0,05$).

CONCLUSÃO

As alterações bioquímicas apresentadas no presente trabalho, não podem ser atribuídas exclusivamente ao parasitismo exercido pelo *Trypanossoma vivax* nos animais. Estas alterações bioquímicas podem estar relacionadas a causas multifatoriais, como a nutrição, manejo, e a genética dos animais avaliados, uma vez que as alterações laboratoriais causadas pelo protozoário podem estar diretamente relacionadas com o estágio de evolução da doença (fase aguda ou crônica) e ainda estar ligada a adaptabilidade dos animais a ação do parasito (relação parasito/hospedeiro).

REFERÊNCIAS

- DÁVILA, A. M. R.; RAMIREZ, L.; SILVA, R. A. M. S. Morphological and biometrical differences among *Trypanosoma vivax* isolates from Brazil and Bolivia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.92, p. 357- 358, 1997.
- KANEKO J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. Academic Press, San Diego. 1997. 932p.
- MORAIS, M. A. V. **Infecção experimental em bovinos (*Bos indicus*) com *Trypanosoma vivax* (ZIEMMAN, 1905)**. 2001. Tese (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.
- SCHENK, M. A. M. et al.; Avaliação clínico-laboratorial de bovinos Nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, p. 157-161, 2001.
- SEKONI, V. O.; et al. Comparative haematological changes following *Trypanosoma vivax* and *T. congolense* infections in zebu bulls. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 35, p. 11-19, 1990.

SEKONI, V. O.; et al. Pathological changes in male genitalia of cattle infected with *Trypanosoma vivax* and *Trypanosoma congolense*. **British Veterinary Journal**, London, v. 146, n. 2, p. 175-180, 1990.

STATSOFT. South America Statistica livro base, São Caetano do Sul, 2003, 142p.

UZOIGWE, N .R. Self-cure in zebu calves experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 22, p. 141-146, 1986.

VERTEGEN, M. W. A.; ZWART, D.; VAN DER HEL, W.; BROUWER, B. O.; WENSING, T. Effect of *Trypanosoma vivax* infection on the energy and nitrogen metabolism of West African Dwarf Gotas. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 1667-1677, 1991.

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. **Acta Tropica**, Basel, v. 27, p. 384-386, 1970.

PERFIL HEMATOLÓGICO DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma vivax*

Dênia Monteiro de Moura¹, João Cláudio do Carmo Paneto², Eustáquio Resende Bittar²,
Olindo Assis Martins Filho³, Joely Ferreira Figueiredo Bittar⁴

1. Professora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba. UNIUBE/FAZU/ABCZ.

2. Professor Doutor do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba UNIUBE/FAZU/ABCZ.

3. PhD, Pesquisador do Centro de Pesquisas René Rachou Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte - MG.

4. Professora Doutora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba UNIUBE/FAZU/ABCZ.

Av: Nenê Sabino 1801, B. Universitário. CEP: 38055-500 Uberaba-MG, Brasil.

E-mail: joely.bittar@uniube.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Hemograma, hemoparasitas, tripomastigota.

ABSTRACT

HEAMATOLOGICAL PROFILE OF CATTLE NATURALLY INFECTED WITH *TRYPANOSOMA VIVAX*

Trypanosoma vivax is a major pathogen of cattle that has a considerable impact on livestock productivity. Research of *T. vivax* isolates is a complex procedure because laboratory animals are often not susceptible to infection and no clinical signs can be observed. In Africa, some cattle breeds are resistant to *T. vivax*, which may vary according to genetic characteristics, age, nutritional status, physical stress, persistent infections, and parasite strain. This study was conducted in the Clinical Analysis Laboratory at Uberaba's Veterinary Hospital, where 45 samples from crossbred cows were examined by microscopic analysis and an automatic diluter CELM DA 500. Positive and negative samples were compared, but no statistically significant differences were observed between the two groups ($p < 0,05$).

KEYWORDS: Haemogram, hemoparasites, trypomastigotes.

INTRODUÇÃO

As hemoparasitoses constituem enfermidades amplamente distribuídas em toda a América Latina e Caribe causando efeitos negativos na saúde dos rebanhos animais e principalmente sobre a produção e rentabilidade dos sistemas de produção estabelecidos nas diferentes regiões do continente (TAMASAUKAS et al., 2000). Todos os hemoflagelados pertencem à família *Trypanosomatidae*. Várias espécies do gênero *Trypanosoma* causam

doenças parasitárias de considerável importância médica e veterinária em todas as partes da África, Ásia e as Américas. Foi relatado na América do Sul desde 1919 (LEGER & VIENNE, 1919). O parasito foi introduzido com um rebanho vindo do Senegal (África) em 1830. Depois se difundiu de um país a outro por meio de traslados de bovinos (CURRASON, 1943). A tripanossomose promove uma sub-exploração dos recursos naturais e um baixo nível de produção animal, o que gera perdas diretas e indiretas (FINELLE, 1974). O *T. vivax* pode provocar nos bovinos uma doença fatal associada a alta e persistente parasitemia, resposta imune reduzida, hemorragias e anemias (LOSOS & IKEDE, 1972). Na forma aguda os animais morrem dentro de cinco semanas e apresentam alta temperatura, letargia, fraqueza, anemia, leve perda na condição física, lacrimejamento, diarreia que tem sido relatada em animais que morreram 37 a 58 dias após a infecção experimental, e aborto (ILRAD, 1984). A perda de peso pode ser substancial em curto espaço de tempo e tem sido observado que o gado zebu puro desenvolve alta parasitemia com a doença terminando em morte (WHITELOW, 1979). Gera ainda gastos com a profilaxia, diagnóstico e tratamento dos animais infectados. A escassez de informações sobre as tripanossomoses de importância econômica é um fator limitante para a erradicação desta parasitose. O presente trabalho objetivou a identificação e avaliação das alterações hematológicas dos bovinos naturalmente parasitados pelo *T. vivax*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 45 fêmeas, bovinas mestiças, adultas, provenientes de uma central de inseminação da região de Uberaba onde já havia sido observada a presença de tripanossomatídeo em esfregaço sanguíneo (dados não publicados). Os animais foram acompanhados e utilizados para obtenção de sangue e identificação do protozoário.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário de Uberaba. Para a identificação dos protozoários, esfregaços sanguíneos foram realizados a partir de sangue obtido por punção da veia coccígea utilizando tubos Vacutainer[®] com anticoagulante - EDTA. Uma gota do sangue foi colocada sobre uma lâmina a uma distância de aproximadamente 2-3 cm de um lado final. A gota foi espalhada até o lado final oposto, com auxílio de outra lâmina num ângulo de 45°. O esfregaço foi corado pelo reagente comercial Panótico rápido (Hematocor-Biicolor)[®] e examinados em microscópio ótico com objetiva de imersão (HOARE, 1972).

Os hemogramas foram realizados em aparelho automatizado Celm DA 500 (COLES, 1984). Os animais positivos e os negativos foram avaliados hematologicamente, para posterior análise comparativa, quanto ao perfil eritrocitário e leucocitário (SCHENK, 2001).

A dosagem de proteínas plasmáticas foi feita utilizando o plasma obtido através de centrifugação do sangue em tubo microcapilar com posterior leitura em refratômetro manual Quimis® (RIBEIRO, 2006). A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando o software Minitab 9.2.

O estudo estatístico comparativo entre grupos foi realizado empregando a Análise de Variância – ANOVA ONEWAY (STATSOFT, 2003). Diferenças estatisticamente significativas foram identificadas pelo teste t de *Student*. A diferença entre grupos foi considerada significativa quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do perfil eritrocitário dos 17 animais positivos, a variação na contagem de hemácias foi de 5,62 a $8,49 \times 10^6 \text{ mm}^3$, considerando para o padrão normal o intervalo de $5,0\text{--}10,0 \times 10^6 \text{ mm}^3$, nenhum animal apresentou alterações na contagem de hemácias. Na avaliação do hematócrito a variação foi de 28 a 45%, considerando para o padrão normal o intervalo de 28 a 48%, os animais não apresentaram alterações no hematócrito. A Hemoglobina nos animais variou de 9,4 a 13,3 g/dL, considerando para o padrão normal o intervalo de 8-15 g/dL. Não foram encontradas alterações nos níveis hemoglobínicos. As proteínas plasmáticas apresentaram variação de 6,3 e 8,0 g/dL, considerando para o padrão normal o intervalo de 6,7-7,5 g/dL. Apenas um (2,22%) dos animais positivos apresentou hiperproteinemia.

Foi observado que apesar do isolamento do protozoário no sangue dos animais, não foram constatadas alterações no eritrograma. Infecções experimentais com isolados de *T. vivax* do Pantanal, em bovinos com boas condições nutricionais, corroboraram essas observações, pois não foram observados sinais clínicos indicativos de tripanossomíase, e alterações hematológicas, que são características dessa enfermidade (PAIVA et al., 2000). Na análise estatística não houve diferenças entre os valores do hematócrito, hemácias e hemoglobina dos animais positivos e negativos, e nenhuma das comparações apresentou diferença estatística com significância de 5% ($p < 0,05$).

Em relação ao leucograma pode-se verificar que os leucócitos totais variaram de 6700 a 37000 mm^3 , considerando para o padrão normal o intervalo de 4.000 a 12.000 mm^3 . Três animais positivos (6,66%) apresentavam leucocitose. A variação na contagem de bastonetes

foi de 71 a $360 \times 10^3/\text{mm}^3$, considerando para o padrão normal o intervalo de 0 a $120 \times 10^3/\text{mm}^3$. Oito animais positivos (17,77%) apresentaram aumento na contagem de bastonetes. A variação na contagem dos neutrófilos foi de 1.206 a $11.100 \times 10^3/\text{mm}^3$, sendo considerando para o padrão normal o intervalo de 600 a $4.000 \times 10^3/\text{mm}^3$, quatro animais positivos (8,88%) apresentaram neutrofilia. A neutrofilia também foi observada em cães e cavalos infectados por outra espécie de tripanossomatídeo (HOLWIL, 1965). Nos linfócitos a variação foi de 3.124 a $24.790 \times 10^3/\text{mm}^3$, considerando para o padrão normal o intervalo de 2.500 a $7.500 \times 10^3/\text{mm}^3$. Três animais positivos (17,64%) apresentavam linfocitose. Nos eosinófilos a variação foi de 162 a $2.592 \times 10^3/\text{mm}^3$, considerando para o padrão normal o intervalo de 0 a $2.400 \times 10^3/\text{mm}^3$. Um animal positivo (5,88%) apresentava eosinofilia.

A tripanossomíase pode ser dividida em duas etapas distintas: a fase aguda onde os animais geralmente apresentam alta parasitemia, associada a picos febris; e a fase crônica que é caracterizada por ausência de febre, parasitemia baixa ou ausente, anemia e leucopenia associada a linfocitose e queda no ganho de peso (PAIVA et al., 2000).

Apesar da variação na modulação da resposta às hemoparasitoses, alguns autores (ESPINOSA & ASO, 1992), apontaram leucopenia associada à linfocitose como a principal característica do leucograma na fase crônica dos animais experimentalmente infectados. Para esses autores a leucopenia parece ser uma ocorrência importante em infecções por *T. vivax* em bovinos, ovinos e caprinos. Nos animais do experimento naturalmente infectados, a leucocitose associada à linfocitose, demonstrou variação na resposta imunológica dos animais. Esta diferença nas manifestações clínicas e do leucograma dos animais, pode estar relacionada ao fato de que nas infecções naturais as doses inoculadas são sempre menores que as inoculadas experimentalmente. Acredita-se, ainda que o bom estado nutricional dos animais parasitados tenha sido um dos principais fatores dessa resposta benigna, dificultando a instalação de infecções intercorrentes e até mesmo uma forma mais grave da tripanossomose. Já a eosinofilia apresentada pelos animais é considerada uma resposta inespecífica decorrente do parasitismo dos animais (THRALL, 2006). Um fator importante a ser considerado está correlacionado com a sazonalidade da tripanossomíase e a elevação das helmintoses no período da primavera/verão. A maior predisposição à helmintose como consequência da infecção por *T. vivax* foi confirmada (TRAIL, 1993) e verificaram que bovinos infectados por *T. vivax* foram mais frequentemente parasitados por helmintos e apresentaram maiores valores de ovos por grama de fezes, o que pode tornar subjetiva a avaliação da contagem de eosinófilos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o perfil hematológico de animais naturalmente infectados por *Trypanossoma vivax*, apresenta variações discretas nos perfis séricos se comparados com aqueles infectados experimentalmente, possivelmente pela dose de inoculação da amostra experimental ser maior, estimulando uma resposta imunitária mais evidente. A morbidade dos animais no presente estudo foi relativamente baixa, sendo a tripanossomíase o agente secundário das alterações clínicas e laboratoriais dos animais.

REFERÊNCIAS

- COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.
- cruzados nascidos em clima subtropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 1146-1153, 2006.
- CURRASON, L. **Traité de protozoologie vétérinaire et comparée**. Paris: Vigot Frétes, 1943.
- ESPINOSA, E.; ASO, P. M. Valores hematológicos de bovinos infectados experimentalmente com um aislado venezolano de *Trypanosoma vivax*. Parte II. Leucócitos. **Revista de Salud Animal**, La Habana, v. 14, p. 41-49, 1992.
- FINELLE, P. African animal trypanosomiasis: part IV. Economic problems. **Wildlife Animal Review**, v. 110, p. 15-18, 1974.
- HOARE, C. A. **The trypanosomes of mamals**. Oxford: Blackwell, 1972. 749p.
- HOLWIL, M. G. Deformation of erythrocytes by trypanosomes. **Experimental Cell Research**, New York, v. 37, p. 306-311, 1965.
- ILRAD. Anaemia in trypanosomiasis haemorrhagic. **ILRAD Reports**, Nairobi, v. 2, n. 4, 1984.
- LEGER, M.; VIENNE, M. Epizootie a trypanosomes chez les bovines de la Guyane Française. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, Paris, v. 12, p. 258-266, 1919.
- LOSOS, G. J.; IKEDE, B. O. Review of pathology of diseases in domestic and laboratory animals caused by *Trypanosoma congolense*, *T. vivax*, *T. brucei*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. **Veterinary Pathology**, Baltimore, v. 9, p. 1-71, 1972.

PAIVA F, LEMOS RAA, NAKASATO L, MORI AE, BRUM KB, BERNARDO KC
Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil: I – Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 22, p. 135-141, 2000.

RIBEIRO, A. R. B, et al.; Avaliação das respostas fisiológicas de bezerros zebuínos puros e

SCHENK, M. A. M. et al. Avaliação clínico-laboratorial de bovinos Nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, p. 157-161, 2001.

STATSOFT. South America Statistica livro base, São Caetano do Sul, 2003, 142p.

TAMASAUKAS, R.; AGUIRRE, A.; RON, J.; ROA, N.; COBO, M. Tetralogia hemoparasitaria en algunas fincas bovinas del municipio Santa Rita, estado Guárico, Venezuela. **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias. UCV**, Maracay, v. 41, n. 4, p. 101-108, 2000.

THRALL, M .A. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. São Paulo: Roca, 2006, 582p.

TRAIL, J. C. M.; et al. Measurement of trypanotolerance criteria and their effect on reproductive performance of N'Dama cattle. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 45, p. 241-255, 1993.

WHITELAW, D. D. Immunosuppression in bovine trypanosomiasis: Studies with louping-ill vaccine. **Research in Veterinary Science**, London, v. 26, p. 10-107, 1979.

INFLUÊNCIA DE PARASITAS GASTROINTESTINAIS NO GANHO DE PESOS DE BEZERROS NELORE LEMGRUBER NA FASE DE RECRIA

Juliano Bergamo Ronda¹, Marcus Vinícius Caetano¹, João Cláudio do Carmo Panetto², Eustáquio Resende Bittar², Joely Ferreira Figueiredo Bittar², Gabriela de Godoy Cravo Arduino², Wanderson Adriano Biscola Pereira²

1. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Uberaba
2. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina, Universidade de Uberaba, Av. Nenê Sabino, 1801, 38055-500, Uberaba, Minas Gerais, Brasil.
E-mail: joely.bittar@uniube.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, nematóides, vermifugação.

ABSTRACT

INFLUENCE OF GASTROINTESTINAL PARASITES ON WEIGHT GAIN OF NELORE CALVES

This study evaluates the influence of endoparasites on the weight gain of Nelore cattle. Samples from 193 calves in the laying period (280 to 600 days of age) were collected from June 2007 to May 2008 and divided into 2 groups: Treatment (T) and Control (C) groups. Animals were assessed for weight gain and endoparasite infestation by fecal egg count (FEC). All calves in Group T had been previously treated with 1% ivermectin and abamectin from 120 to 205 days in the growing period, and at 344 days of age, respectively. Calves in Group C were treated with 1% ivermectin at 205 days of age. In June 2007, the mean daily weight gain (MDWG) and FEC were higher in T than in C. In September 2007, the MDWG was 0,11 kg in T and -0,04 kg in C calves, whereas FEC was 198 and 619 eggs/g, respectively. In January 2008, the MDWG in C was higher than that of T calves, while FEC in Group T increased. These results suggest that cattle's exposure to endoparasites could have stimulated host immune responses strong enough to control gastrointestinal parasitism.

KEYWORDS: Cattle, deworming, nematodes.

INTRODUÇÃO

As infecções por nematóides gastrintestinais causam prejuízos significativos a criação de ruminantes, no que se refere a gastos com medicamentos e queda na produção em infecções subclínicas como redução no ganho de peso e retardo no crescimento (FORBES et

al., 2002, AGUIAR, 2004). Portanto, as endoparasitoses gastrintestinais são um entrave na produção bovina em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais, onde os prejuízos econômicos são mais acentuados (AGUIAR, 2004).

Segundo BIANCHIN (1987) a redução na produção e na produtividade do rebanho de corte se caracteriza principalmente pelo sistema de criação fundamentado em pasto, pois as flutuações estacionais influenciam diretamente a disponibilidade e qualidade da pastagem, bem como o manejo inadequado, a incidência de parasitos e doenças carenciais e minerais.

Nesse sentido, os zebuínos foram considerados como espécie ideal para as atividades de criação em regiões tropicais e subtropicais por apresentarem excelente capacidade de adaptação a altas temperaturas e as forrageiras de baixa qualidade (DOMINGUES, 1974). Dentre os zebuínos o Nelore linhagem Lemgruber vem sendo analisado quanto capacidade de adaptação as parasitoses e a interferência que estas causam no sistema de produção, pois segundo MOTA et al. (2003), as doenças parasitárias podem, forçar a seleção de animais menos susceptíveis aos parasitas em detrimentos da sua performance produtiva.

Baseado nesse comentário o presente trabalho objetivou acompanhar um rebanho bovino da raça Nelore linhagem Lemgruber em fase de recria, para avaliar a influência das endoparasitoses no ganho de peso dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado com 193 animais machos, da raça Nelore de linhagem Lemgruber, em fase de recria (280 – 600 dias) em uma fazenda do município de Uberaba-MG localizada no Km 125 da BR 050 a uma altitude média de 840m. Os animais foram acompanhados durante um ano, em junho/07, setembro/07, janeiro/08 e maio/08, em relação ao ganho de peso médio diário (GMD) e número de ovos por grama de fezes (OPG).

Os animais foram divididos aleatoriamente em grupo tratado (GT) n= 128 e grupo controle (GC) n= 65 seguindo mesmo padrão de peso e idade e submetidos ao mesmo manejo extensivo de pastejo (*Brachiaria decumbens*), mineralização e água *ad libitum*. Antecedendo o início do experimento ainda na fase de cria os animais do GT receberam ivermectina 1% aos 120 e 205 dias e durante o experimento na fase de recria, receberam abamectina aos 344 dias (setembro/07). Já os animais do GC receberam ivermectina 1% somente aos 205 dias.

Para a avaliação do ganho de peso os animais foram pesados em balança eletrônica. A partir da diferença dos pesos obtidos entre uma coleta e outra calculou-se o ganho de peso médio diário (GMD) dividindo a diferença dos pesos pelo número de dias entre as coletas.

Para a contagem de ovos de endoparasitas, as fezes foram coletadas diretamente da ampola retal do animal, no período da manhã, com o auxílio de saco plástico e acondicionado em caixas isotérmicas, com gelo reciclado e encaminhadas para o Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário de Uberaba (HVU). A pesquisa parasitológica foi realizada de acordo com a metodologia descrita por GORDON & WHITLOCK (1939).

As diferenças nos níveis de parasitose e nos ganhos de peso médio diário, entre o GT e GC foram comparadas por meio do teste t de Student para comparação de médias, sendo consideradas significativas as diferenças em que $p < 0.05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No início dos experimentos (junho/07) os animais do GT e GC pesavam em média 226 kg e 216 kg respectivamente, e o ganho de peso médio diário (GMD) dos animais do GT, da desmama até junho foi estatisticamente superior (0,27Kg) ao do GC (-0,01 kg). Esta diferença está relacionada ao fato deles terem recebido vermifugação aos 120 dias, pois segundo CATTO et al., (2005) bezerros vermifugados antes da desmama, aos 3-5 meses de idade, ganharam 4-7 kg a mais do que os não tratados. Portanto, a vermifugação na fase de cria, aos 205 dias, não influenciou no ganho de peso, uma vez que todos os animais receberam ivermectina 1% e mesmo assim diferença de 10 Kg foi observada entre os grupos. Essa diferença pode também ter sido gerada pela qualidade da pastagem uma vez, que nessa época os índices de pluviosidade (0,0 mm) e temperatura mínima (14,2°C) foram muito baixos. Segundo BIANCHIN & CATTO (2008), a diminuição da disponibilidade de pastagem e deficiências de proteínas e minerais levam a queda de imunidade favorecendo o aparecimento de parasitas gastrointestinais.

O OPG do GT (178 ovos/g) foi estatisticamente maior que do GC (86 ovos/g), porém estes valores estão dentro dos níveis aceitáveis sendo que durante o manejo dos animais todos estavam aparentemente bem. Mas segundo BIANCHIN & CATTO (2008) a administração de antihelmínticos pode causar uma supressão temporária da imunidade o que pode justificar essa maior parasitose no GT.

Em setembro os animais do GT e GC pesavam em média 234 kg e 213 kg respectivamente, e o GMD de junho até setembro foi estatisticamente superior no GT (0,11Kg) quando comparado ao GC (-0,04kg). Esse baixo GMD do GC foi devido ao nível estatisticamente superior de Trichostrongilídeos (619 ovos/g) em relação do GT (198 ovos/g), associado à baixa qualidade da pastagem devido à estiagem prolongada no final do período seco (índice pluviométrico: 10 mm e temperatura mínima: 20,8°C). Resultados

semelhantes também foram observados por CATTO et al. (1993) onde o grupo tratado teve aumento significativo no ganho de peso em relação ao grupo controle, no período de seca e logo após o desmane, influenciado diretamente pelo elevado número de ovos/g nos animais do grupo controle.

Nesse mês, após a obtenção das fezes, os animais do GT receberam abamectina via SC independente do resultado do OPG (198 ovos/g).

No mês de janeiro/08 os animais do GT e GC pesavam em média 283 kg e 277 kg e tiveram respectivamente GMD de 0,37 kg e 0,46 kg. O GMD estatisticamente superior do GC foi um ganho compensatório devido à melhora da qualidade da pastagem, visto que o índice pluviométrico do mês foi de 304,5 mm.

Em relação às endoparasitoses pode-se observar aumento da média do número de ovos/g no GT (272 ovos/g) e diminuição no GC (562 ovos/g). A média de OPG do GC ainda era estatisticamente superior a do GT. O aumento de OPG observado no GT permite inferir que o tratamento com abamectina no mês de setembro não promoveu efeito no controle das parasitoses. Segundo SELFERT (1971) respostas significativas aos tratamentos anti-helmínticos ocorrem quando as condições nutricionais das pastagens são pobres. Nesse momento como citado anteriormente as condições ambientais (temperatura máxima: 26,7°C) e de pastejo estavam favoráveis.

No último momento dos experimentos (maio/08), os animais do GT e GC pesavam em média 359 kg e 353 kg e tiveram GMD respectivamente de 0,66 kg e 0,68 kg. Apesar do GMD não diferir estatisticamente entre os grupos pode-se notar que o GMD dos GT e GC foi superior aos outros momentos provavelmente devido à qualidade das pastagens, que foi favorecida pelo elevado índice pluviométrico acumulado de janeiro a maio (1425 mm).

Embora o OPG tender a diminuir nos animais à medida que se tornam adultos, pois segundo BIANHIN et al. (1995) e CATTO et al. (2008) os animais adquirem imunidade ao redor dos 18 meses de idade, pode-se notar aumento da média de OPG no GT (574 ovos/g) e redução no GC (190 ovos/g) isso permite inferir que a exposição dos animais do GC aos endoparasitas pode ter estimulado o desenvolvimento de resposta imune suficiente para controlar os níveis de parasitos gastrointestinais, enquanto, que o uso de anti-helmínticos, sem critério, não permitiu o desenvolvimento de imunidade pelos animais do GT. O que mostra a necessidade de vermifugações estratégicas ou mesmo o acompanhamento dos níveis de parasitos gastrointestinais pelo OPG no controle das parasitoses. Resultados significativos no ganho de peso, com dosificações estratégicas, em animais desmamados acompanhados por

um ano, foram obtidos por MÉLO (1977) e MELO & BIANCHIN (1979), no Mato Grosso do Sul.

CONCLUSÕES

A vermifugação aos 120 dias permitiu a entrada de animais mais pesados na fase de recria e a vermifugação aos 344 dias não interferiu no GMD dos animais.

Os animais do GC apesar de sofrerem com a parasitose durante a estação seca, na estação chuvosa subsequente passam a ter um ganho de peso compensatório mesmo quando não vermifugados durante a fase de cria.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, D. M.; et al. Eficácia de ivermectina 3,5% injetável contra infecção natural por nematóides gastrintestinais em bezerros. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, p. 1-749, 2004.

BIANCHIN, I. Controles estratégicos dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte no Brasil. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 39, p. 49-53, 1987.

BIANCHIN, I.; CATTO, J. B. Epidemiologia e alternativas de controle de helmintos em bovinos de corte na região central do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 15.; SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA DOS PAÍSES DO MERCOSUL, 2., 2008., Curitiba. **Programa & Resumos**. Jaboticabal: CBPV, 2008. 24 p. Palestras - Helmintos. Retirado do exemplar em CD-ROM.

BIANCHIN, I.; HONER, M. R.; NUNES, S.; NASCIMENTO, Y. A. The effect of stocking rates and treatment schemes on the weight gain of weaned Nellore steers in the Brazilian savanna. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 27, p. 1-8, 1995.

CATTO, J. B., BIANCHIN, I., TORRES JUNIOR, R.A.A. Effects of deworming of cow-calf beef herds in brazilian savannas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 188-194, 2005.

CATTO, J. B.; BARROS, A. T. M.; COSTA, C. A. F. Efeito de tratamento antihelmíntico no ganho de peso de bezerros desmamados, criados em pastagens nativas, no pantanal mato grossense, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 127-132, 1993.

CATTO, J. B.; BIANCHIN, I.; SANTURIO, J. M.; FEIJÓ, G. L. D.; KICHEL, A. N.; SILVA, J. M. Sistema de pastejo, rotenona e controle de parasitas: Efeito sobre o ganho de

peso e nível de parasitismo em bovinos cruzados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 2008, No Prelo.

DOMINGUES, O. **O Zebu, sua reprodução e multiplicação dirigida**. 3.ed. São Paulo: Nobel, 1974.

FORBES, A. B.; et al. Sub-clinical parasitism in spring-born, beef suckler calves: epidemiology and impact on growth performance during the first grazing season. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 104, p. 339-344, 2002.

GORDON, H. M., WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, Melbourne, v. 12, p. 50-52, 1939.

MELO, H. J. H. Efeito de diferentes esquemas de tratamento anti-helmíntico, no ganho de peso de bezerros desmamados e criados extensivamente em pastagens de Jaraguá. **Arquivos Escola Veterinária UFMG**, Belo Horizonte, v. 19, n.3, p. 267-277, 1977.

MELO, H. J. H.; BIANCHIN, I. Efeito de diferentes esquemas de tratamentos anti-helmínticos no ganho de peso de bezerros Nelore desmamados. Campo Grande, MS., EMBRAPA- CNPGC, **Comunicado Técnico 4**, EMBRAPA- CNPGC 1979, 4p.

MOTA, M. A.; et al. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 93-100, 2003.

SEIFERT, G. W. Ecto and endoparasitic effects on the growth rates of Zebu crossbred and British cattle in the field. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 22, p. 839-850, 1971.

COMPORTAMENTO DA EXCREÇÃO DE OOCISTOS DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. E DE CISTOS DE *GIARDIA* SPP. EM BEZERROS INFECTADOS NATURALMENTE

Laís Bitencourt Guimarães¹, Elias Jorge Facury Filho², Antonio Último de Carvalho², Paulo Marcos Ferreira², Múcio Flávio Barbosa Ribeiro³, Marina Guimarães Ferreira⁴, Moisés Dias Freitas⁴

1. Estudante da Escola de Veterinária, da Universidade Federal de Minas Gerais – Bolsista do Setor de Clínica de Ruminantes. E-mail: lais_pomps@hotmail.com (autor correspondente)
2. Médico Veterinário, Dr., professor da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.
3. Médico Veterinário, Dr., professor do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.
4. Médico (a) Veterinário (a), aluno (a) de doutorado em Ciência Animal, Escola de Veterinária, da Universidade Federal de Minas Gerais.

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, diarreia, patógenos intestinais.

ABSTRACT

EXCRETION DYNAMICS OF *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. OOCYSTS AND *GIARDIA* SPP. CYSTS IN NATURALLY INFECTED CALVES

This study assesses the elimination of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts from confined calves that were naturally infected and observes how their excretion relates to diarrhea episodes. Faeces samples were collected daily from ten Holstein calves from week 1 to 60 days old and every week until they were 100 days old. Sample analysis allowed both visualization and quantification of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts. Research findings revealed that the removal of *Cryptosporidium* spp. oocysts occurred from 6th to 12th day of life and lasted from 3 to 8 days. Most calves eliminated oocysts after 6 days, whereas *Giardia* spp. cysts presented intermittent excretion patterns after 17 days which continued until the last collection period.

KEYWORDS: Bovine, diarrhea, intestinal pathogens.

INTRODUÇÃO

A diarreia de bezerros é um frequente problema na criação de bovinos, e causa grandes perdas econômicas (ÇABALAR et al., 2001). Dentre os microrganismos envolvidos, destaca-se o *Cryptosporidium* spp., relacionado com a doença nas primeiras semanas de vida podendo estar associado com *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. (BJORKMAN et al., 2003).

A criptosporidiose afeta animais com aproximadamente duas semanas de vida através da ingestão de oocistos infectantes do parasito no ambiente. Há indícios de que esta ingestão ocorra logo nas primeiras horas após o nascimento dos animais pelo contato direto com fezes de animais infectados. Após a ingestão, os oocistos se rompem no intestino delgado liberando quatro esporozoítos que se aderem à membrana celular dos enterócitos, ficando intracelular e extracitoplasmáticos (FAYER et al., 1997). Ocorre inflamação, atrofia das vilosidades intestinais com conseqüente hipersecreção, e síndrome da má absorção e má digestão (ARGENZIO, 1985). O ciclo desde a ingestão até a eliminação de oocistos esporulados varia de 2 a 7 dias (KIRKPATRICK, 1985).

Outro possível agente relacionado com a ocorrência de diarreia nos animais é *Giardia* spp., embora existam poucos relatos na literatura. Sua transmissão é principalmente através de água contaminada com cistos do parasito. Estes são eliminados nas fezes dos animais já em sua forma infectante e após sua ingestão são liberados dois trofozoítos que se ligam à membrana dos enterócitos da parte proximal do intestino delgado. O contato do trofozoíto com a bile faz com que haja novo encistamento e liberação de novos cistos infectantes no ambiente, sendo o ciclo completado em 72hs (GEURDEN et al., 2006).

Tanto a criptosporidiose quanto a giardíase possuem potencial zoonótico na ocorrência de distúrbios entéricos em humanos (GARCIA et al., 2000; GEURDEN et al., 2006), sendo necessário maiores estudos sobre a frequência destas infecções nos animais.

As enterites infecciosas são muito frequentes em rebanhos brasileiros. Este trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento da eliminação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. relacionando essa eliminação com a ocorrência de diarreia em bezerros confinados.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais, local e período:

O experimento foi realizado na escola de Veterinária da UFMG, em Belo Horizonte nos meses de novembro de 2008 a fevereiro de 2009.

Foram utilizados 10 bezerros holandeses, nascidos em uma fazenda comercial próxima a Belo Horizonte e transferidos para o Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da UFMG (HV) nos primeiros dias de vida. Os bezerros nasceram em piquete maternidade com piso de terra e alta densidade de vacas. Foram separados da mãe imediatamente após o parto, receberam a cura de umbigo com tintura de iodo e a colostragem foi realizada com colostro descongelado, com qualidade intermediária, num volume de 4 litros até duas horas após o nascimento e mais 2 litros 12 horas após.

No HV, os animais foram mantidos em confinamento, no galpão de ruminantes, em sistema de *tie stall*, alimentados com leite em pó reconstituído até 45 dias e ração e feno a partir de uma semana de idade.

Os animais foram banhados semanalmente com cipermetrina para prevenir a infestação por carrapatos e moscas, e foram submetidos a monitoramento clínico diário para diagnóstico precoce de enfermidades frequentes nesta fase, como diarreia e pneumonia. Os animais com diarreia foram tratados com fluidoterapia oral durante todo o período da enfermidade. Aqueles com pneumonia foram medicados com antibiótico.

Acompanhamento clínico e laboratorial:

Diariamente a partir da chegada dos animais ao HV, foi realizado exame físico dos bezerros, cujos resultados foram anotados em fichas próprias e coleta de fezes diretamente da ampola retal em sacos plásticos identificados. Dessas amostras eram retiradas 5 gramas de fezes que foram conservadas com a adição de 10 ml de formalina 10%.

A pesquisa dos parasitas foi realizada pela técnica de Centrífugo - Sedimentação pela Formalina-Éter (RTCHIE, 1948; citado por UENO & GONCALVES, 1998), para visualização de oocistos de *Cryptosporidium* spp e cistos de *Giardia* spp.

As lâminas para visualização de oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram coradas pelo método de Ziehl-Nielsen modificado utilizando corantes prontos (Newprov) a base de fucsina, álcool-ácido e azul de metileno. As lâminas foram secas em temperatura ambiente e observadas ao microscópio. Foram observados 40 campos em cada lâmina e considerada a média de oocistos por campo para classificá-la nos seguintes escores: 0, ausência de oocistos; 1, menos que 1 oocisto; 2, de 1 a 5 oocistos; 3, de 6 a 10 oocistos; 4, de 11 a 20 oocistos e 5,

mais do que vinte oocistos. Foram observados 100 campos para considerar a amostra negativa.

A visualização de cistos de *Giardia* spp. foi feita pelo método direto com coloração por lugol. A contagem de cistos foi realizada observando-se toda a lamínula e feita a média de cistos por campo, a partir da qual a amostra foi classificada em escores: 0, ausência de cisto; 1, de 0 a 2 cistos; 2, de 2 a 5 cistos e 3 mais de 5 cistos por campo.

Este acompanhamento foi realizado diariamente até que os animais completassem 60 dias de vida, após isso foram coletadas amostras semanalmente até que os animais completassem 100 dias de vida.

Análise estatística:

Os dados foram submetidos à análise descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental a incidência de infecção por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. nos 10 bezerros foi de 100%, não sendo observados oocistos de *Eimeria* spp. nos exames realizados.

A eliminação mais precoce de oocistos de *Cryptosporidium* spp. teve início aos seis dias de vida, com média de 8,8 dias e a mais tardia aos 12 dias, sendo que a maior parte dos animais começou a eliminar oocistos ao 9º dia de vida. Esta eliminação durou em média 5,5 dias, variando 3 a 8 dias, sendo que a maior parte dos bezerros eliminou oocistos durante 6 dias. O tempo de eliminação coincide com o encontrado na literatura, de 1 a 12 dias (FAYER et al., 1997). O pico da eliminação foi em média dos 10 aos 11 dias. Houve quatro recidivas que ocorreram dos 43 aos 54 dias dos animais.

A eliminação de cistos de *Giardia* spp. teve início desde o 17º dia no animal mais precoce até o 25º no mais tardio, sendo que esta eliminação foi intermitente e presente em três animais até a última amostra coletada (90-100 dias de idade). A duração da eliminação foi em média 29 dias divididos em três períodos, houve variação entre 2 a 44 dias de eliminação, alguns animais eliminaram cistos em um único longo período e outros eliminaram de forma intermitente chegando a oito períodos distintos de eliminação.

O início da eliminação de cistos de *Giardia* spp. aos 17 dias indica que a infecção dos animais aconteceu no período em que eles já se encontravam no HV, já que o período pré patente descrito na literatura para o parasito é de três a 10 dias (GEURDEN et al., 2006). Já o início da eliminação de *Cryptosporidium* spp aos seis dias de vida indica que os animais

foram infectados ainda na fazenda, já que o período pré patente descrito para o *Cryptosporidium* spp é de dois a sete dias (KIRKPATRICK, 1985).

Todos os animais apresentaram diarreia, sendo que esta teve início do sétimo ao 15º dia de vida, o que descarta a possibilidade de infecção por *Escherichia coli* enterotoxigênica, já que este agente causa infecção em animais recém nascidos de até três dias de idade (RADOSTITS et al., 2007). Embora neste trabalho não tenha sido realizado o isolamento viral, a literatura sugere que a associação entre *Rotavirus* e *Cryptosporidium* spp. seja umas das associações mais importantes para a patogenia de diarreia neonatal de bezerros, podendo agravar o quadro clínico do animal e o prognóstico em infecções mistas (GRAAF et al., 1999). É sugestivo que a diarreia foi causada pelo *Cryptosporidium* spp. com possível associação ao *Rotavírus*. A eliminação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. sempre foi acompanhada por diarreia contínua. Ao final da eliminação dos oocistos a diarreia passou a intermitente, na maior parte dos animais, ou contínua, perdurando por longo período, o que é sugestivo que sua posterior causa seja a infecção por *Giardia* spp.

CONCLUSÃO

A incidência dos patógenos *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. foi de 100%, demonstrando a importância destes agentes na etiologia das diarreias de bezerros jovens. No entanto, é pertinente maiores estudos a respeito da giardíase para elucidar a importância deste patógeno na ocorrência da diarreia nessa categoria animal.

REFERÊNCIAS

- ARGENZIO, R. A. Pathophysiology of neonatal calf diarrhea. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 1, n. 3, p. 461-469, 1985.
- BJORKMAN, C.; SVENSSON, C; CHRISTENSSON, B.; et al. *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhea in Sweden. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 44, n. 3, p. 145-152, 2003.
- ÇABALAR, M.; BOYNUKARA, B.; GÜLHAN, T. et al. Prevalence of rotavirus, *Escherichia coli* k99 and O157: H7 in health dairy cattle herds in Van, Turkey. **Turkey Journal Veterinary Animal Science**, v. 25, n. 1, p. 191-196, 2001.
- FAYER, R.; SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. **Cryptosporidium and cryptosporidiosis** CRC Press, Inc. p.1-239, 1997.

FEITOSA, F. L. F; SHIMAMURA, G. M; et al. Importância de *Cryptosporidium spp.* como causa de diarreia em bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n.10, p. 452-456, 2008.

GARCÍA, A.; RUIZ-SANTA-QUITERIA, J. A.; ORDEN, J. A. et al. Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 23, n. 1, p.175-183, 2000.

GEURDEN, T., CLAEREBOU, E., DURSIN, L., DEFLANDRE, A., BERNAY, F., KALTSATOS, V., VERCROYSSSE, J. The efficacy of an oral treatment with paromomycin against an experimental infection with *Giardia* in calves. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 135, p. 241-247, 2006.

GRAAF, D. C.; VANOPDENBOSCH, E.; ORTEGA-MORA, L. M. et al. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 1, p. 1269-1287, 1999.

KIRKPATRICK, C. E. *Cryptosporidium* infection as a cause of calf diarrhea. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 1, n. 3, p. 515-528, 1985.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed. Philadelphia: Elsevier, 2007, 2156p.

TZIPORI, S.; CAMPBELL, I.; SHERWOOD, D. et al. An outbreak of calf diarrhea attributed to cryptosporidial infection. **Veterinary Record**, London, n. 107, p. 579-580, 1980.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4.ed. Tokio: Japan International Cooperation Agency, 1998. p.14-28.

ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DA INFECÇÃO NATURAL EM BOVINOS LEITEIROS POR *Trypanosoma vivax* EM MINAS GERAIS, BRASIL

Diana Cuglovici Abrão¹, Antônio Último de Carvalho², Elias Jorge Facury Filho², Daniella Castanheira Bartholomeu³, Múcio Flávio Barbosa Ribeiro⁴

1. Médica veterinária, doutoranda do curso de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

2. Médicos veterinários, doutores, professores do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Escola de Veterinária (EV) da UFMG

3. Bióloga, doutora, professora do Departamento de Parasitologia do ICB da UFMG

4. Médico veterinário, doutor, professor do Departamento de Parasitologia do ICB da UFMG.
E-mail: mucioobr@icb.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Sintomatologia, surto, tripanosomíase.

ABSTRACT

CLINICAL AND PATHOLOGICAL SIGNS OF NATURAL INFECTION BY *TRYPANOSOMA VIVAX* IN DAIRY CATTLE FROM MINAS GERAIS, BRAZIL

An outbreak of trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* was reported in 2008 in a dairy cattle farm located in the municipality of Igarapé, Minas Gerais. The clinical signs and pathology of the disease were studied from September 2007 to October 2008. *T. vivax* was identified by Woo test and allele-specific polymerase chain reaction test (AS-PCR). The affected animals presented fever, pale mucous, anemia, anorexia, palpable lymph nodes increased in size, high respiratory and heart rates, apathy, progressive weight loss, and abortion. One cow showed signs of a nervous system disorder. Necropsy findings revealed enlarged lymph nodes, liver, spleen and gallbladder, splenic lymphoid hyperplasia with prominence of white pulp, and multifocal random hepatic necrosis accompanied by a moderate inflammatory cell infiltrate. Myocarditis and pericarditis were the main histological findings. Treatment with diminazene aceturate was not efficient due to unsuccessful parasite clearance. Furthermore, clinical manifestations did not disappear after the beginning of the outbreak. Clinical, haematological and pathological changes in cattle naturally infected by *T. vivax* confirm the pathogenicity of the isolated strains in the region.

KEYWORDS: Bovine, clinical signs, outbreak, trypanosomiasis.

INTRODUÇÃO

No Oeste da África, *Trypanosoma vivax* é considerado o mais patogênico e importante tripanosoma de bovinos. Na América do Sul, as formas sangüíneas são transmitidas diretamente do hospedeiro mamífero ao outro pela picada de insetos hematófagos ou por fômites (SILVA et al., 2002). Os bovinos com alta parasitemia apresentam febre, anemia, leucopenia, hipoglicemia e alta atividade sérica de AST (BATISTA et al., 2007). Ao exame de esfregaços sangüíneos corados com Giemsa observa-se anisocitose, policromasia e presença de corpos Howell–Jolly. No exame de microhematócrito e contagem em câmara de Neubauer, verifica-se acentuada queda nos valores de células vermelhas – indicativos da anemia (SILVA et al., 1999). BATISTA et al. (2006), realizando-se infecção experimental de ovinos com *T. vivax* isolado de bovinos naturalmente infectados da Paraíba, tiveram como principais achados de necropsia linfadenopatia, hepatomegalia e presença de líquido nas cavidades peritoneal e pericárdica. Avaliando-se dois surtos por *T. vivax* ocorridos em bovinos provenientes do alto sertão da Paraíba, BATISTA et al. (2008) encontraram os mesmos achados macroscópicos descritos anteriormente, além de hidropericárdio e presença de petéquias e equimoses no pericárdio. Os principais sinais clínicos encontrados em estudo conduzido por SILVA et al. (1999) na região do Pantanal brasileiro e planícies da Bolívia foram lacrimejamento, palidez das mucosas, perda progressiva de peso, inapetência, diarreia e aborto durante o terceiro trimestre de gestação. Em 2007, BATISTA et al. descreveram sintomatologia nervosa em nove vacas provenientes do semi-árido da Paraíba, onde havia ocorrido um surto de tripanossomíase por *T. vivax* no ano de 2002. Ao exame histológico, estes animais apresentaram meningoencefalite e malácia, resultantes de lesões inflamatórias e degenerativas no cérebro, causadas pelo parasito.

Em 2008, CARVALHO et al. relataram um surto de *T. vivax* em bovinos leiteiros no município de Igarapé, região central do estado de Minas Gerais. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar os aspectos clínicos e patológicos associados a esta tripanossomíase no rebanho.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado durante o período de setembro de 2007 a outubro de 2008. O rebanho leiteiro, localizado no município de Igarapé, MG, é constituído de 235 bovinos das raças Gir, Holandês e Girolando, dos quais 63 são vacas em lactação, 13 vacas secas, 64 novilhas, 28 novilhos, 66 vacas de corte (as quais não usadas para reprodução) e um touro de repasse. Das vacas em lactação ou secas foram colhidas, por punção da veia caudal, amostras

sanguíneas em tubos contendo anticoagulante EDTA nos meses de setembro de 2007, fevereiro, junho, agosto e outubro de 2008.

As amostras de sangue foram utilizadas para diagnóstico parasitológico, por meio da técnica de Woo (WOO, 1970), confecção de esfregaços sanguíneos e determinação do volume globular (VG). A confirmação do diagnóstico parasitológico foi feita utilizando-se uma reação em cadeia da polimerase (PCR) *T. vivax*-específica (VENTURA et al., 2001). Durante o período experimental, todos os animais que demonstraram sintomatologia clínica da doença ou apresentaram resultado positivo ao exame parasitológico, foram tratados com aceturato de diminazene (Ganaseg plus® Novartis), seguindo a posologia recomendada pelo fabricante. Os animais que morreram neste período foram necropsiados e os achados patológicos foram registrados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental, 25 animais apresentaram parasitemia patente por *T. vivax* segundo a técnica de Woo. Todas as amostras positivas ao teste de Woo também estavam positivas na PCR. Os valores de VG dos animais, no decorrer do período experimental, variaram de 11 a 38% (média $29,1 \pm 3,64\%$), com associação de valores mais baixos ($VG \leq 24\%$) e animais positivos parasitologicamente ($p < 0,0001$). Nas vacas diagnosticadas clinicamente com infecção por *T. vivax*, a anemia foi a manifestação mais freqüente, fato também observado em animais infectados natural ou experimentalmente por *T. vivax* em diversos trabalhos (SILVA et al., 1999; PAIVA et al., 2000; BATISTA et al., 2006). O tratamento com aceturato de diminazene não foi eficaz a ponto de eliminar a doença do rebanho e, tampouco, de impedir que novos animais se infectassem. Considerando-se uma média de 70 animais avaliados em cada coleta realizada, durante o período experimental, a morbidade causada por *T. vivax* no rebanho foi de 65,7% (46 vacas com sintomatologia clínica em 70 avaliadas), letalidade de 30,43% (14 óbitos em 46 doentes), e mortalidade de 20% (14 mortes em 70 vacas avaliadas).

Apesar da infecção não gerar sinais patognomônicos, de modo geral, os animais apresentaram anemia, febre, mucosas pálidas, anorexia, linfonodos palpáveis aumentados, freqüências respiratória e cardíaca aumentadas, apatia e emagrecimento progressivo, concordando com os achados de diversos estudos (SILVA et al., 1999; PAIVA et al., 2000; LINHARES et al., 2006; BATISTA et al., 2008). Neste mesmo período, quatorze vacas abortaram e dois bezerros nasceram mortos. No Brasil, casos de desordens reprodutivas como estas também foram relatadas no Pantanal do Mato Grosso (SILVA et al., 2004) e na Paraíba

(BATISTA et al., 2007). SILVA et al. (2004) relatam, ainda, que anemia acompanhada de aborto no terço final da gestação é um sinal clínico característico da tripanossomíase bovina no Pantanal e na Bolívia.

Entre quatro e cinco dias após o início dos sintomas, alguns animais permaneciam em decúbito esternal e vinham a óbito. Uma vaca apresentou sintomatologia nervosa (salivação excessiva, incoordenação motora e tremores musculares), permaneceu em decúbito lateral e teve que ser sacrificada. Em estudo realizado por BATISTA et al. (2007) na Paraíba, nove vacas apresentaram sinais nervosos decorrentes de infecção por *T. vivax* e vieram a óbito, mesmo após o tratamento com aceturato de diminazene. As lesões nervosas causadas durante a infecção por tripanosomas têm sido associadas à presença destes parasitos em tecidos e fluidos cerebrospinais, às alterações circulatórias provocadas pela formação de êmbolos, à reações auto-imunes ocorridas no cérebro e apoptose de células endoteliais dos vasos do cérebro e cerebelo (STILES et al., 2004). Ao exame das lâminas de esfregaço sanguíneo dos animais positivos no teste de Woo, observaram-se formas tripomastigotas de *T. vivax* características. Em diversas lâminas também pôde ser verificada anisocitose, policromasia e presença de corpos de Howell-Jolly, que são resultantes de mudanças regenerativas que ocorrem para compensar a perda de eritrócitos durante a infecção. Tais achados, indicativos de anemia, também foram observados por outros autores (SILVA et al., 1999; PAIVA et al., 2000; BATISTA et al., 2007).

Das quatorze vacas que vieram a óbito, quatro foram necropsiadas. Os principais achados macroscópicos observados foram: palidez de carcaça, líquido ascítico, linfonodos e hemolinfóides aumentados e edematosos com múltiplos pontos brancacentos circulares na região cortical (hiperplasia de folículo linfóide), hemorragias multifocais em diversos órgãos, tais como coração, fígado, baço e bexiga. Hepato e esplenomegalia, fígado com áreas de necrose em aspecto de “noz moscada” e vesícula biliar de tamanho aumentado também puderam ser observados. Um animal apresentou, ainda, edema alveolar com áreas de aderência do pulmão na cavidade torácica, possivelmente devido ao distúrbio hemodinâmico decorrente da anemia hemolítica. Miocardite e pericardite foram os principais achados histológicos, tendo sido encontrados intensos infiltrados multifocais de células mononucleares no interstício e no pericárdio. De modo geral, os achados microscópicos foram linfonodos com hiperplasia moderada a intensa dos folículos linfóides e aumento da celularidade da região medular por linfócitos e histiócitos. Também se observou fígado com áreas multifocais aleatórias de necrose e infiltrado inflamatório moderado, constituído por linfócitos, histiócitos, neutrófilos e raras células gigantes multifocais. Presença de trombos e marginação

de linfócitos e histiócitos, dilatação de sinusóides e arteríola centro-lobular. No interior de alguns vasos foram encontradas algumas estruturas filiformes fragmentadas, sugestivas do parasito. Os hepatócitos apresentavam degeneração vacuolar multifocal moderada. No baço, observou-se hiperplasia de polpa branca e áreas multifocais de necrose e, no coração, foram encontradas áreas multifocais de hemorragias discretas. Um animal apresentou rim com congestão difusa moderada mais intensa na região medular, com infiltrado inflamatório linfocitário multifocal moderado, principalmente perivascular e peri-glomerular, e presença de trombos multifocais discretos, sugestivo de um quadro de nefrite intersticial multifocal moderada. Dos exames histopatológicos, pôde-se concluir que os animais sofreram de hepatite piogranulomatosa necrotizante multifocal, hiperplasia de folículo linfóide intensa e baço com hiperplasia de polpa branca com necroses multifocais. Os achados de necropsia, de modo geral, assemelham-se aos encontrados por BATISTA et al. (2006) em infecção experimental de ovinos e BATISTA et al. (2008), em bovinos naturalmente infectados por *T. vivax*, tendo sido a miocardite e linfadenopatia os principais achados destes estudos. Segundo KIMETO et al. (1990), a severidade das lesões inflamatórias no coração está relacionada com a localização extravascular do parasito.

CONCLUSÃO

As alterações clínicas, hematológicas e anatomopatológicas encontradas nos bovinos naturalmente infectados por *T. vivax* confirmam a patogenicidade do isolado de Igarapé, MG.

REFERÊNCIAS

- BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; CARVALHO, J. R. G.; NETO, A. M. R.; PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 63-69, 2008.
- BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA, R. C.; GUERRA, J. L. Infecção experimental por *Trypanosoma vivax* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p. 31-37, 2006.
- BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M. G.; MADRUGA, C. R.; SIMÕES, S. D. V.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 143, p. 174-181, 2007.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.

KIMETO, B. A.; MUGERA, G. M.; NYAGA, P. N. Haemorrhagic pancarditis in cattle infected with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 34, p. 295-301, 1990.

LINHARES, G. F. C.; FILHO, F. C. D.; FERNANDES, P. R.; DUARTE, S. C. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins: relato de caso. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 4, p. 455-460, 2006.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO L.; MORI, A. E.; BRUM, K. B.; BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I- Acompanhamento clínico, laboratorial e anátomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 135-141, 2000.

SILVA, R. A. M. S.; PELLEGRIM, A. O.; LIMA, E. S. S.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. **Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-Grossense e Bolívia**. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Corumbá, Brasil, Dez. 2004. ISSN 1517-1981.

SILVA, R. A. M. S.; RAMIREZ, L.; SOUZA, S. S.; ORTIZ, A. G.; PEREIRA, S. R.; DÁVILA, A. M. R. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian wetlands. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 85, p. 87–93, 1999.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* – Biologia, diagnóstico e controle**. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Corumbá, Brasil, 2002. 140 p.

STILES, J. K.; WHITTAKER, J.; SARFO, Y. B.; THOMPSON, W. E.; POWELL, M. D.; BOND, V. C. Trypanosome apoptotic factor mediates apoptosis in human brain vascular endothelial cells. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 133, p. 229–240, 2004.

VENTURA, R. M.; PAIVA, F.; SILVA, R. A. M. S.; TAKEDA, G. F.; BUCK, G. A.; TEIXEIRA, M. M. G. *Trypanosoma vivax*: Characterization of the spliced-leader gene of a brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic spacer sequence. **Experimental Parasitology**, San Diego, v. 99, p. 37–48, 2001.

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomosis. **Acta Tropica**, Basel, v. 27, p. 384–386, 1970.

IMPACTO ECONÔMICO CAUSADO POR *Trypanosoma vivax* EM REBANHO BOVINO LEITEIRO NO ESTADO DE MINAS GERAIS

Diana Cuglovici Abrão¹, Antônio Último de Carvalho², Elias Jorge Facury Filho², Helton
Mattana Saturnino³, Múcio Flávio Barbosa Ribeiro⁴

1. Médica veterinária, doutoranda do curso de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)
 2. Médicos veterinários, doutores, professores do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Escola de Veterinária (EV) da UFMG
 3. Médico veterinário, doutor, professor do Departamento de Zootecnia/Produção Animal da EV da UFMG
 4. Médico veterinário, doutor, professor do Departamento de Parasitologia do ICB da UFMG.
- E-mail: mucioabr@icb.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Doença parasitária, produção leiteira, tripanossomíase.

ABSTRACT

ECONOMIC IMPACT CAUSED BY *TRYPANOSOMA VIVAX* IN DAIRY CATTLE HERDS IN MINAS GERAIS

In 2008, the first case of *Trypanosoma vivax* infection in a dairy cattle herd was reported in Minas Gerais. Therefore, this study estimates the financial impact of bovine trypanosomiasis by comparing productive and reproductive data before and after the start of the outbreak. During this period, 9 deaths and 11 abortions were recorded, as well as a 27% and 45% decrease in milk production and pregnancy rate, respectively. Many animals were discarded. Costs of treatment with diminazene aceturate was R\$800 in 2007 and R\$5,600 in 2008 (R\$19,87 per treatment). Furthermore, profits were reduced and there was a large drop in peak milk production of lactating cows. Results suggest that trypanosomiasis caused by *T. vivax* was a constraint on cattle production.

KEYWORDS: Bovine, milk production, trypanosomiasis.

INTRODUÇÃO

Na América do Sul, as tripanossomíases em animais domésticos são causadas pelo *Trypanosoma cruzi*, *T. theileri*, *T. equiperdum*, *T. evansi* e *T. vivax*, sendo os três últimos os mais patogênicos e de maior importância veterinária. Nos rebanhos da África sub-Saariana, a

tripanossomíase é considerada a doença que causa maior perda na produtividade do rebanho, o mesmo ocorrendo em outras partes do mundo (MADRUGA, 1964; TAYLOR & MERTENS, 1999). Os impactos econômicos causados por *T. vivax* na produção se devem ao amplo espectro de vetores e hospedeiros susceptíveis e à imunodeficiência dos animais, em sua maioria subnutrida (GARCÍA et al., 2006). Os sinais clínicos incluem perda progressiva de peso, queda de fertilidade e produção de carne, aborto, agalaxia e, eventualmente, morte (DELAFOSSÉ et al., 2006). O *T. vivax* também deve ser considerado um causador de danos reprodutivos em bovinos e ovinos (SEIDL et al., 1999; SILVA et al., 2004; BATISTA et al., 2008). Nos machos, as alterações acarretam a perda de libido, retardamento da puberdade e má qualidade do sêmen. Nas fêmeas pode ocorrer anestro temporário ou permanente, ciclos estrais anormais, morte fetal, distocia, abortamento, morte neonatal, além de efeitos patogênicos no feto e no recém nascido (SILVA et al., 2004). É difícil definir as perdas econômicas causadas por *T. vivax* devido à sua ocorrência concomitante com outros protozoários e outros agentes (CLARKSON, 1976). Segundo SEIDL et al. (1999), estas perdas no Pantanal brasileiro e nas planícies bolivianas podem exceder 160 milhões de dólares, considerando que estas regiões possuam aproximadamente 11 milhões de cabeças de gado com valor total estimado em mais de três bilhões de dólares.

Na América do Sul, estudos sobre a ocorrência de *T. vivax* vinham sendo realizados principalmente em áreas endêmicas, como no Pantanal e região norte do Brasil. Em 2008 foi feito o primeiro relato da ocorrência de *T. vivax* em um rebanho leiteiro de Minas Gerais (CARVALHO et al., 2008). O objetivo do presente trabalho foi descrever os impactos econômicos do surto de tripanossomíase em tal rebanho leiteiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma propriedade rural de criação de bovinos leiteiros, situada no município de Igarapé, MG (20°4'S, 44°21'W e altitude 765 m), com área física de 246 ha. O rebanho é constituído de 235 bovinos das raças Gir, Holandês e Girolando, dos quais 63 são vacas em lactação, 13 vacas secas, 64 novilhas, 28 novinhos, 66 vacas de corte (as quais não usadas para reprodução) e um touro de repasse. A fazenda utiliza ordenha mecânica em circuito fechado e tem produção de aproximadamente 1400 litros de leite por dia.

Durante o período de setembro de 2007 a outubro de 2008, época na qual ocorreu o surto por *T. vivax* na propriedade, os impactos econômicos da doença no rebanho foram calculados com base nas mortes diretas, abortos, natimortos e queda no ganho de peso e na produção de leite, além dos gastos com drogas tripanocidas. Na propriedade existe um banco de dados onde são registradas as ocorrências de produção e aspectos sanitários dos animais. Dados obtidos no período de 2006 ao primeiro semestre de 2007 (antes da ocorrência do surto) foram comparados com dados do segundo semestre de 2007 e 2008 (após o estabelecimento da infecção nos animais).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ano de 2006 e no primeiro semestre de 2007, antes do surto por *T. vivax* na propriedade, ocorreram seis óbitos de vacas adultas, quatro abortos, a média de produção diária de leite foi de 20,4 quilogramas (Kg)/cabeça e taxa de gestação de 44,44. Após a instalação da doença, foram constatadas nove mortes de vacas leiteiras e 11 abortos, somente no primeiro semestre de 2008. A média de produção de leite caiu para 14,7 Kg/ cabeça e a taxa de gestação para 24,35. No ano de 2007, 85% das mortes de vacas leiteiras ocorreram no segundo semestre, época na qual se iniciou o surto. No primeiro semestre de 2008 a mortalidade continuou elevada e a redução somente ocorreu no segundo semestre de 2008, quando o surto de tripanossomíase havia sido controlado. SEIDL et al. (1999) afirmam que quando uma vaca morre antes do final de sua vida produtiva, o prejuízo do proprietário engloba tanto o valor do animal, quanto os futuros bezerros que ela viria a ter.

Durante o período de observação deste estudo, as vacas em lactação que apresentavam sintomatologia clínica foram tratadas com aceturato de diminazene (Ganaseg plus® Novartis), na dosagem de 3,5 mg/Kg e o leite descartado por três dias, conforme recomendação do fabricante. Em abril de 2008 todos os animais da propriedade foram tratados e o descarte do leite de 65 vacas causou um prejuízo de R\$ 2.006,55, considerando que o valor do litro de leite era de R\$ 0,70/Kg. SEIDL et al. (1999) calcularam que o custo do tratamento com aceturato de diminazene no Pantanal brasileiro, incluindo coleta de material, agulhas e seringas, é de US\$ 5,38 por cabeça. No presente estudo, foram gastos com tratamento curativo e preventivo, utilizando-se o aceturato de diminazene, R\$ 800,00 em 2007 e R\$ 5.600,00 em 2008, em 322 tratamentos realizados, chegando a um custo de R\$ 19,87 por tratamento.

A comparação dos dados relativos à produção média de leite, retorno bruto por dia e os picos de produção de leite do rebanho no período que antecedeu o surto, ao que ocorreu o surto, oferece um quadro dos impactos financeiros causados pela doença no rebanho. Na propriedade realizam-se pesagens da produção de leite em intervalos de duas a quatro semanas. Foi verificada que antes do surto a produção média de leite teve pesagem mínima de 17,55 Kg e máxima de 23,59 Kg. No início do surto, em 2007, a produção média reduziu para 14,53 no mínimo a 19,62 Kg no máximo e, em 2008, a mínima foi de 12,7 Kg e máxima de 17,6 Kg. Como resultado desta redução, o retorno bruto financeiro, que era de R\$ 1.071,56 por dia antes do início do surto, sofreu queda de 47%, chegando a R\$ 569,31/dia em março de 2008. Verificou-se, ainda, grande queda no pico de produção das vacas que iniciaram a lactação em 2007 e 2008 em relação a 2006. Em 2006 as vacas tinham pico de produção de leite de 23,8 Kg na primeira lactação e chegavam a 35,9 Kg até a quarta lactação. Porém, em 2007 este pico caiu para 21,7 Kg na primeira lactação e 29,3 Kg na quarta lactação. Em 2008 esta queda foi ainda maior, variando de 19 Kg na primeira e não ultrapassando a marca dos 23,9 Kg na quarta lactação. O retorno financeiro bruto da fazenda, calculado com base na quantidade de litros de leite vendida por dia e considerando-se o preço do litro de leite de R\$ 0,70, sofreu acentuada queda, com pico no período de fevereiro a março de 2008.

Vale destacar que nos anos estudados não houve alterações nutricionais, bem como mudanças na genética dos animais ou nas instalações e manejo sanitário destes. Portanto, podem-se associar tais quedas de produção à doença.

CONCLUSÃO

Apesar de as perdas econômicas causadas por *T. vivax* na América Latina – e principalmente no Brasil – ainda não terem sido bem estimadas até a presente data, sabe-se que surtos de *T. vivax* causam perdas econômicas expressivas em rebanhos bovinos leiteiros, relacionadas principalmente com a mortalidade de animais adultos, abortos e redução de produção de leite.

REFERÊNCIAS

BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; CARVALHO, J. R. G.; NETO, A. M. R.; PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da

infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 63-69, 2008.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 769-771, 2008.

CLARKSON, M. J. Trypanosomiasis of domesticated animals of South America. Seminar on Trypanosomiasis – Species of the subgenus and their potential usefulness. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 70, n. 2, p.125-126, 1976.

DELAFOSSE, A.; THE'BAUD, E.; DESQUESNES, M.; MICHAUX, Y. Epidemiology of *Trypanosoma vivax* infection in cattle in the tse-tse free area of Lake Chad. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 74, p. 108-119, 2006.

GARCÍA, H.; GARCÍA, M. E.; PÉREZ, G.; BETHENCOURT, A.; ZERPA, É.; PÉREZ, H.; MENDONZA-LEÓN, A. Trypanosomiasis in Venezuelan water buffaloes: association of packed-cell volumes with seroprevalence and current trypanosome infection. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 100, n. 4, p. 297-305, 2006.

MADRUGA, C. R. Frequência de anticorpos para *Trypanosoma vivax* no cerrado sul do Estado do Mato Grosso. **Veterinary Bulletin**, Farnham Royal, v. 34, n. 563, p. 1-7, 1964.

SEIDL, A.; DÁVILA, A. M. R.; SILVA, R. A. M. S. Estimated financial impact of *Trypanosoma vivax* on the Brazilian Pantanal and Bolivian lowlands. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, p. 269–272, 1999.

SILVA, R. A. M. S.; PELLEGRIM, A. O.; LIMA, E. S. S.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. **Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-Grossense e Bolívia**. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Corumbá, Brasil, Dez. 2004.

TAYLOR, K. A.; MERTENS, B. Immune response of cattle infected with African trypanosomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 2, p. 239-244, 1999.

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO EM CAPRINOS DA ILHA DE SÃO LUÍS-MA

Vívian Magalhães Brandão¹, Francisco Borges da Costa¹, Iran Alves da Silva¹, Daniela Franco da Silva², Isabel Cristina L. Dias², Júlia Gleicy Soares³, Solange M. Gennari⁴, Rudson Almeida Oliveira⁵, Maria Inez Santos Silva⁶

1. Mestre em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão

2. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão

3. Médica Veterinária, mestranda do Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão

4. Médica Veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo

5. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão

6. Médica Veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão

E-mail: vetvivian@hotmail.com (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Frequência, pequenos ruminantes, toxoplasmose.

ABSTRACT

PREVALENCE OF ANTI-TOXOPLASMA GONDII ANTIBODIES AND RISK FACTORS ASSOCIATED TO THE INFECTION IN GOATS RAISED ON THE ISLAND OF SÃO LUIS, MARANHÃO

Toxoplasmosis is a disease transmitted to animals by contaminated food. It affects several species, but mainly small ruminants, causing miscarriages and congenital disorders. This study assesses prevalence and risk factors of anti-*T. gondii* infection in goat herds on the island of São Luís, Maranhão. Serum samples from 197 goats were collected in three municipalities and analysed by indirect immunofluorescence (IIF) for detection of *T. gondii* antibodies. An agglutination titre at a 1:64 dilution was considered as a cut-off level. Results revealed an estimated prevalence of 35,53% (95% CI = 28,90% - 42,60%). Furthermore, 13 (92,90%) out of 14 properties showed seropositive samples. Factors associated with goat infection were: age, breed, floor of pen, water source, nipple drinking system, exploration system, health management, and reproductive abnormalities.

KEYWORDS: Frequency, small ruminants, toxoplasmosis.

INTRODUÇÃO

Em 1979, MUNDAY & MASON, foram os primeiros a descreverem a toxoplasmose como importante causa de prejuízos reprodutivos em caprinos. Em animais

adultos a infecção com *T. gondii*, ocasiona febre, anorexia, dispnéia, enterite e encefalite; os que sobreviverem tornam-se clinicamente normais. Fêmeas prenhes infectadas podem abortar, podendo ocorrer ainda morte fetal, reabsorção do feto ou nascimento de crias fracas, acarretando em perdas econômicas (DUBEY, 1980). Por meio de infecções experimentais observou-se a eliminação do agente no leite, saliva, urina (VITOR, 1991) e sêmen (DUBEY & SHARMA, 1980).

É fato de grande preocupação a transmissão da toxoplasmose caprina através do leite “*in natura*” e dos seus derivados, bem como da carne e subprodutos, quando consumidos quer pelos seres humanos quer por outras espécies (DUBEY, 1980). O consumo de leite de cabra mal esterilizado tem interferido na saúde pública, contribuindo para que a toxoplasmose se torne uma das mais difundidas zoonoses, considerando-se que as cabras portadoras de infecção aguda podem eliminar taquizoítos pelo leite (VITOR et al., 1991). Nesse sentido, o presente trabalho objetivou verificar a frequência de rebanhos caprinos soropositivos ao *T. gondii* na ilha de São Luís-MA.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área, amostragem e colheita do material

Para calcular o tamanho da amostra utilizou-se prevalência esperada de 25,8% (PIRES, 2009), de acordo com precisão absoluta desejada de 0,10 e nível de confiança de 99% (CANNON E ROE, 1982). Foram colhidas 197 amostras sanguíneas de 14 propriedades da ilha de São Luís, através da venopunção da jugular. As amostras foram centrifugadas e os soros armazenados à - 20°C até a realização dos testes sorológicos. A amostragem utilizada foi por conveniência definida como: 30,0 % de cada faixa etária; compreendendo animais com idade igual ou inferior a 12 meses e acima de 12, dentre machos e fêmeas e grupo raciais distintos. Utilizou-se questionário epidemiológico para obter informações sobre características individuais dos animais e relativas às propriedades.

Teste sorológico

Os soros foram analisados pela RIFI para detecção de anticorpos contra o *T. gondii*, de acordo com CAMARGO (1974), testados inicialmente a uma diluição de 1:64, em lâminas previamente sensibilizadas (IMUNODOT®), incubadas por 30 min a 37°C, e lavadas com PBS (pH 7,2). Utilizou-se conjugado antigoat IgG (Sigma F7367) diluídos em 1:2000, em solução de PBS 7,2 contendo azul de Evans 0,01%. As reações foram consideradas positivas quando os taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total em 50% dos

taquizoítos no campo observado, na diluição $\geq 1:64$ (FIGLIUOLO et al., 2004). As amostras de soro reagentes foram tituladas na base quatro até a obtenção da diluição 1:16.834 positiva na RIFI.

Análise estatística

As variáveis foram analisadas pelo teste Qui-quadrado (X^2), quando não possível, pelo teste Exato de Fisher, utilizando-se o Programa Epi Info (CDC, versão 3.4.3). Associações entre variáveis e frequência de soropositivos foram estimadas a partir do nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e pela Odds Ratio (OR), com intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 197 amostras séricas colhidas de caprinos da ilha de São Luís - MA, testadas pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para *Toxoplasma gondii*, estimou-se prevalência de 35,53% (70/197) [95% IC=28,90%-42,60%]. Os resultados obtidos para anticorpos anti - *T. gondii* (35,5%) foram superiores aos estimados por JITTAPALAPONG et al. (2005) na Tailândia (27,9%), FIGLIUOLO et al. (2004) em São Paulo (28,7%) e por LIMA et al. (2008) em Mossoró - RN (17,1%). Porém, a prevalência estimada foi inferior à registrada por SILVA et al. (2003) em Pernambuco (40,4%). Em relação às 14 propriedades estudadas, verificou-se que 13 (92,90%) apresentaram amostras reagentes para *T. gondii*, verificando-se por este estudo, que o *T. gondii* é um patógeno que se encontra difundido nos capris da ilha de São Luís - MA.

Os títulos variaram de 64 a 16.834, obtendo-se 41,50% (29/70) de amostras reagentes para título de 256 e apenas 1,40% (1/70) reagentes para título de 16.834. De acordo com DUBEY & KIRKBRIDE (1989), títulos > 1024 podem indicar uma infecção ativa e títulos < 1024 são sugestivos de infecção crônica. Assim, os títulos de anticorpos anti - *T. gondii* registrados neste estudo indicam que uma grande parte dos caprinos apresentava infecção crônica.

Para variável sexo não foi verificada associação significativa ($p > 0,05$). Porém em relação ao grupo racial e faixa etária houve associação significativa ($p < 0,05$). Animais mestiços apresentaram frequência de 41,12%, verificando-se 1,99 mais chances de apresentarem a infecção por *T. gondii* que animais puros. SILVA et al. (2003), semelhante a este estudo, verificaram maiores taxas de infecção em animais mestiços, com 51,92% caprinos soropositivos, apresentando associação significativa, podendo este comportamento ser devido ao menor cuidado no manejo higiênico-sanitário das criações de animais mestiços.

Em relação à faixa etária, verificou-se frequência de 41,32% animais soropositivos com faixa etária acima de 12 meses, com risco de 1,97 mais chances de apresentarem a infecção que animais com faixa etária ≤ 12 meses, podendo estar associado ao fato de maior período de contato de animais adultos com oocistos de *T. gondii* no ambiente. CAVALCANTE et al. (2008) verificaram que caprinos com mais de 37 meses de idade, o risco de estarem infectados pelo *T. gondii* foi 2,01 vezes maior que em animais mais jovens.

Para as variáveis fontes de água e tipo de bebedouro, verificou-se que nas propriedades em que a água era tratada pela fonte de abastecimento da cidade (CAEMA), e bebedouro era do tipo balde, provavelmente favoreceram a uma maior frequência de amostras reagentes 45,57% (OR=2,06) e 41,30% (OR=4,22) respectivamente. O acesso de felinos a reservatórios de água deve ser evitado, evidenciando-se a possibilidade de felinos defecarem próximos a reservatórios de água, onde não existe proteção (DUBEY, 2004). Os oocistos podem ser carregados a longas distâncias pelo vento ou pela água como também através da contaminação por vetores mecânicos.

O tipo de exploração de maior frequência registrado no estudo foi o tipo leiteira com 47,06%, apresentando um risco 9,48 maior de apresentar a infecção quando comparado à exploração mista, concordando com vários estudos que afirmam que o tipo de exploração leiteira pode estar associado à infecção pelo fato da exigência de animais puros e estes serem mais suscetíveis que os mestiços, em decorrência do manejo intensivo que favorece a maior concentração de animais (JITTAPALAPONG et al., 2005), sendo a do tipo corte menos suscetível pelo fato do manejo ser mais extensivo, o que diminui chance de infecção.

Verificou-se que houve associação significativa ($p < 0,05$) com a presença de gatos nas propriedades, cuja frequência foi de 44,85%, assim, o risco de animais estarem infectados pelo *T. gondii* foi 4,70 vezes maior que em animais procedentes de propriedades onde não havia a presença de gatos, corroborando com CAVALCANTE et al. (2008) que observaram associação entre a soroprevalência de anticorpos anti - *T. gondii* e a presença de gatos em propriedades, indicando que o contato com essa espécie é importante no que diz respeito a epidemiologia da doença. LIMA et al. (2008) que apesar de ter sido observada a presença de gatos em 11 (78,6%) das 14 propriedades visitadas e em 64,3% destas foi relatado o contato dos gatos com as pastagens e com os caprinos, não verificaram associação significativa.

Verificou-se maior frequência de amostras reagentes em propriedades com histórico de abortamento, 41,30% (OR=4,22). A associação significativa ($p < 0,05$) verificada neste estudo corrobora com resultados obtidos por MASALA et al. (2003), que em estudos

utilizando 362 amostras de fetos caprinos abortados, estimaram 23 (6,4%) amostras positivas para *T. gondii* através da PCR, indicando relação significativa do *T. gondii* com o abortamento em caprinos.

Outro fator associado com a infecção foi em relação ao destino do material abortado, cuja frequência de soropositivos foi maior em propriedades que jogam fora o material em terrenos baldios na própria propriedade ou em áreas próximas, com 53,44% de amostras reagentes, apresentando um risco de 2,23 mais chances de animais apresentarem a infecção que em propriedades onde enterram o referido material. Não destinando corretamente os fetos e tecidos fetais abortados, estes ficam expostos, facilitando assim que outros animais entrem em contato com material possivelmente contaminado por *T. gondii*.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pôde-se concluir que a prevalência de anticorpos anti - *T. gondii* foi considerada alta em rebanhos caprinos da ilha de São Luís-MA. As variáveis faixa etária e grupo racial foram associadas à infecção. Assim como, tipo de piso do aprisco, fonte de água, tipo de bebedouro, tipo de exploração, manejo sanitário e distúrbios reprodutivos. Portanto faz-se necessário um planejamento de sanidade animal na cadeia de produção dessas espécies, e da conscientização dos produtores para as formas de controle desta enfermidade.

REFERÊNCIAS

- CAMARGO M. E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, Rio de Janeiro, v. 10, p. 143-169, 1974.
- CANNON, R. M.; ROE, R. T. **Livestock diseases surveys: a field manual for veterinarians**. Canberra: Australian Government Publishing Service. 1982. 35p.
- CAVALCANTE, C. R.; CARNEIRO, M. A.; GOUVEIA, A. M. G.; PINHEIRO, R. R.; VITOR, R. W. A. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina. Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 36-41, 2008.
- DUBEY, J. P. Mouse pathogenicity of *Toxoplasma gondii* isolated from goats. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 41, p. 427- 429, 1980.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis – A Waterborne Zoonosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 126, p. 57–72, 2004.

DUBEY, J. P.; KIRKBRIDE, C. A. Enzootic toxoplasmosis in sheep in north-central United States. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 75, p.673-676, 1989.

DUBEY, J. P.; SHARMA, S. P. Caprine toxoplasmosis: abortions, clinical signs and distribution of *Toxoplasma* in tissues of goats feed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 41, p.1072-1076, 1980.

FIGLIUOLO, L. P.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; AGUIAR, D. M.; KASAI, N.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti- *Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 55, p. 29-32, 2004.

JITTAPALAPONG, S; SANGVARANOND, A; PINYOPANUWAT, N; CHIMNOI, W; KHACHAERAM, W; KOIZUMI, S AND MARUYAMA, S; Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 127, p. 17-22, 2005.

LIMA, J. T. R.; AHID, S. M. M. R A.; BARRÊTO, J.; PENA, H. F. de J.; DIAS R. A.; GENNARI, S. M.. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal Veterinary Reserch Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 2, p. 81-86,2008.

MASALA, G., R.; et al. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 117, p. 15–21, 2003.

PIRES, C. R. **Estudo soroepidemiológico de *Brucella abortus*, *Toxoplasma gondii* e vírus da artrite encefalite caprina em rebanhos caprinos nas unidades produtoras dos Estados do Para e Maranhão.** 2009. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pará, Belém.

SILVA, A. V.; CUNHA, E. L. P; MEIRELES, L. R; GOTTSCHALK, S.; MOTA, R. A; LANGONI, H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 115-119, 2003.

VITOR, R. W. A; PINTO, J. B.; CHIARI, C. A. Eliminação de *Toxoplasma gondii* através de urina, saliva e leite de caprinos experimentalmente infectados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 43, n. 2, p. 147-154, 1991.

ESTUDO COMPARATIVO DO SISTEMA FAMACHA ENTRE CAPRINOS E OVINOS SOB O MESMO MANEJO PRODUTIVO NO SERTÃO BAIANO

Alfeu Cavele¹, Maria Angela Ornelas de Almeida², Mary de Araújo Barreto³,
Marilene Maria Lima⁴, Elane de Alencar Arrais Machado⁵, Marina Santana Rossi Peixoto⁶,
Margarete Neres Silva⁶, Cláudio Roberto Madruga⁷, Maria Consuelo Caribé Ayres²

1. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Animal nos Trópicos, Escola de Medicina Veterinária – EMV/UFBA. Bolsista CNPq-PEC-PG.
2. Médica Veterinária, doutora, professora do Departamento de Patologia e Clínicas da EMV/UFBA.
3. Médica Veterinária, doutora, professora do Instituto de Ciências da Saúde/UFBA.
4. Bolsista CAPES/PRODOC.
5. Acadêmica da EMV/UFBA. Bolsista CNPq/PIBIT.
6. Acadêmica da EMV/UFBA. Bolsistas, FAPESB/PIBIC e UFBA/Programa Permanecer .
7. Pesquisador Visitante FAPESB E-mail: cayres@ufba.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: *Haemonchus*, helmintos, ruminantes, volume globular.

ABSTRACT

COMPARATIVE STUDY OF THE FAMACHA SYSTEM FOR ON-FARM USE BY SHEEP AND GOAT PRODUCERS IN THE SEMI-ARID REGION OF BAHIA

This study evaluates the FAMACHA method used by sheep and goat producers in the semi-arid region of Bahia, Brazil. A total of 60 crossbred Anglo Nubian goats and 60 crossbred sheep (Santa Inês x Dorper) were assessed. Animals were aged 4-6 months and had an average weight of 31,4 and 27,5 kg, respectively. Both groups were raised in a semi-extensive system and shared the same stalls in a farm located in the city of Feira de Santana from July to December 2008. Mean and standard derivations of the nematode fecal egg counts (EPG) in goats were 1756 ± 670 , 2013 ± 942 , and 2013 ± 942 (FAMACHA 2, 3 and 4), whereas average EPG values in sheep were 335 ± 248 , 537 ± 487 , and 1736 ± 2263 (FAMACHA 1, 2 and 3). Packed cell volumes (PCV) in goats were $27 \pm 2,20$, $25 \pm 2,49$, and $21 \pm 3,55$ (FAMACHA 2, 3 and 4), and PVC in sheep were $33 \pm 2,17$, $32 \pm 1,66$, and $26 \pm 5,36$ (FAMACHA 1, 2 and 3). Therefore, values of **EPG and PCV were significantly different as regards FAMACHA scores of goats and sheep raised in the same conditions.**

KEYWORDS: Blood packed cell volume, *Haemonchus*, helminthes, ruminants.

INTRODUÇÃO

No Brasil, em especial nas regiões do semi-árido, o parasitismo causado por nematóides gastrintestinais se constitui em um dos problemas para o sistema de produção, acarretando impacto econômico, devido a altos custos com a prevenção e os tratamentos intitulados, além da alta mortalidade dos animais (VIEIRA & XIMENES, 2001).

Dos parasitos gastrintestinais, o *Haemonchus contortus* é o principal nematódeo responsável pela diminuição da produtividade e elevada mortalidade dos animais, especialmente os jovens (AMARANTE, 2003).

O método FAMACHA (VAN WYK & BATH 2002) pode auxiliar na classificação do estado clínico relacionado com a carga parasitária dos animais de um rebanho, pela comparação da coloração da mucosa ocular, utilizando-se um cartão de referência. Vários estudos confirmaram a eficiência deste método como auxílio no controle da hemoncose (WYN & BATH, 2002; MOLENTO et al., 2004), contudo poucos trabalhos foram realizados com caprinos e ovinos submetidos as mesmas práticas de manejo (BURKE et al., 2007). O estudo comparativo do método FAMACHA com estas espécies animais, criados nas mesmas condições no sertão baiano foi o objetivo do presente experimento, e poderá contribuir para o controle das nematodioses em pequenos ruminantes, especialmente para os caprinos, para melhor utilização do método.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma propriedade localizada no município de Feira de Santana, no estado da Bahia, no período de julho a dezembro de 2008, relativo ao período chuvoso. O município tem uma altitude próxima de 234 metros, o clima é considerado tropical-úmido, sendo que a sua estação chuvosa vai de março a setembro, com um índice pluviométrico variando de 900 a 1.200 mm anuais. A média de temperatura é de 26,5°C.

Foram utilizados 60 cabras mestiças Anglo Nubiana e 60 ovelhas mestiças Santa Inês com Dorper, entre quatro e seis meses de idade, com a média de 27,5 e 31,4 kg peso vivo, respectivamente. Os animais eram criados em sistema semi-extensivo e mantidos nos mesmos piquetes. A área da propriedade é de cerca de 1000 hectares, dividida em 23 piquetes, de tamanho variando de 39 a 180 tarefas por piquete. Para criação dos ovinos e caprinos eram usados seis piquetes, constituídos pelas gramíneas *Brachiaria decumbens* e *B. humindicola*.

As avaliações foram realizadas semanalmente para coleta dos dados, totalizando 780 análises (60 animais x 13 avaliações) para cada espécie animal. Foram coletadas amostras de fezes, diretamente da ampola retal e amostras de sangue, da veia jugular utilizando-se o

sistema vacutainer em tubos contendo EDTA (etileno diamino tetracetato tripotássico) a 15 %. Concomitante a isso foi avaliado o escore corporal e inspecionada a mucosa conjuntiva dos animais, para classificação do grau FAMACHA (VAN WYK & BATH, 2002). No primeiro dia de coleta foi realizada a pesagem de todos os animais incluídos no experimento.

Na avaliação parasitológica foi efetuada a contagem de ovos (OPG), conforme GORDON & WHITLOCK (1939) e obtenção de larvas, pela coprocultura (ROBERTS & O'SULLIVAN, 1950). As larvas infectantes, coletadas dos cultivos, foram classificadas pelo gênero (UENO & GONÇALVES, 1998).

A determinação do volume globular (VG) foi efetuada pelo método do microhematócrito (JAIN, 1993) e as proteínas plasmáticas totais (PPT) e o fibrinogênio (Fb) foram determinados conforme técnicas preconizadas por WOLF et al. (1962) e FOSTER et al. (1959), respectivamente.

Para comparação das médias dos valores do OPG, VG, PPT, Fb e FAMACHA (moda), entre as espécies, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney, considerando o valor de $P < 0,05$, por meio do programa GraphPad Prism (versão 5. 2007). O coeficiente de correlação de Pearson foi usado para verificar a associação entre as variáveis medidas em cada espécie animal, e para isto as contagens de OPG foram transformadas, usando $\log_{10}(x+1)$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No manejo no qual foram submetidos os caprinos e ovinos, verificou-se que as infecções por nematódeos foram mais acentuadas em caprinos ($OPG = 1996 \pm 713$) do que nos ovinos ($OPG = 582 \pm 320,5$), diferindo estatisticamente.

Com relação ao valor modal do grau FAMACHA, para os caprinos observou-se um predominância do grau 3 (63,3%), seguido do 2 (26,7%) e do 4 (10%) e nos ovinos do grau 2 (71,7%), 1 (20%) e 3 (8,3%). Verificou-se também que o aumento do número de OPG nas fezes foi acompanhado do aumento do grau FAMACHA. Nos caprinos, as médias e desvio padrão dos valores do OPG de, 1756 ± 670 , 2013 ± 942 e 2013 ± 942 , corresponderam aos graus 2, 3 e 4, enquanto para os ovinos as médias e desvio padrão dos valores do OPG de, 335 ± 248 , 537 ± 487 e 1736 ± 2263 foram relacionados aos graus 1, 2 e 3.

O nível de infecção parasitária dos caprinos refletiu no valor do volume globular, que foram $27 \pm 2,20\%$; $25 \pm 2,49\%$ e $21 \pm 3,55\%$ para os graus 2, 3 e 4, respectivamente. Nos ovinos, as médias e desvio padrão dos valores foram $33 \pm 2,17\%$; $32 \pm 1,66\%$ e $26 \pm 5,36\%$,

correspondentes aos graus 1, 2 e 3. Houve diferença significativa entre as médias do volume globular dos caprinos e ovinos.

No estado da Bahia, ALMEIDA et al. (1997) encontraram os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum* em cultivos de fezes de caprinos, naturalmente infectados, apresentando freqüências de 92%, 33% e 29%, respectivamente.

Vale ressaltar que neste estudo o gênero *Trichostrongylus* foi a mais freqüente, tanto nos caprinos (56%) como nos ovinos (62,2%), seguido dos gêneros *Haemonchus* (41,0 e 29,5%) e *Oesophagostomum* (3,3 e 2,6%). Alguns animais que albergam nematóides gastrintestinais podem não apresentar quadro de anemia, mas aqueles tipicamente suscetíveis com maior número de parasitos tornam-se anêmicos (BURKE et al., 2007).

A concentração de proteínas plasmáticas totais não apresentou variação estatisticamente significativa nas duas espécies, a qual foi igual a $6,7 \pm 0,3$ g/dL e $6,8 \pm 0,4$ g/dL, para caprinos e ovinos, respectivamente. Os valores do fibrinogênio foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos caprinos ($338,6 \pm 78,8$ g/dL), quando comparado com os ovinos ($269,9 \pm 66,8$ g/dL). Este parâmetro é um indicador de resposta a processos inflamatórios que podem estar associado à carga parasitária (JAIN, 1993).

Observou-se correlação negativa ($p < 0,05$) entre os valores de VG e OPG ($r = -0,36$), VG e FAMACHA ($r = -0,47$) dos caprinos, e entre VG e OPG ($r = -0,43$), VG e FAMACHA ($r = -0,55$) dos ovinos. Correlação positiva foi verificada entre VG e PPT (caprinos $r = 0,22$; ovinos $r = 0,26$).

CONCLUSÃO

Os valores das variáveis OPG e VG diferiram acentuadamente com relação ao grau FAMACHA entre caprinos e ovinos criados sob o mesmo sistema de manejo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao auxílio financeiro concedido pela FAPESB, CNPq e CAPES

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. A. O.; AYRES, M. C. C.; SANTOS, S. C. S. Freqüência de helmintos gastrintestinais em caprinos leiteiros criados no estado da Bahia: Influência do sistema de criação e dos fatores etário e racial. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 6, n. 2, p.53, 1997.

AL-ZUBAIDY, A. J., ALTAIF, K. I., AL-QAISY, H. H., MAKKAWI, T. A. Gross pathology and histopathology of haemonchosis in sheep and goats in Iraq. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 23, p. 249-56, 1987.

AMARANTE, A. F. T. Controle de endoparasitoses dos ovinos. Departamento de Parasitologia UNESP-Botucatu-São Paulo. Disponível no site: – UNESP –Botucatu–São Paulo. Disponível no site:<http://www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman4.htm>. 2003.

BURKE J. M.; KAPLAN R. M.; MILLER, J. E.; TERRILL, T. H.; GETZ, W. R.; MOBINI, S.; VALENCIA, E.; WILLIAMS, M. J.; WILLIAMSON, L. H. V. Accuracy of the FAMACHA system for on- farm use by sheep and goat producers in the southeastern United States; **Veterinary Parasitology**, Amsterdam v. 147, p. 9, 2007.

FOSTER, J. B. T.; DE NATALE, A.; DOTTI, L. B. Determination of plasma fibrinogen by means of centrifugation after heating. **American Journal of Clinical Pathology**, Philadelphia, v. 31, p. 21-23, 1959.

GORDON, H. McL.; WHITLOCK, H. V. A New technique for counting nematoda eggs in sheep faeces. **Journal Commonwealth Science and Industry Organization**, Boston, v. 12, p. 50-52, 1939.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, p.417.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agriculture Research**, Collingwood, v. 1, p. 99, 1950.

SILVA, F. J. M.; RANGEL, C. P.; CASTRO, A. A.; JÚNIOR, D. S. G.; FONSECA, A. H. Distribuição e longevidade de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de caprinos (*Capra hircus*) em pastagem no município de Seropédica, RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.29, n.3, 2007.

UENO, H; GONÇALVES. P.C. **Manual para diagnósticos das helmintoses de ruminantes**. 2.ed. Tokio: Japan International Cooperation Agency, 1998. p.165.

VAN WYK, J. A.; BATH, G. F. The FAMACHA© system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 33, p. 509-529, 2002.

VIEIRA, L. S.; XIMENES, L.J.F. **Resistência genética ao parasitismo por nematódeos gastrintestinais em pequenos ruminantes no Brasil: panorama atual**. Sobral, Embrapa caprinos. 2001. 20p. (Documentos, 36).

WOLF, A. V.; FULLER, J. B.; GOLDMAN, E. J.; MAHONY, T. D. New refractometric methods for determination of total proteins in serum and in urine. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v.8, n.158, 1962.

MÉTODO FAMACHA® NO CONTROLE DE PARASITOS EM CAPRINOS

Severino Pinto¹, Carina Simionato de Barros², Ariane Paula Rovani Scolari³,
Alda Lúcia Gomes Monteiro⁴, Catarina Mealha Cabrita⁵, Fabiana Marinelli Pontes da Rocha⁵

1. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Uniguaçu.

2. Médica Veterinária, Me., professora do Curso de Medicina Veterinária, Uniguaçu; Depto de Zootecnia UFPR, Rua dos Funcionários, 1540, CEP 80035-050, Curitiba- Paraná

E-mail: carinaveter@gmail.com (autor correspondente)

3. Médica Veterinária, Esp., professora do Curso de Medicina Veterinária, Uniguaçu

4. Engenheira Agrônoma, Doutora, professora do Departamento de Zootecnia da UFPR

5. Médica Veterinária, especialista

PALAVRAS-CHAVE: Anemia, eficácia, *Haemonchus* sp., ivermectina, parasitose.

ABSTRACT

FAMACHA METHOD AS A STRATEGY FOR PARASITE CONTROL IN GOATS

Gastrointestinal verminosis is a major production-limiting factor in many livestock enterprises. Famacha method allows for selective treatment without laboratorial examination. This study was carried out in Campo Largo, Paraná State, Brazil. A total of 86 female goats infected by parasites were assessed. Results revealed that the flock presented an average Famacha degree 2 throughout the research period. Famacha 3 was observed in 86,05% of the animals at least once during the year, and 11,63% were higher than degree 3. In 2009, only 26,7% of goats were dewormed. While calculating the average Famacha degree during this period, evidence showed a higher number of dewormed goats by the end of the summer, and 97,3% in autumn. This was due to the poor-quality tropical grass characteristic of the end of the summer season and the fact the pastures were not temperate. The animals' nutritional deficiency may have contributed to their immune systems' difficulty in acting against parasites. Therefore, Famacha proved a valuable tool to help reduce animal losses and costs as regards the use of anthelmintics when the flock was on a suitable diet.

KEYWORDS: Anemia, effectiveness, *Haemonchus* sp., ivermectin, parasitism.

INTRODUÇÃO

O parasitismo gastrointestinal constitui-se num dos principais fatores limitantes à exploração de pequenos ruminantes, em consequência do comprometimento na produtividade do rebanho (CHARLES et al., 1989). Em ovinos, trabalhos relatam mortalidade elevada de cordeiros por verminose (SIQUEIRA et al., 1993; SASA et al., 2006; MONTEIRO et. al., 2007; POLI et. al., 2007). Em diferentes sistemas de terminação de cordeiros, demonstrou-se

que com desmame e terminação em pasto houve até 20% de mortalidade por verminose; sendo isso motivo de diminuição de receita e da lucratividade na produção devido ao menor número de animais terminados para abate (BARROS et al., 2009). O conhecimento real das perdas de produção ocasionadas pela haemoncose caprina ainda é desconhecido, porém, dentro da distribuição dispersa é possível que a maioria dos animais de um mesmo rebanho apresente baixo grau de parasitismo e somente um índice inferior a 20% possuam níveis indesejáveis de infecção, capazes de causar perdas econômicas acentuadas (VIEIRA, 2007).

O método FAMACHA© foi desenvolvido na África do Sul (VAN WKY, 1997) para ovinos e tem como objetivo identificar clinicamente animais que apresentem diferentes graus de anemia, frente à infecção pelo *Haemonchus contortus*, o que possibilita o tratamento de forma seletiva, sem a necessidade de recorrer a exames laboratoriais. A indicação de tratamento pelo cartão é baseada unicamente na coloração da conjuntiva (MOLENTO et al., 2004). O referido pesquisador observou que a coloração da conjuntiva de caprinos sadios tem menor intensidade quando comparada a ovinos sadios. Outra observação é que para o exame clínico, a exposição da conjuntiva deve ser feita respeitando um período de preenchimento capilar mais demorado que em ovinos. Em caprinos ocorre melhor diferenciação da coloração da conjuntiva quando se espera de seis a oito segundos após a exposição da conjuntiva. Dessa forma, há necessidade de treinamento de pessoal de forma diferenciada para os caprinos.

Diversos produtores usam o método Famacha© em caprinos e necessitam de embasamento científico para resultados desejáveis. Estudos nos Estados Unidos e Porto Rico (BURKE et al., 2007), França (MAHIEU et al., 2007), Sul da África (SRI JEYAKUMAR, 2007) e Itália (DI LORIA, 2009) utilizando caprinos demonstraram que o método Famacha© é ferramenta útil na identificação de anemia e controle de haemoncose.

O objetivo deste trabalho foi realizar o acompanhamento do grau Famacha© e das desverminações realizadas em caprinos durante um ano em Campo Largo, Paraná, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no município de Campo Largo – Paraná. Os animais avaliados foram 86 fêmeas caprinas, cruzamento das raças Anglo Nubiano e Boer, naturalmente infectadas por parasitas. Esses animais foram mantidos em pastagem durante o dia e recolhidos a noite em aprisco. O pasto era de *Hemarthria altissima* no verão e *Lolium multiflorum* e *Avena strigosa* no inverno, com sal mineral e água *ad libitum*.

As avaliações foram semanais em todos os animais e consistiu da determinação do grau Famacha© pela avaliação da anemia por comparação da coloração da conjuntiva do animal

com um padrão pré-estabelecido em um cartão de cores. Os graus variam de um a cinco, sendo um o animal conjuntiva cor vermelho intenso (maior hematócrito) e cinco, conjuntiva branca (anemia severa). As desverminações foram realizadas com base no grau Famacha, somente em dezembro de 2008, no peri-parto, foi realizada desverminação em todo o rebanho com closantel. Quando os animais apresentavam grau Famacha 3 ou 4 eram desverminados com ivermectina 1% na dose de 200 mcg/kg. Esses animais também recebiam uma dose de 25 mg/kg de ferro dextrano e 5.000 mcg cianocobalamina (vitamina B12). O controle parasitário foi feito somente com o grau Famacha© no período.

Esse estudo relata a realidade de uma propriedade com seu manejo tradicional sem acompanhamento por exames coproparasitológicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seqüência de avaliações mostrou que o rebanho durante todo o período do estudo realizado, obteve o Famacha© com média 2. Observou-se que durante o ano todo 12,8% do rebanho não foi desverminado nenhuma vez, por não apresentarem Famacha 3, 4 ou 5. Esse grupo manteve-se clinicamente bem durante o ano e não gerou gasto com anti-helmíntico. Esses dados vão de acordo com MOLENTO et al. (2004) que descreve que há uma parcela de hospedeiros que pode ser identificada por exame clínico e permanecer sem tratamento.

Do total dos animais trabalhados por meio da avaliação clínica do método Famacha, 23,25% foram desverminados apenas uma vez durante o ano todo, e 4,6% do rebanho foi desverminado sete vezes, sendo esse grupo o de maior número de desverminações. Em adição, 15,1%; 16,3%; 11,6% 9,3%; 6,9% do rebanho foi desverminado duas, três, quatro, cinco e seis vezes durante o ano, respectivamente.

No rebanho, 86,05% dos animais apresentaram grau Famacha 3 pelo menos uma vez durante o estudo; 11,63% apresentou Famacha© maior que 3. Uma parcela do rebanho (23,3%) apresentou Famacha maior ou igual a 3 por três avaliações consecutivas. Não houve melhora da anemia detectada pelo grau Famacha, mesmo com administração de ferro e cianocobalamina, cuja suplementação induz a resposta eritrocitária mais precoce (ROCHA et al., 2008).

Em 2008 (maio a dezembro), do total de animais trabalhados no estudo, somente 26,7% foram desverminados, valor esse bem inferior à média do ano todo (87,2%). Ao analisar o grau Famacha médio do rebanho por estação do ano, observou-se que houve maior número de desverminações no período de estação de verão e início de outono, sendo 97,3% do rebanho desverminado nesse período, o que elevou a média geral.

De um total de 206 desverminações realizadas em 2009, janeiro a maio, a média atingiu aproximadamente 11,4 por coleta de dados, o que indica que cerca de 12% do rebanho em média foi desverminado toda semana. O pico de desverminações nesse período foi no mês de maio, ou seja, já estando na estação do outono. Esse fato pode ser explicado pelo fato das pastagens de verão estarem no fim do ciclo, terem baixa qualidade e disponibilidade, e principalmente, porque a propriedade em estudo não preparou pastagens de inverno, tendo somente as pastagens de verão queimadas de geadas, comum nessa época do ano. Com isso, pela deficiência nutricional que os animais estavam passando, provavelmente não estavam conseguindo agir com o seu sistema imune contra os parasitos, ocorrendo assim um grau de anemia alto e rápido. Essa deficiência nutricional no referido período explica porque os resultados desse trabalho diferem de outros autores que demonstram baixo percentual do rebanho desverminado. Segundo o autor CHAGAS (2007), é importante ressaltar que a utilização do método Famacha deve estar sempre associada a uma dieta adequada dos animais. Do total dos animais trabalhados no estudo 10% morreram no período de deficiência nutricional, sendo que alguns animais perderam até 15% do seu peso corporal, já que não havia volumoso e não houve suplementação alimentar.

A ivermectina não teve atividade prolongada quando houve restrição alimentar. A presença constante de parasitose pode ser devido a uma possível resistência dos parasitas à droga utilizada ou a grande infestação do meio ambiente por larvas infectantes (ARO et al., 2007). Nesse estudo provavelmente a deficiência nutricional é que deve ter deixado os animais mais suscetíveis à parasitose, já que antes dessa restrição alimentar não houve problemas e anemia intensa sem melhora.

Durante todo o período do estudo foi gasto 250 mL de ivermectina, sendo que antes do acompanhamento dos animais com o método Famacha®, o produtor gastava aproximadamente um litro de ivermectina por ano. Essa diminuição de gasto com medicamentos anti-helmínticos de 75%, gerou economia. Segundo CHAGAS et al. (2007), com o uso do método Famacha pode-se economizar com o uso de anti-helmínticos, especialmente quando se compara com propriedades que fazem vermifugação de 100% do rebanho em intervalos fixos de 30 ou 60 dias. VIEIRA et al. (2007), obteve redução de 93,41% no uso de anti-helmínticos num grupo de ovinos tratados conforme o método Famacha em relação aos grupos com tratamentos a cada 30 e 60 dias. Em estudo com cordeiros, conseguiu-se reduzir drasticamente a vermifugação de cordeiros, 92,2% permaneceram sem vermifugação (DEPNER et al., 2007). Cabe ressaltar que o resultado do

presente estudo poderia ser muito melhor se os animais tivessem sido suplementados durante a falta de forragem, além de que poderiam ser evitadas as mortes que geram altos prejuízos.

CONCLUSÃO

A aplicação do controle seletivo de parasitas de caprinos com o método Famacha foi eficaz, gerou redução de perdas na produção e de custos com anti-helmínticos quando os animais estavam com adequada alimentação.

REFERÊNCIAS

ARO, D. T.; POLIZER, K. A.; BELUT, D. S.; ALMEIDA, C. R.; AMARAL, L. C.; NEVES, M. F.; RODRIGUES, R. Verminose ovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 5, n. 9, 2007.

BARROS, C. S.; MONTEIRO, A. L. G.; POLI, C. H. E. C.; FERNANDES, M. A. M.; ALMEIDA, R.; FERNANDES, S. R. Resultado econômico da produção de ovinos para carne em pasto de azevém e confinamento. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 31, p. 77-85, 2009.

BURKE, J.M.; KAPLAN, R. M.; MILLER, J. E.; TERRILL, T. H.; GETZ, W. R.; MOBINI, S. E.; VALENCIA, M.J.; WILLIAMS, L.H.; WILLIAMSON AND A.F. VATTA. Accuracy of the FAMACHA® system for on-farm use by sheep and goat producers in the southeastern United States. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 147, n. 1-2, 20, p. 89-95, 2007.

CHAGAS, A. C. S.; CARVALHO C. O.; MOLENTO M. B. Método Famacha©: Um recurso para o controle da verminose em ovinos. **Embrapa Pecuária Sudeste** - São Carlos, SP Circular Técnica, 52, 2007.

CHARLES, T. P.; POMPEU, J.; MIRANDA, D. B. Efficacy of three broad-spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematode infections of goats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 34, p. 71-75, 1989.

DEPNER, R. A.; GAVIÃO, A. A.; CECIM, M.; ROCHA, R.; MOLENTO, M. B. Desempenho de cordeiros naturalmente infectados com parasitas Gastrointestinais utilizando o tratamento seletivo com o método Famacha© e o tratamento preventivo. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v 11, n. 3. p. 32-37, 2007.

DI LORIA, A.; VENEZIANO, V.; PIANTEDOSI, D.; RINALDI, L.; CORTESE, L.; MEZZINO, L. CRINGOLI, G.; CIARAMELLA, P. Evaluation of the FAMACHA© system for detecting the severity of anaemia in sheep from southern Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 161, n. 1-2, 6, p. 53-59, 2009.

MAHIEU, M.; ARQUET, R.; KANDASSAMY, T.; MANDONNET N.; HOSTE H. Evaluation of targeted drenching using Famacha© method in Creole goat: Reduction of

anthelmintic use, and effects on kid production and pasture contamination. **Veterinary Parasitology**. Amsterdam, v. 146, n. 1-2, 15, p. 135-147, 2007.

MOLENTO, M. B.; TASCA, C.; GALLO, A.; FERREIRA, M; BONONI, R; STECCA, E. Método Famacha® como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34., n. 4, p. 1139-1145, 2004.

MONTEIRO, A. L. G.; POLI, C. H. E. C.; MORAES, A.; BARROS, C. S.; PIAZETTA, H. V. L. Produção de ovinos em pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 24. 2007, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2007, v. 24, p. 377-458.

ROCHA, J. F. X.; ROCHA, R. X ; CECIM, M. Resposta eritrocitária em cordeiros com anemia verminótica suplementados com ferro associados ou não com vitamina B12. In: CONBRAVET - CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA. 35. 2008, Gramado. **Anais....**, Gramado: CONBRAVET, 2008.

SASA, A.; CASTILHO, M. F. O.; NEVES, E. P.; BENATTI, J. M. B.; VARGAS, E. M. **Infestação helmíntica de cordeiros Santa Inês criados em distintos sistemas de produção**. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA - SBZ, 43. 2005, João Pessoa. **Anais....**, João Pessoa: SBZ, 2005.

SRI JEYAKUMAR, C. A preliminary report on the use of FAMACHA for haemonchosis in goats in the Eastern Cape Province of South Africa during the late autumn/early winter period. **Journal of the South African Veterinary Medical Association**, Pretoria, v. 78, n. 2, p. 90-91, 2007.

VAN WYK, J.A., MALAN, F.S., BATH, G. F. Rampant anthelmintic resistance in sheep in South Africa - What are the options? In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE WORLD ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF VETERINARY PARASITOLOGY. 16. 1997. Sun City. **Proceedings...** Sun City South Africa, p.51-63, 1997.

VIEIRA, L. da S. **Controle Parasitário em Pequenos Ruminantes: Método Famacha**. Embrapa Caprinos. 2007.

LARVAS DE TRICOSTRONGILÍDEOS EM FEZES DE OVINOS

Severino Pinto¹, Carina Simionato de Barros², Ariane Paula Rovani Scolari³,

João Estevão Sebben⁴

1. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Uniguaçu.

2. Médica Veterinária, Me., professora do Curso de Medicina Veterinária, Uniguaçu; Depto de Zootecnia UFPR, Rua dos Funcionários, 1540, CEP 80035-050, Curitiba- Paraná.

E-mail: carinaveter@gmail.com (autor correspondente)

3. Médica Veterinária, Esp., professora do Curso de Medicina Veterinária, Uniguaçu

4. Médico Veterinário, Me., coordenador e professor do Curso de Medicina Veterinária, Uniguaçu

PALAVRAS-CHAVE: Coprocultura, *Haemonchus* sp., larvas infectantes, OPG, *Trichostrongylus* sp.

ABSTRACT

TRICHOSTRONGYLIDAE LARVAE IN SHEEP FAECES

A great deal of economic losses in animal production, especially sheep, are caused by Trichostrongylidae, mainly *Haemonchus* sp. and *Trichostrongylus* sp. parasites. Therefore, this study identifies Trichostrongylidae infective larvae in sheep faeces by the quantitative coproculture method. Various parasitological tests were carried out on 6 animals, such as faecal egg counts (FEC), coproculture, and Famacha. FEC findings revealed that 67% of the sheep presented Trichostrongylidae eggs, and infective larvae were observed in 100% of faecal cultures. A total of 1,861 larvae were counted, of which 44 (2,4%) were *Trichostrongylus* sp. and 1,816 (97,6%) were *Haemonchus* sp. The latter parasite showed higher prevalence values, thus resulting in heavy economical losses and animal mortality due to anemia.

KEYWORDS: Coproculture, *Haemonchus* sp., infectants larvae, FEC, *Trichostrongylus* sp.

INTRODUÇÃO

Os tricostrongilídeos são vermes pequenos, frequentemente capiliformes, do grupo com bolsa copuladora que são parasitas geralmente de trato digestivo de animais. Estruturalmente, possuem poucos apêndices cuticulares e a cápsula bucal é vestigial. Os machos possuem uma bolsa copuladora bem desenvolvida e dois espículos, cuja conformação

é usada para a diferenciação de gênero e espécies dos parasitas adultos. O ciclo evolutivo é direto, sendo a L₃ o estágio infectante (URQUHART et al., 1998).

Os tricostrongilídeos, são responsáveis por grandes perdas econômicas em animais de produção, principalmente em ovinos, sendo os gêneros com maior enfoque o *Haemonchus* sp. localizado no abomaso e *Trichostrongylus* sp., no abomaso e intestino de ruminantes. (FOREYT, 2005; URQUHART, et al., 1998).

De acordo com o autor URQUHART et al. (1998), o *Haemonchus* sp. é um nematóide abomasal que causa anemia hemorrágica aguda provocada pelo hematofagismo dos vermes e o gênero *Trichostrongylus* sp. é um parasita importante de gastroenterite parasitária, os adultos são difíceis de serem visualizados a olho nu pelo seu tamanho ser menor de sete milímetros de comprimento.

Os ovos desta superfamília são em formato ovóide com cápsula fina e blastomerados, são relativamente difíceis de serem diferenciados entre os gêneros e as espécies, sendo necessária a realização de coprocultura.

A coprocultura é utilizada como uma forma de diagnóstico para algumas parasitoses que não são diferenciadas pelo exame de identificação de ovos, sendo coletada uma amostra das fezes de um animal infectado e feito uma cultura destas em um ambiente propício com umidade e temperaturas corretas para que os ovos desses parasitas eclodam, sendo utilizado as larvas para a identificação e diferenciação dos gêneros, as larvas geralmente que são visualizadas, estão no estágio de L₃ infectantes. As principais diferenças entre os gêneros estão no formato e tamanho da cauda de cada uma delas.

O uso de produtos anti-helmínticos é a arma com a qual os produtores vêm combatendo os efeitos nocivos provocados pela quebra do equilíbrio nas relações entre parasitos e hospedeiros (HASSUM, 2008).

O presente trabalho tem como objetivo identificar e quantificar larvas de tricostrongilídeos em estágio infectante oriundas de fezes de ovinos obtidas pelo método de coprocultura.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias da Unidade de Ensino Superior Vale do Iguaçu (UNIGUAÇÚ) no curso de Medicina Veterinária na fazenda experimental da instituição e no laboratório de parasitologia entre os meses de março de 2009 a junho de 2009.

Foram utilizados seis ovinos compreendendo três machos e três fêmeas, sendo uma prenhe, todos os animais sem raça definida, com idades entre um e cinco anos, infectados naturalmente. Os animais haviam chegado à fazenda duas semanas antes do início do experimento e estavam sendo criados semi-intensivamente.

A condição dos animais foi avaliada por métodos visuais que compreenderam a visualização da dentição para calcular a idade em valor aproximado, condições de escore corporal, mucosas (método Famacha©) e cascos.

As amostras de fezes foram coletadas e depositadas em sacos plásticos individualmente e armazenadas em um recipiente com gelo, a coleta foi diretamente da ampola retal dos animais, retirando aproximadamente 15g de fezes de cada um. Foram feitas duas coletas durante o estudo.

Os exames coproparasitológicos foram realizados imediatamente após a coleta das amostras fecais. Uma porção das fezes foram destinadas para a contagem dos ovos por OPG, utilizando a técnica de Mac Máster modificada (GORDON & WHITLOCK, 1939). Para o cultivo das larvas de nematóides gastrintestinais foi utilizado a técnica de Roberts e O’ Sullivan, (1950) do método de coprocultura. Misturou-se uma parte de fezes e uma parte de serragem umedecida e colocado em um recipiente de vidro forrado com papel para manter a umidade da cultura e coberto com filme de PVC; sendo efetuados orifícios pequenos no filme para aeração dos cultivos. Os cultivos foram deixados em temperatura ambiente de média de 15 à 24°C, sendo mexidos e umidificados a cada três dias.

No décimo quinto dia da realização de cada coprocultura foi realizado o método de Baermann modificado (CORT et al., 1922), que se baseia na sedimentação das larvas infectantes por termotropismo, hidrotropismo e geotropismo das larvas. Após esse procedimento foi coletado 0,5 mL do sedimento do tamis com uma pipeta de Pasteur, depositado em uma lâmina de vidro e visualizado no microscópio a 10x para a confirmação de presença de larvas. Após obter a confirmação da presença das larvas na lâmina foi coletado aproximadamente 5 mL do sedimento do tamis e centrifugado a uma velocidade de 1.500 rpm por três minutos, retirado o sobrenadante do tubo e o sedimento depositado em uma lâmina para a visualização no microscópio em uma objetiva de 10x para a contagem e identificação das larvas infectantes. O processo de identificação e contagem das larvas foram feitas separadamente por coleta e por animal.

As larvas infectantes foram identificadas pela chave de identificação “Caracteres das larvas de terceiro estágio de nematódeos de ruminantes” de UENO & GONÇALVES (1994),

VAN WYK et al. (2004) e GIBBSONS et al. (2005). A diferenciação dos gêneros dos parasitos compreendeu no formato e tamanho da cauda. O gênero *Haemonchus* sp. com a cauda de tamanho médio apresentando um pequeno sinal de trancamento na bainha no fim da cauda. No gênero *Trichostrongylus* sp. o tamanho da cauda é curto sem o sinal de trancamento na bainha no fim da cauda, sendo uma cauda levemente afilada em comparação ao gênero *Haemonchus* sp.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os resultados obtidos durante o período de estudo, observou-se que 67% dos ovinos apresentaram, segundo o exame de OPG, ovos de tricostrongilídeos nas fezes e 100% dos animais apresentaram larvas de tricostrongilídeos depois de realizada a coprocultura.

O gênero *Haemonchus* foi o nematóide que mais predominou na identificação e quantificação das coproculturas, no gênero *Trichostrongylus* houve poucas larvas. De um total de 1.861 (100%) larvas contadas; 1.816 (97,6%) foram do gênero *Haemonchus* sp., concordando com VIEIRA et al. (2005), e 44 larvas (2,4%) do gênero *Trichostrongylus* sp. e 1 (0,1%) larva não identificada por estar deformada. Deve-se levar em consideração a alta patogenicidade do *Haemonchus* sp., pois praticamente toda infecção é causada por esse parasito. Uma infecção por 2.000 vermes pode levar a perda de 5% a 7% do volume de sangue do animal por dia (ANDERSON, 1982).

Avaliando o resultado de OPG com a coprocultura tem-se correlação de 0,3. No resultado da primeira coleta, um animal apresentou elevada relação entre o número do OPG (1.260) e o número de larvas identificadas (952). Apesar do OPG estar elevado, a classificação do Famacha estava normal para suas condições físicas.

Em dois animais, apesar de estarem com OPG elevado, foram encontradas poucas larvas na coprocultura. Um deles apresentava valor de OPG 100% maior que o outro, e ambos foram avaliados como Famacha 2, considerado normal. Esse fato concorda com resultados de VIEIRA et al. (2005) que mesmo os animais com contagens de OPG acima de 1.500 não necessitaram tratamento de acordo com as avaliações da conjuntiva, o que indica a presença de animais resilientes dentro do rebanho. Concorda também com MOLENTO et al. (2004), que relatam que animais com OPG acima de 1.500 não apresentaram sinais clínicos de anemia.

Na segunda coleta, considerando os resultados da primeira, 100% dos animais diminuíram o valor do OPG sem desverminação. A fêmea prenhe apresentou o maior

aumento de numero de larvas nessa avaliação (652). De acordo com AMARANTE et al. (1992) deve se ter um cuidado redobrado em fêmeas de final de gestação evitando perdas devido à verminoses. Neste estudo foi necessário tratar o animal acometido.

A diminuição do OPG e das larvas para alguns animais na segunda coleta pode estar relacionada à melhora de oferta na alimentação e ao tempo de permanência dos animais na propriedade onde, na primeira avaliação eram recém-chegados. Também se deve levar em consideração fatores climáticos e manejo (VIEIRA et al., 2005).

CONCLUSÃO

Conclui-se que a maior predominância de parasitos gastrintestinais dos animais do estudo é do gênero *Haemonchus* sp., sendo esse parasito de grande importância nas perdas econômicas ocasionando mortalidade de animais pela anemia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M. R. et al. Eliminação de ovos de nematódeos gastrintestinais por ovelhas de quatro raças durante diferentes fases reprodutivas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.27, n.1, p. 47-51, 1992.

ANDERSON, N. Internal parasites of sheep and goats. In: COOP, I.E. (ed). Sheep and goat production. **World Animal Science**, C1. Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier, p.175-191, 1982.

CORT, W. W.; ACKERT, J. E.; AUGUSTINE, D. L.; PAYNE, F. K. Investigations on the control of hookworm disease. II. The description of an apparatus for isolating infective hookworm larvae from soil. **American Journal of Hygiene**, Baltimore, v. 2, n. 1, p. 1-16, 1922.

FOREYT, W. J. **Parasitologia veterinária: manual de referência**, 5.ed. São Paulo: Roca, 2005.

GIBBONS, L. M.; JACOBS, D. E.; FOX, M. T.; HANSEN, J. The Royal Veterinary College and Food and Agriculture Organization of the United Nations guide to veterinary diagnostic parasitology. 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/againfo/resources/it/multimedia.html>. Acesso em dezembro de 2005 a janeiro de 2006.

GORDON, H. M.; WITHLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, Melbourne, v.12, p. 50-52, 1939.

HASSUM, I. C. **Ocorrência de parasitismo por nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos oriundos de duas propriedades rurais no distrito de Palmas, Bagé/RS: dados preliminares.** Embrapa Pecuária Sul, Bagé, 2008.

MOLENTO, M. B.; TASCA, C.; GALLO, A.; FERREIRA, M.; BONONI, R.; STECCA, E. Método Famacha® como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1139-1145, 2004.

ROBERT, F. H. S.; O’SULLIVAN, P. J. Methods for eggs counts and larval cultures for Strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 1, n.1, p. 99-192, 1950.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes.** 3.ed. Tóquio, 1994. 84p.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia veterinária.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VAN WYK, J. A.; CABARET, J.; MICHAEL, L. M. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 119, p. 277–306, 2004.

VIEIRA, M. I.; OLIVEIRA, I. S.; ROCHA, H. C.; SCHUH, D.; ROSA, F.; MORAES, R. B.; LUCHEZI, V. Z.; SILVA, J. G. Controle seletivo do *Haemonchus contortus* em ovinos através do Método Famacha®. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 57. 2005. Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, CE, SBPC, 2005.

CRIOCOCOSE EM OVINO – RELATO DE CASO

Saulo de Tarso Gusmão da Silva¹, José Cláudio de Almeida Souza², Marisa de Alencar Izael¹, Franklin Riet-Correa³, Roseana Portela⁴, Antônio Flávio Dantas⁴, Carla Lopes de Mendonça⁵,
José Augusto Bastos Afonso⁵.

1. Médico Veterinário Residente, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns-PE, UFRPE.

2. Médico Veterinário, Doutor, professor da Unidade Acadêmica de Garanhuns-PE, UFRPE.

3. Médico Veterinário, Doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Campus Patos-PB, UFCG.

4. Médica Veterinária, aluna do PPMV, Campus Patus-PB, UFCG.

5. Médico Veterinário, Doutor, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns-PE, UFRPE.

E-mail: cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Doenças fungicas, fungo, ruminante.

ABSTRACT

CRYPTOCOCCOSIS IN SHEEP: CASE REPORT

This study reports the clinical and anatomopathological findings of nasal cryptococcosis in a male Santa Inês sheep aged two and a half years old. It was treated at Garanhuns Bovine Clinic in Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brazil. The animal presented some increased volume on the inside of the right nasal cavity. Physical examination revealed penetration of granulation tissue with hemorrhagic appearance. Tachypnea, snoring, and dyspnea were also observed. Anatomopathological findings revealed the infiltration of a wrinkled, pendulous mass, which compromised the septum and caused partial occlusion to the left cavity. Microscopic analysis detected necrotizing, granulomatous rhinitis with inflammatory cells – mainly macrophages, lymphocytes and plasmacytes – and areas of necrosis. An Alcian blue- and PAS-positive mucinous capsule, a halo that resembled soap bubbles, surrounded the round or oval yeast-like structures (HxE). Results suggest that greater attention should be given to cryptococcosis as regards sheep breeding.

KEYWORDS: Fungal disease, fungus, ovine.

INTRODUÇÃO

A criptococose é uma infecção fúngica sistêmica, considerada incomum, potencialmente fatal, que acomete mamíferos como o homem, cães, gatos, eqüinos, bem como pássaros, répteis e alguns invertebrados. É uma doença de caráter oportunista, causada

pela levedura encapsulada *Cryptococcus neoformans*, a qual possui tropismo pelo sistema nervoso central (SNC), respiratório, tegumentar, sendo descrito também como causa de mastites em bovinos. O comprometimento da resposta imune é o principal fator predisponente para a ocorrência da doença. Fatores como debilidade, desnutrição, uso prolongado de corticosteróides e infecções virais (ex. vírus da imunodeficiência e da leucemia felina e o HIV em humanos) têm sido associados à criptococose (CARLTON & McGAVIN, 1998; MARCASSO et al., 2005; KOMMERS et al., 2005; RODRÍGUEZ et al., 2006; RADOSTITS et al., 2007; RIET-CORREA et al., 2007).

A criptococose tem distribuição mundial e afeta pessoas e animais; o gato é a espécie doméstica mais comumente afetada. O *C. neoformans* é cosmopolita isolado do solo, de detritos de árvores, de frutas, da mucosa oronasal e da pele de animais e pessoas saudáveis e, principalmente, do solo rico em excretas de aves, particularmente de pombos (MARCASSO et al., 2005). A infecção, assim como a maioria das doenças pulmonares causadas por fungos, é adquirida por inalação de poeira contaminada; o diâmetro dos esporos é pequeno suficiente para permitir a penetração em vias aéreas distais e alvéolos, podendo afetar principalmente o trato respiratório superior ou inferior, mas pode ocasionalmente ocorrer de forma disseminada (JUBB & KENNEDY, 1993; KOMMERS et al., 2005; QUINN et al., 2005; RODRÍGUEZ et al., 2006; SMITH, 2006).

As fezes de aves são fonte de infecção e os pombos assumem papel importante como reservatório do *C. neoformans* var. *neoformans* no ambiente urbano. Essas variedades são mais comuns em indivíduos imunocomprometidos. O *C. gattii* ocupa um *habitat* específico. Em gatos, a doença é comum (QUINN et al., 2005; JULIANO et al., 2006) e menos freqüente em cães, causando nestas espécies infecções respiratórias, cutâneas, nervosas e oculares.

Embora ocorra ocasionalmente em cavalos, a infecção por *C. neoformans* tem sido associada principalmente à rinite (ROBERTS et al., 1981; ZOPPA et al., 2008) e meningite (SUMMERS et al., 1995; QUINN et al., 2005), ou associada com encefalite, granuloma nasal, pneumonia, aborto com placentite micótica e pneumonia no feto (RILEY et al., 1992; MURPHY et al., 1996; JONES et al., 2000; KOMMERS et al., 2005; QUINN et al., 2005). KHADAKARAM-TAFTI & DEHGHANI (2006) descreveram um caso de *cryptococcus* sp. na pele e tecido subcutâneo em um jumento. Em animais de produção a doença foi descrita pela primeira vez em caprino no Brasil por DACORSO & CHAGAS (1957). RODRÍGUEZ et al. (2006) relataram surtos epidêmicos de *Cryptococcus gattii*, em cabras, com pneumonia e encefalite e LEMOS et al. (2007) descreveram um caso de lesão pulmonar em ovino abatido

para consumo. Embora, nos bovinos, a infecção por *Cryptococcus neoformans* ocorra raramente (SUMMERS et al., 1995) a doença foi relatada em um caso de meningoencefalite por RIET-CORREA et al. (2009).

O objetivo deste trabalho foi relatar os achados clínicos e anatomopatológicos de um caso de criptococose nasal em um ovino.

MATERIAL MÉTODOS

Os achados foram obtidos a partir do atendimento clínico de um ovino, macho, raça Santa Inês, de dois anos e meio, pesando noventa e oito quilos, internado na Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/UFRPE, com histórico de que há aproximadamente 15 dias havia traumatizado a cabeça junto a uma cerca e que há 10 dias apareceu com um aumento de volume na região interna da cavidade nasal direita. O exame clínico foi realizado seguindo a metodologia de DIFFAY et al. (2004). Fragmentos de diferentes regiões do espécime foram coletados e fixados em formol a 10% tamponado, processados, embebidos em parafina, cortados a 5µm e corados pelo método de hematoxilina-eosina(HxE), ácido periódico de Schiff (PAS) e alcian blue e examinados.

RESULTADOS

Ao exame físico o animal estava alerta, apresentando conjuntivas congestas, linfonodos submandibulares e pré-escapular direito aumentados. À percussão do seio nasal apresentou som abafado na região frontal próximo a narina. Notou-se a presença de tecido de granulação bastante hemorrágico que adentrava na cavidade nasal direita. O animal apresentava taquipnéia com polipnéia, som de ronco na inspiração, dispnéia inspiratória. O animal era vacinado contra clostridioses e era vermifugado. Ao exame da cavidade nasal observou-se uma massa pendular de aspecto rugoso, que ocupava grande parte do conduto nasal direito, comprimindo o septo e ocasionando oclusão parcial da cavidade nasal esquerda.

O animal permaneceu 31 dias na clínica e durante este período apresentou diminuição de apetite, graus variáveis de desidratação, área de alopecia na região do seio nasal e amolecimento da estrutura óssea nasal. A função respiratória variou desde o padrão respiratório abdominal, com presença de ruídos, dispnéia inspiratória, crepitações pulmonares, tosse esporádica, momentos de apnéia, secreção nasal muco-purulenta e fétida.

Foi estabelecido um protocolo, com intuito de remissão da massa nodular, onde foi infiltrado 5ml de formol a 10% na mesma, havendo discreto ressecamento do tecido de

granulação. O animal foi submetido a uma cobertura antibiótica a base de penicilina, em intervalos de 24/24h, recebendo ainda três aplicações de dexametasona. Foi feita a limpeza diária da narina com água boricada, massagem com dimetilsufóxido no seio e nebulização diária, porém sem resultados satisfatórios.

Diante do quadro de insucesso na terapia, optou-se por um procedimento de retirada da massa proeminente, submetendo o animal a jejum prévio de 24h e tranquilização com 0,05mg/kg de acepromazina. Em decorrência da gravidade quadro clínico e do comprometimento da função respiratória, o animal veio a óbito durante o procedimento, sendo encaminhado para necropsia.

No exame macroscópico das cavidades nasais foi observado uma massa clara, medindo cerca de 25cm de comprimento, de forma irregular, de aspecto gelatinoso, de consistência friável e superfície com formações de nódulos polipóides. Esta massa originava-se na mucosa nasal direita e se infiltrava nas estruturas adjacentes, estendendo-se por todo o meato nasal direito (meato nasal dorsal, médio e ventral) até o labirinto etmoidal, causando deformidade facial e obstrução do fluxo de ar. Notou-se, ainda, a ausência do osso nasal direito e das conchas nasais (dorsal e média). Os demais órgãos não apresentaram lesões dignas de nota.

Microscopicamente observou-se rinite granulomatosa, necrosante, localmente extensa, acentuada, caracterizada por infiltrado inflamatório mononuclear, constituído predominantemente por macrófagos, além de alguns linfócitos e plasmócitos. Associado a inflamação havia áreas extensas de necrose e miríades de estruturas arredondadas ou ovaladas leveduriformes, com parede fina coradas basofílicas, medindo aproximadamente de 5,0 a 20 µm de diâmetro. Circundando as leveduras verificou-se um halo claro não corado pela hematoxilina e eosina, dando um aspecto característico de "bolha de sabão", que corresponde à cápsula mucinosa corada pelo alcian blue e PAS. Observou-se também moderada proliferação de tecido conjuntivo fibroso e áreas de hemorragia e neutrófilos na periferia da lesão.

DISCUSSÃO

Embora a criptococose acometa principalmente as espécies mais susceptíveis como cães e gatos, e devido ao fato do *Cryptococcus* spp ser isolado em excretas de pombos, estes têm um papel importante como reservatório do agente no ambiente urbano. A levedura costuma ser encontrada também no solo, em frutas, na mucosa oronasal e na pele de

indivíduos sadios, além do seu isolamento em árvores típicas das matas das regiões Norte e Nordeste, favorecendo a sua disseminação em espécies com hábitos olfativos como os herbívoros (MARCASSO et al., 2005; JULIANO et al., 2006).

Segundo RODRÍGUEZ et al. (2006) é provável que o grande número de casos diagnosticados em cães e gatos seja devido a presença de sinais clínicos evidentes, ao contrário de outras espécies como os bovinos, os cavalos, as ovelhas e as cabras onde a limitação do diagnóstico se baseia nos achados anatomopatológicos. Outro aspecto de interesse é o achado de cães e gatos assintomáticos e portadores do *C. gatti*, colonizando-o no sinus nasal. Esta situação parece ser um fator de risco para criptococose progressiva nestes animais (RODRÍGUEZ et al., 2006).

Os achados clínicos observados no trato respiratório superior neste caso estão de acordo com a literatura que relata um quadro de polipnéia e dificuldade na passagem do ar. Conforme observação de RODRÍGUEZ et al. (2006), apesar destes achados estarem na maioria das vezes acompanhados de pneumonia crônica, emaciação e até sintomas neurológicos, neste trabalho as alterações limitaram-se ao trato respiratório superior. Segundo LEMOS et al. (2007) a presença da criptococose pulmonar sugere o trato respiratório como principal via de infecção pela inalação do agente.

O aspecto gelatinoso, as formações polipóides observadas na mucosa da cavidade nasal e os achados histopatológicos são pertinentes com as descritas por JUBB & KENNEDY (1993), CARLTON & McGAVIN (1998) e JONES et al. (2000). A deformação da cavidade nasal observada provocando a obstrução do fluxo de ar no animal em estudo, foi também relatada por JONES et al. (2000).

CONCLUSÃO

Este relato ressalta a importância do conhecimento das doenças fungicas, pois no caso da criptococose, os sinais clínicos em animais de produção, como os ovinos, são pouco evidentes, sendo muitas vezes um achado incidental no exame necroscópico ou agravamento de origem secundária em casos de animais imunocomprometidos.

REFERÊNCIAS

CARLTON, W.W.; McGAVIN, M.D. **Patologia especial de Thompson**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. 672 p.

DACORSO, F. P.; CHAGAS, W. A. Criptococose pulmonar em caprino. **Anais. Col. Anat.Bras.** v. 3, p. 55-69, 1957.

DIFFAY B. C., MCKENZIE D., WOLF C., et al. Abordagem e exame de ovinos e caprinos.. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, p. 1-19. 2004.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415 p.

JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, 3v. 1993.

JULIANO, R. S.; SOUZA, A. I.; SCHEIDE, R. Criptococose no sistema nervoso de cães - relato de três casos. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 1, p. 65-70, 2006.

KHUDAKARAM-TAFTI, A.; DEHGHANI, S. Cutaneous cryptococcosis in a donkey. **Comp. Clin. Pathol.** v. 15, p. 271-273, 2006.

KOMMERS, G. D.; SOUZA, T. M.; SOUTO, M. A. M.; DE LA CORTE, F. D.; BARROS, C. S. L. Criptococose pulmonar granulomatosa em um equino. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 938-940, 2005.

LEMONS, L. S.; SANTOS, A. S. O.; VIEIRA-DA-MOTA, O. TEXEIRA, G. N.; CARVALHO, E. C. Q. Pulmonary cryptococcosis in slaughtered sheep: Anatomopathology and culture. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 125, p. 350-354, 2007.

MARCASSO R. A.; S. SIERRA; M. VICKY B. ARIAS; A. P. F. R. L. BRACARENSE; A. A. M. YAMAMURA; F. BIASI; B. A. LOPES; A. M. AMUDE; D. E. A. CORTÊZ. Criptococose felina. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 229-238, abr./jun. 2005.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 511p.

RADOSTITS, M. O.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10.ed Saunders Elsevier, 2007. 2156p.

RILEY, C. B. et al. Cryptococcosis in seven horses. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.69, p.135-139, 1992.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J.R.J. **Doenças de ruminantes e equinos**. 3.ed, Santa Maria: Pallotti, 2007. 722p.

RIET-CORREA, F.; DANTAS, A. F. D.; OLIVEIRA, D. M.; MEDEIROS, R. M. T. First case of bovine cryptococcal meningoencephalitis. **Micopathologia** (prelo), 2009.

ROBERTS, M. C.; SUTTON, R. H.; LOVELL, D. K. A. protracted case of cryptococcal nasal granuloma in a stallion. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 57, p. 287–291, 1981.

RODRÍGUEZ, J. M. T.; MENDOZA, M.; RAMÍREZ, E. A.; ROCA, G. S. Cryptococcosis by *Cryptococcus gattii* in immunocompetent goats in Spain and review of the literature. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 34, n.3, p.245-253, 2006.

SUMMERS, B. A.; CUMMINGS, J.F.; LAHUNTA, A. **Veterinary neuropathology**. St. Louis: Mosby, 1995. 527p.

ZOPPA, A. L. V.; CRISPIM, R.; SINHORINI, I. L.; BENITES, N. R.; SILVA, L. C. L. C.; BACCARIN, R. Y. A. Obstrução nasal por granuloma fúngico em equino: relato de caso. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 315-321, 2008.

SOROPREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE EM OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS NOS MUNICÍPIOS DA GRANDE VITÓRIA – ES

Graziela Barioni¹, Pauliana Tesoline², Marcus Alexandre Vaillant Beltrame³, Livia Volpe
Pereira² e Marcos Vinicius Gumieiro⁴

1. Médica Veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Centro
Universitário Vila Velha. CEP 29102-770, Vila Velha, ES, Brasil.

E-mail: gbarioni@uvv.br (autor correspondente)

2. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha

3. Médico Veterinário, especialista, professora do Curso de Medicina Veterinária, Centro
Universitário Vila Velha

4. Médico Veterinário, autônomo no Estado do Espírito Santo

PALAVRAS - CHAVES: Doença parasitária, Espírito Santo, *Toxoplasma gondii*.

ABSTRACT

SEROPREVALENCE OF TOXOPLASMOSIS IN SANTA INÊS SHEEP IN GREATER VITÓRIA MUNICIPALITIES, ESPÍRITO SANTO

This study investigates anti-*Toxoplasma gondii* seroprevalence in Santa Inês sheep raised in different Greater Vitória municipalities in Espírito Santo State. Blood samples were obtained from 236 sheep raised in six farms in the municipalities of Vila Velha, Guarapari, Serra and Cariacica. The sera were submitted to indirect hemagglutination test (IHA) for detection of anti-T. gondii IgG antibodies. Prevalence of seroconversion was 38,5%. As regards age, seropositivity rates were 5,4% for young animals and 33% for adults. Some factors were identified as having direct influence on the occurrence of toxoplasmosis in sheep, such as the presence of cats, roaming of wild animals, and hygiene of premises in which animals are kept.

KEYWORDS: Espirito Santo, parasitic disease, *Toxoplasma gondii*.

INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário do filo Apicomplexa, pertencente à família Sarcocystidae, da classe Sporozoa, subclasse Coccidia, subordem Eimereina. Causa uma enfermidade chamada de toxoplasmose, o qual apresenta uma ampla faixa de hospedeiros intermediários incluindo o homem (COSTA et al., 2007).

De acordo com ESCOPELLI (2004) e PUGH (2004) a principal forma de contaminação para os pequenos ruminantes é pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados com fezes de gato contendo oocistos. URQUHART et al. (1998) e MEIRELES et al. (2003) mostraram que existe infecção intra-uterina, mas é rara.

A importância econômica da infecção toxoplasmática por ocasionar sinais reprodutivos e/ou produtivos em ovinos, como exemplo: causadores de abortos, mumificação fetal, ocorrência de natimortalidade e nascimento de cordeiros fracos (OGAWA, 2003; ESCOPELLI, 2004).

O diagnóstico da toxoplasmose é baseado na sorologia para detecção de anticorpos de diferentes classes de imunoglobulinas anti-*T. gondii*, porém os resultados devem ser interpretados concomitantemente à clínica do paciente (COSTA et al., 2007). Segundo TIZARD (2002) os métodos laboratoriais que evidenciam a presença de anticorpos para o diagnóstico da toxoplasmose são: a imunofluorescência indireta, a hemaglutinação passiva e os ensaios imunoenzimáticos (ELISA). Já para o diagnóstico definitivo da doença, é necessário o isolamento do protozoário da placenta ou de músculos, pulmão e cérebro do feto (PUGH, 2004).

A toxoplasmose é uma zoonose disseminada mundialmente e vem causando perdas reprodutivas nos rebanhos. Um outro fator a ser destacado é a importância da toxoplasmose para a saúde humana, onde os pequenos ruminantes assumem um importante papel na cadeia epidemiológica dessa doença, o que implica em problemas de saúde pública, uma vez que a ingestão da carne crua ou mal passada contendo bradizoitos facilita a transmissão zoonótica deste protozoário, tendo assim relevância para a medicina veterinária e humana (FORTES, 1997; URQUHART et al., 1998; PUGH, 2004; CARNEIRO, 2006).

Levantamentos sobre a distribuição mundial da toxoplasmose indicam que existe uma alta prevalência em algumas regiões, o que leva a um importante enfoque à doença. No Brasil as taxas de infecção em ovinos também são significativas, acometendo 39% dos ovinos abatidos no Estado do Rio Grande do Sul; 30,4% no Estado de São Paulo, e no Estado da Bahia 18,7% das amostras revelaram resultados positivos (QUEIROLO, 2009).

O objetivo deste trabalho foi estimar pela reação de hemaglutinação indireta (HAI), a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos criados na região da Grande Vitória no Estado do Espírito Santo (ES).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram testados 236 soros de ovinos, de seis propriedades rurais nos municípios que compõem a Grande Vitória. O sangue foi coletado através da venopunção da veia jugular, usando tubos do tipo de coleta a vácuo. Após a coleta, o sangue foi encaminhados para o Laboratório de Microbiologia e Imunologia Veterinária do Centro Universitário Vila Velha (UVV) para centrifugação, obtenção do soro, armazenamento à -20°C até a realização do teste de hemaglutinação indireta (HAI) para a detecção de anticorpos (IgG) para o *Toxoplasma gondii* na diluição 1:16.

Em todas as propriedades foi aplicado um questionário abordando dados sobre as propriedades, dentre os quais: fonte de água; manejo alimentar, sanitário e reprodutivo; instalações; tipo de exploração; presença de gatos; bem como aspectos individuais de cada animal submetido à coleta de sangue (ex: idade e sexo).

A análise dos resultados encontrados nesta pesquisa foi realizado de forma descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 236 amostras analisadas das seis propriedades (divididas em propriedade A, B, C, D, E e F) em diferentes localidade da Grande Vitória, todas tiveram animais com reações consideradas positivas na diluição 1:16 tendo o índice de positividade no total analisado de 38,5%. Resultados semelhantes foram relatados por Larsson et al. (1980), SILVA et al. (2003), UENO (2005) e CARNEIRO (2006).

Em função da faixa etária dos animais, encontrando 33% de positividade em animais adultos e 5,4% em animais jovens, resultados semelhantes foram achados por OGAWA (2003) e CARNEIRO (2006). Foi constatada maior ocorrência nos animais adultos, indicando que a infecção horizontal é a mais importante, o que sugere que animais adultos estiveram por mais tempo em contato com as possíveis vias de infecção do parasito, resultando em maior chance de se infectarem do que os mais jovens.

A alta incidência de resultados positivos da propriedade A (86,7%), pode estar diretamente ligada aos indícios da transmissão da toxoplasmose, tais como a presença de gatos nas instalações e nos pastos onde estes se apresentavam pouco alagados, aumentado a distribuição de oocisto nas pastagens. Outro fator a ser considerado, é a eliminação dos restos abortados, pois estes são jogados no lixo, propiciando a contaminação dos ratos, assim contaminando também os gatos que os caçavam. Consideração ainda, a alta rotatividade de animais desta propriedade, sem a realização de quarentena e nem a realização de exames,

propiciando a entrada das doenças nesta propriedade, através dos restos abortados podendo estes estarem infectados e serem ingeridos pelos hospedeiros intermediários.

Na propriedade B encontramos 20% de sororeagentes do total analisado, devido ao fato da preocupação da higienização das instalações e cochos que é feita de forma mais rigorosa, pode ter evitado o contato com os oocistos, apesar da presença de gatos, tendo acesso às instalações/ cocho/ pasto. A contaminação pode estar ocorrendo pela existência de matas nas proximidades com uma variedade de animais silvestres, bem como pela alimentação com pastagem e/ ou capim picado, pois o capim era colocado no chão antes de ser picado, podendo ser contaminado com os oocistos.

Os achados não são muito surpreendentes na propriedade C com 76,7%, devido um grande número de fatores predisponentes presentes nesta propriedade. A presença de grande quantidade de gatos em contato direto com os ovinos (instalações/ cochos/ pasto), associada ao chão das instalações serem de areia, servindo local para os gatos defecarem, tornando-se assim, reservatório para os oocistos. Como neste local também ocorriam alguns partos, durante a limpeza dos borregos pelas mães essas acabam ingerindo areia. A fonte de água dos animais, adquirida por uma represa (água parada), o que pode facilitar a transmissão para os ovinos. BLOOD & RADOSTITS (1991) descrevem que presença de matas nas proximidades da sede e pastos favorecem a infecção da toxoplasmose pela existência de felinos silvestres. O destino dos restos abortados também é um fator a ser ressaltado, uma vez que muitas vezes não eram vistos, ficando exposto no ambiente facilitando a ingestão destes pelos felinos.

Alguns fatores devem ser apontados para explicar a prevalência de 7,9% da toxoplasmose na propriedade D apesar da presença de gatos os piquetes não eram próximos da sede (onde os gatos ficavam); a alimentação dos ovinos exclusivamente a pasto; a inexistência de matas nas proximidades da propriedade, e o fato dos gatos serem mais velhos e muito bem alimentados pelos tratadores, portanto estes não tinham hábitos de caça seguido pela ingestão desta caça..

O resultado de 20% de animais positivos encontrado na propriedade E podem ter sido influenciados diretamente por grande parte dos animais testados terem sido adquiridos da propriedade C, local de maior ocorrência de soropositivos. Ressalta-se que a presença de gatos na propriedade pode ter colaborado para o número de animais positivos na propriedade E.

Na propriedade F apesar da não presença de gatos, não havia ocorrência de aborto nem a existência de matas nas proximidades, porém havia uma vila próxima à propriedade, tendo nesta presença de gatos, o que pode ter levando a prevalência de 12,5% de animais positivos.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos no presente trabalho permitem concluir que a prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* os soros de ovinos da região da Grande Vitória foi de 38,5% pela técnica de hemaglutinação indireta. Portanto, os ovinos abatidos na região da grande vitória podem ser considerados fontes de transmissão da toxoplasmose pra humanos, uma vez que a carne contaminada for consumida crua ou mal cozida.

REFERÊNCIAS

CARNEIRO, A. C. A. V. **Soroepidemiologia da toxoplasmose caprina e ovina no Estado de Minas Gerais**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

COSTA, T. L.; SILVA, M. G.; RODRIGUES, M. X.; BARABARESCO, A. A.; AVELINO, A. M. de. **Diagnostico clinico e laboratorial da toxoplasmose**. News Lab. Ed. 85. 2007.

ESCOPELLI, K. S. **Avaliação sorológica de anticorpos da classe de IgG para *Toxoplasma gondii* em soros de ovinos da região da grande Porto Alegre/RS, através das técnicas de hemaglutinação indireta (HAI) e imunofluorescência indireta (IFI)**. 2004. 94f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. 3 ed. São Paulo: Ícone, 1997.

LARSSON, C. E.; JAMRA, L. M. F.; GUIMARÃES, E. C.; PATTOLI, D. B. G.; SILVA, H. L. L. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiana, RS, Brasil. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 14, p. 582-588, 1980.

MEIRELES, L. R.; GALISTEU JR, A. J.; ANDRADE, H. F. Serological survey pf antibodies to *Toxoplasma gondii* in food animals from São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 267-271, 2003.

OGAWA, L.; NAVARRO, I. T.; FREIRE, R. L.; OLIVEIRA, R. C.; VIDOTTO, O.; Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos da região de londrina no Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 57-62. 2003.

PUGH, D. G. **Clinica de ovinos e caprinos**. São Paulo. Roca, 2004.

QUEIROLO, M. T. C.; Toxoplasmose é assunto serio. **O Berro**, n. 119, p. 120-122, 2009.

SILVA, A. V.; CUNHA, E. L. P.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; MOTA, R. A.; LANGONI, H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas

regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p.115-119, 2003.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: Uma introdução**. 5.ed. São Paulo: Roca, 1998.

UENO, T. E. H., **Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil**. São Paulo, 2005. 104f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA TOXOPLASMOSE EM OVINOS NA ILHA DE SÃO LUÍS-MA

Vívian Magalhães Brandão¹, Francisco Borges da Costa¹, Iran Alves da Silva¹, Daniela Franco da Silva², Isabel Cristina L. Dias², Solange M. Gennari³, José Ricardo Soares Telles de Souza⁴, Maria Inez Santos Silva⁵

1. Mestre em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão
2. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão
3. Médica Veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo
4. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Zootecnia, Universidade Estadual do Maranhão
5. Médica Veterinária, doutora, professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão E-mail: vetvivian@hotmail.com (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Frequência, pequenos ruminantes, toxoplasmose

ABSTRACT

SEROEPIDEMIOLOGICAL SURVEY OF TOXOPLASMOSIS IN SHEEP ON THE ISLAND OF SÃO LUIS, MARANHÃO

Toxoplasmosis is a disease transmitted to animals by contaminated food. It affects several species, but mainly small ruminants, causing miscarriages and congenital disorders. This study assesses prevalence and risk factors of anti-*T. gondii* infection in goat herds on the island of São Luís, Maranhão. Serum samples from 161 sheep were tested by indirect immunofluorescence (IIF) for detection of *T. gondii* antibodies. An agglutination titre at a 1:64 dilution was considered as a cut-off level. Results revealed an estimated prevalence of 23% (95% CI = 17,90% - 30,6%). Furthermore, 8 (88,9%) out of 9 properties showed seropositive samples. Factors associated with sheep infection were: water source, nipple drinking system, and reproductive disorders.

KEYWORDS: Frequency, small ruminants, toxoplasmosis.

INTRODUÇÃO

A primeira descrição do *Toxoplasma gondii* em ovinos foi em 1942 por OLAFSON & MONLUX, e desde 1954, trabalhos têm demonstrado a importância econômica desta infecção em ovinos como causa de abortos e natimortos (UNDERWOOD & ROOK, 1992).

A infecção nos ovinos ocorre, principalmente, através da ingestão de oocistos esporulados presentes nos alimentos (COUTINHO et al., 1982). Clinicamente a toxoplasmose em ovinos é assintomática, porém em ovelhas não imunes que adquirem a infecção durante a prenhez, podem desenvolver distúrbios reprodutivos causados pelo *T. gondii*, causando perdas econômicas consideráveis (DUBEY & CARPENTER, 1993). Após um período de doença aguda, o *T. gondii* desenvolve a forma cística em músculos, cérebro e outros órgãos (DUBEY, 1980). Essa forma evolutiva do parasito constitui a principal fonte de infecção para o homem, que pode se infectar através da ingestão de carne ou vísceras cruas ou mal cozidas contendo cistos do *T. gondii* (NAVARRO et al., 1992).

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área, amostragem e colheita do material

Para calcular o tamanho da amostra utilizou-se prevalência esperada de 35,3% (SILVA et al., 2003), de acordo com precisão absoluta desejada de 0,10 e nível de confiança de 99% (CANNON & ROE, 1982). Foram colhidas 161 amostras sanguíneas de nove propriedades da ilha de São Luís, por meio da venopunção da jugular. As amostras foram centrifugadas e os soros armazenados à -20°C até a realização dos testes sorológicos. A amostragem utilizada foi por conveniência definida como: 30,0 % de cada faixa etária; compreendendo animais com idade igual ou inferior a 12 meses e acima de 12, dentre machos e fêmeas e grupo raciais distintos. Utilizou-se questionário epidemiológico para obter informações sobre características individuais dos animais e relativas às propriedades.

Reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

Os soros foram analisados pela RIFI para detecção de anticorpos contra o *T. gondii*, de acordo com CAMARGO (1974), testados inicialmente a uma diluição de 1:64, em lâminas previamente sensibilizadas (IMUNODOT®), incubadas por 30 min a 37°C, e lavadas com PBS (pH 7,2). Utilizou-se conjugado anti-sheep IgG (Sigma F7367) diluídos em 1:600, em solução de PBS 7,2 contendo azul de Evans 0,01%. As reações foram consideradas positivas quando os taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total em 50% dos taquizoítos no campo observado, na diluição $\geq 1:64$ (FIGLIUOLO et al., 2004). As amostras de soro reagentes foram tituladas na base quatro até a obtenção da diluição 1:16.834 positiva na RIFI.

Análise estatística

As variáveis foram analisadas pelo teste Qui-quadrado (X^2), corrigidas por Yates, quando não possível, pelo teste exato de Fisher e Qui-quadrado por independência, utilizando-

se o Programa Epi Info (CDC, versão 3.4.3). Associações entre variáveis e frequência de soropositivos foram estimadas a partir do nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e pela Odds Ratio (OR), com intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 161 amostras séricas colhidas de ovinos da ilha de São Luís, MA, testadas pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para *T. gondii*, estimou-se prevalência de 23,00% (37/161) [95% IC=17,90%-30,60%]. A prevalência estimada neste estudo foi superior à registrada por GORMAN et al. (1999) no Chile, 12,0% de soropositivos ao *T. gondii* e por MOURA et al. (2007), 7,0% em Garapuava, PR. Resultados superiores foram estimados por SHARIF et al. (2006), 35% em Mazandaram, Irã e SHAPPAN et al. (2008) no Cairo - Egito, 37% de reagentes. No Brasil resultados superiores foram estimados por SILVA et al. (2003) que detectaram 35,3% em Pernambuco, ROMANELLI et al. (2006) em Garapuava, PR, 51,5% soropositivos e por CLEMENTINO et al. (2007), em Lajes, RN, 29,41%. As diferenças observadas podem ser devido à técnica utilizada no diagnóstico das diferentes regiões, a presenças dos felinos nas explorações, a idades dos animais e as variações climáticas de uma região para outra (DUBEY, 1990).

Em relação às nove propriedades estudadas, verificou-se que oito (88,90%) apresentaram amostras reagentes, evidenciando que o *T. gondii* é um patógeno que se encontra difundido em propriedades de ovinos da ilha de São Luís, MA.

Os títulos variaram de 64 a 4.096, obtendo - se 40,50% de amostras reagentes para título de 256 e nenhuma amostra reagente para o título de 16.834. UENO (2005) em seu estudo observou títulos variando de 64 a 65536 através da RIFI, e o título de maior frequência foi o de 2048 (21,15%).

As variáveis sexo, faixa etária e grupo racial não apresentaram associação significativa ($p > 0,05$) com a infecção. GORMAN et al. (1999) também não verificaram associação entre sexo. SILVA et al. (2003) verificaram diferença significativa para sexo, com maior frequência de machos soropositivos em relação às fêmeas. Em relação à faixa etária, GORMAN et al. (1999) evidenciaram que ovinos adultos apresentaram soropositividade maior que jovens, corroborando com DUBEY et al. (1988), que sugeriram que os animais adultos que estiveram por mais tempo em contato com as possíveis fontes de infecção do *T. gondii*, resultando em maior chance de se infectarem. No que diz respeito ao grupo racial, SILVA et al. (2003) verificaram maiores taxas de infecção em animais mestiços (40,48%) de

amostras reagentes, resultados estatisticamente significativos, podendo este comportamento ser devido ao menor cuidado no manejo higiênico-sanitário das criações de animais mestiços.

Em relação à fonte de água da propriedade a que apresentou maior frequência, foram propriedades com fonte de água tratada, 34,78% (OR=2,39) ($p<0,05$). Portanto, deve-se evitar o acesso a reservatórios de água por felinos (DUBEY, 2004), evidenciando a possibilidade de felinos defecarem próximos a reservatórios de água, onde não existe proteção. Assim, os oocistos podem ser carregados a longas distâncias pelo vento ou pela água como também através da contaminação por vetores mecânicos. ROMANELLI et al. (2006) em seu estudo, relataram que houve associação entre fonte de água e infecção, verificando que 35,08% soropositivos eram provenientes de propriedades onde a água era oriunda de minas. Propriedades que fornecem água em bebedouros tipo balde apresentaram frequência de 28,20% de soropositivos (OR=3,92) ($p<0,05$). Esse tipo de bebedouro provavelmente pode facilitar a contaminação da água por oocistos, por não possuírem proteção, diferente de bebedouros automáticos que possuem um sistema fechado.

Apesar de não se ter verificado associação significativa entre a variável presença de gatos na propriedade com a infecção, a soropositividade foi maior em rebanhos onde o gato se fazia presente, 28,38% (OR=1,76) ($p>0,05$), corroborando com Segundo VESCO et al. (2007), ovinos oriundos de propriedades com presença de gatos apresentam maior frequência de anticorpos anti-*T. gondii*, quando comparados com propriedades que não possuem.

Assim como ROMANELLI et al. (2006) que verificaram associação da infecção por *T.gondii* com problemas reprodutivos, onde a maior frequência foi em fêmeas no terço final da gestação, 29,18% de soropositivos, no presente estudo verificou-se associação significativa para abortamento (29,50%) ($p<0,05$), sendo que em propriedades onde há histórico de abortamentos, o risco da infecção é 2,89 maior que em propriedades onde não há histórico.

As mudanças relativas à demanda do mercado fazem com que estudos mais detalhados da cadeia produtiva na criação de caprinos e ovinos sejam realizados. Desta forma a pesquisa das doenças que acometem tais rebanhos têm sido intensificada, trazendo informações importantes para a prevenção e ocorrência de zoonoses.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pôde-se concluir que a prevalência de anticorpos anti - *T. gondii* foi considerada alta em rebanhos ovinos da ilha de São Luís, MA. As variáveis

fonte de água na propriedade, tipo de bebedouro e distúrbios reprodutivos foram associadas à infecção em ovinos. Portanto faz-se necessário um planejamento de sanidade animal na cadeia de produção dessas espécies, e da conscientização dos produtores para as formas de controle desta enfermidade.

REFERÊNCIAS

- CAMARGO, M. E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia. Clínica**, Rio de Janeiro, v. 10, p. 143-169, 1974.
- CANNON, R. M; ROE, R. T. **Livestock diseases surveys** : a field manual for veterinarians. Canberra: Australian Government Publishing Service. 1982. 35p.
- CLEMENTINO, M. M., SOUZA, M. F., NETO, V. F. A . Seroprevalence and *Toxoplasma gondii* - IgG avidity in sheep from Lajes, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v 146, p. 199-203, 2007.
- COUTINHO, S. G.; LOBO, R.; DUTRA, G. Isolation of *Toxoplasma* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 68, n. 5, p. 866-868, 1982.
- DUBEY, J. P. Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.196, n. 2, p. 259-262, 1990.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis – A Waterborne Zoonosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 126, p. 57–72, 2004.
- DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L. Unidentified *Toxoplasma* like tissue cysts in the brains of three cats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 45, p. 319-321, 1993.
- FIGLIUOLO, L. P. C., KASAI, N., RAGOZO, A. M. A., DE PAULA, V. S. O., DIAS, R. A., SOUZA, S. L. P., GENNARI, S. M., Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 123, p. 161–166, 2004.
- GORMAN, T., ARANCIBIA, J.P., LORCA, M., HIRD, D., ALCAI'NO, H., Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (Llama pacas) in Chile. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 40, p. 143–149, 1999.
- MOURA, A. B. DE; OSAKI, S. C.; ZULPO, D. L.; MARANA, E. R. M.. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 16, p. 54-56, 2007.

ROMANELLI, P. R.; et al. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Parana' State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, Curitiba, v. 82, p. 202–207, 2007.

SHAAPAN, R. M., NAWAWI, F. A. EL; TAWFIK, M. A. A. Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sheep. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 153, p. 359–362, 2008.

SHARIF, A. M.; GHOLAMSH ZIAEI, I., DARYANI, H.; LAKTARASHI, A.; ZIAPOUR, B. S. P. B.; RAFIEI, A. C.; VAHEDI, M. C. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran, during 2005. **The Veterinary Journal**, London, v. 174, p. 422–424, 2007.

SILVA, A. V.; CUNHA, E. L. P; MEIRELES, L. R; GOTTSCHALK, S.; MOTA, R. A; LANGONI, H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soropidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 115-119, 2003.

TENTER, A. M; HECKEROTH, A. R; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

UENO, T. E. H. **Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil**. 2005. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade São Paulo, São Paulo.

UNDERWOOD, W. J.; ROOK, J. S. Toxoplasmosis infection in sheep. **The Compendium on Continued Education in Veterinary Practice**, New York, v. 14, n. 8, p. 1543-1549, 1992.

VESCO, G., BUFFOLANO, W., LA CHIUSA, S., MANCUSO, G., CARACAPPA, S., CHIANCA, A., VILLARI, S., CURRO, V., LIGA, F., PETERSEN, E.,. *Toxoplasma gondii* infections in sheep in Sicily, southern Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 146, p. 3–8, 2007.

AValiação de Indicadores Inflamatórios no Diagnóstico da Mastite Bovina

Alice Maria Melville Paiva Della Libera¹, Fernando Nogueira de Souza², Maiara Garcia Blagitz³, Camila Freitas Batista², Maurício Garcia⁴, Wanderley Pereira de Araújo⁵

1. Médica Veterinária, doutora, professora do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo- SP, Brasil, CEP 05508-270. E-mail: dellalibera@usp.br (autor correspondente).
2. Médico Veterinário, mestrando do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
3. Médica Veterinária, doutoranda do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
4. Médico Veterinário, doutor, MGAR Gestão e Tecnologia Educacional.
5. Médico Veterinário, doutor, professor do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

PALAVRAS-CHAVE: Doença bacteriana, inflamação, ruminante.

ABSTRACT

EVALUATION OF INFLAMMATORY INDICATORS IN THE DIAGNOSIS OF BOVINE MASTITIS

This study evaluates distinct inflammatory gene expressions in the diagnosis of mastitis. A total of 321 milk samples were tested for bacteriological analysis, of which 46,73% were positive. Further evidence included somatic cell count (SSC), the *California Mastitis Test* (CMT), pH levels, chloride content and electrical conductivity. Predictive values of inflammation were calculated based on bacteriologic examination as the gold standard test. SCC and the CMT proved to be the best predictors. Measurements of pH, chloride content, and electrical conductivity cannot be indicated to detect this disease.

KEYWORDS: Bacterial disease, inflammation, ruminant.

INTRODUÇÃO

A mastite é um processo inflamatório da mama usualmente causado por bactérias, sendo a doença de maior impacto econômico na pecuária leiteira mundial. Além disso, é a

principal causa de descarte de animais, e a prevenção e o tratamento desta enfermidade são responsáveis pela maior porcentagem do uso de antimicrobianos em rebanhos leiteiros.

A detecção definitiva da mastite é baseada no isolamento de patógenos através da coleta asséptica das amostras de leite. No entanto, o exame bacteriológico apresenta limitações devido à exigência de exames laboratoriais, tempo requerido para a cultura e custos. Ademais, os testes bacteriológicos nem sempre são confiáveis, já que o sucesso da cultura varia dependendo do tipo de microrganismo, metodologia de coleta e procedimentos laboratoriais (PYÖRÄLLÄ, 2003).

A mastite ocasiona mudanças na composição láctea, sendo sua extensão dependente da resposta inflamatória. As principais alterações na mama incluem a passagem de íons, proteínas e enzimas do sangue para o leite devido ao aumento da permeabilidade, invasão de fagócitos e redução da capacidade de síntese láctea da glândula. Alguns componentes são mais marcantes que outros podendo ser utilizados como uma ferramenta para a detecção do processo inflamatório (PYÖRÄLLÄ, 2003).

A precisão dos testes diagnósticos pode ser mensurada pela sensibilidade (SE), que é a proporção de animais doentes que são corretamente classificados como doentes, e pela especificidade (ES), que é denominada como a porcentagem de animais sadios que são devidamente enquadrados como sadios. Os valores preditivos positivos (VPP) e negativos (VPN) são definidos como probabilidades que um animal sadio ou doente apresenta de ser classificado, considerando a prevalência da doença na população estudada. Já, a razão de probabilidades (RP) é definida pelo aumento na probabilidade de um valor positivo seja um verdadeiro resultado positivo comparado com um animal não examinado. Assim, por exemplo, um valor de cinco da RP indica que os animais que apresentarem resultados acima do valor de corte estabelecido apresentam cinco vezes mais chances de ser realmente doente que um animal não testado.

Neste trabalho objetivou-se por meio das alterações do leite e na glândula mamária avaliar o desempenho de diferentes testes como CCS, CMT, concentração hidrogeniônica, conteúdo de cloretos e condutividade elétrica na predição da presença bacteriana em amostras lácteas, com o intuito de se estabelecer meios diagnósticos auxiliares na identificação da mastite infecciosa.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 321 amostras lácteas que foram submetidas à determinação da concentração hidrogeniônica, teor de cloretos, condutividade elétrica, CCS e CMT e exame microbiológico.

No exame bacteriológico, 10µl das amostras de leite foram semeadas em placa de Petri contendo ágar-sangue de carneiro (5 %) e incubadas a 37 °C por 24 e 48 horas, para posterior identificação dos microrganismos através de provas bioquímicas descritas por LENNETTE et al. (1985), seguida da classificação conforme critérios estabelecidos por KRIEG & HOLT (1994).

A determinação da concentração hidrogeniônica foi realizada em um pH-metro modelo B474 da Micronal® (Celm®, Barueri, Brasil). A mensuração da concentração de cloreto (925 Chloride Analyzer, Corning®, Nova Iorque, EUA) e a condutividade elétrica (CE) (Milk Checker®, Tóquio, Japão) foram realizadas em aparelhos utilizados para tal finalidade. A CCS foi realizada através de esfregaços corados com hematoxilina-eosina, onde 100 campos foram contados, e o CMT foi agrupado em negativo (0) e positivo, este último subdividido em 1+, 2+ e 3+.

Os dados foram analisados utilizando programa estatístico GraphPad InStat Software (GraphPad Software, Inc., EUA). Os dados da CCS foram transformados em escala logarítmica, pois não apresentaram distribuição normal. As predições dos testes diagnósticos foram avaliadas pelo teste exato de Fisher através da SE, ES, VPP, VPN e RP considerando o exame bacteriológico como padrão ouro. Nestes casos, foram utilizados os valores de corte para SE, SP, VPP, VPN e RP na CCS de 5,00; 5,30 e 5,60 por estarem dentro dos parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa 51 e sugeridos por RUEGG & REINEMANN (2002); no CMT empregou-se valores de 0 (zero) e 1 (um); na CE estabeleceu-se os valores de 4,0; 5,5 e 6,75 como proposto por RUEGG & REINEMANN (2002) e BRUCKMAIER et al. (2004), no pH utilizou-se os valores de 6,63; 6,69 e 6,81, e na concentração de cloretos os valores de 100,5; 142,7 e 183,5 mg/100 mL como sugerido por OGALA et al. (2007) em animais com alta e baixa contagem de células somáticas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na prova bacteriológica foram observadas 46,73% das amostras positivas. Destas, 64,00% foram isolados *Staphylococcus* sp., 19,33% *Streptococcus* sp., 10,67% *Corynebacterium* sp., 2,67% *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* sp., 2,00% *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* sp. e 1,33% *Streptococcus* sp. e *Corynebacterium*

sp.. Desta forma, o presente estudo corrobora com os dados descritos por BARKEMA et al. (2006) e MACHADO et al. (2008), onde se ressaltou a importância do gênero estafilococos na etiologia das mastites bovina.

Na CCS foram encontrados valores logarítmicos de $4,70 (\pm 0,71)$ e $5,48 (\pm 0,75)$ células/mL para os animais negativos e positivos ($p < 0,0001$), respectivamente. E ao considerar a proporção das populações de leucócitos presentes no leite, dado pela proporção de polimorfonucleares sobre a de mononucleares, observou-se os valores de $1,72 (\pm 2,53)$ e $3,72 (\pm 4,67)$ nos animais negativos e positivos no exame bacteriológico ($p < 0,0001$), respectivamente. No CMT, obteve-se os valores médios de $0,22 (\pm 0,63)$ para os animais negativos e $0,91 (\pm 1,01)$ para os positivos ($p < 0,0001$). Na concentração hidrogeniônica foram observados valores de $6,57 (\pm 0,17)$ e $6,63 (\pm 0,18)$ para os animais negativos e positivos ($p < 0,0055$), respectivamente. No teor de cloretos encontrou-se $104,70 (\pm 25,58)$ e $109,90 (\pm 30,98)$ mg/100 mL para os animais negativos e positivos ($p = 0,1017$), respectivamente. Na CE observou-se valores de $4,51 (\pm 0,69)$ para os animais negativos e $4,60 (\pm 0,74)$ mS/cm para os negativos ($p = 0,249$).

Os valores da SE foram de 0,831; 0,674 e 0,622, da SP de 0,739; 0,774 e 0,787, do VPP de 0,757; 0,858 e 0,905, e do VPN de 0,817; 0,540 e 0,388, e da RP de 3,183; 2,979 e 2,915 para a CCS quando se utilizou os valores de corte de 5,00 ($p > 0,0001$), 5,30 ($p < 0,0001$), e 5,60 ($p < 0,0001$), respectivamente. Os valores da SE foram de 0,888 e 0,935, da SP de 0,470 e 0,227, do VPP de 0,652 e 0,577, do VPN de 0,789 e 0,756, e da RP de 1,675 e 1,209 para o CMT quando se estabeleceu os valores de corte de 0 ($p < 0,0001$) e 1 ($p < 0,0001$), respectivamente. Os valores da SE foram de 0,805; 0,894 e 0,970, da SP de 0,384; 0,238 e 0,053, do VPP de 0,594; 0,568 e 0,534, do VPN de 0,637; 0,667 e 0,615, e da RP de 1,307; 1,173 e 1,025 para o pH quando se empregou os valores de corte de 6,63 ($p < 0,0002$), 6,69 ($p < 0,0026$) e 6,81 ($p = 0,397$), respectivamente. Os valores da SE foram de 0,610; 0,976 e 0,994, da SP de 0,497; 0,106; 0,053, do VPP de 0,575; 0,550 e 0,540, do VPN de 0,532; 0,80 e 0,889, e da RP de 1,211; 1,092 e 1,050 para a concentração de cloretos quando se utilizou os valores de corte de 110,5 ($p < 0,070$), 142,7 ($p < 0,025$) e 183,5 mg/100 mL ($p < 0,0015$), respectivamente. Os valores da SE foram de 0,503; 0,982 e 0,994 da SP foram de 0,567; 0,060 e 0,020, do VPP de 0,567; 0,538 e 0,532, do VPN de 0,503; 0,75 e 0,75 e da RP de 1,161; 1,044 e 1,014 para a CE quando se estabeleceu os valores de corte de 4,00 ($p = 0,219$), 5,50 ($p = 0,075$) e 6,75 mS/cm ($p = 0,347$), respectivamente.

A CCS é um marcador inflamatório da glândula mamária, sendo amplamente utilizado no diagnóstico da mastite (RUEGG & REINEMAN, 2002). O isolamento bacteriano foi associado com aumento significativo na CCS, principalmente decorrente do aumento de polimorfonucleares, apresentando como o melhor preditor para a determinação da presença bacteriana. O escore de CMT, que foi positivamente correlacionado com a CCS ($r = 0,73$; $p < 0,0001$) e presença bacteriana ($p < 0,0001$).

O aumento do pH durante a mastite está associado com o aumento da permeabilidade da glândula mamária aos componentes sanguíneos, o que faz com que ocorra a migração de componentes alcalinos do sangue, principalmente o íon bicarbonato. Um aumento significativo na concentração hidrogeniônica foi encontrado, como demonstrado por OGALA et al. (2007) em animais com baixa e alta CCS, porém os valores preditivos encontrados foram apenas razoáveis ao confrontar com a CCS.

Os íons cloreto e os íons sódio estão presentes na circulação sanguínea e durante a mastite atravessam os capilares sanguíneos, direcionando-se ao lúmen dos alvéolos da glândula mamária. Tal processo ocorre devido ao aumento da permeabilidade vascular e à destruição das junções celulares e do sistema de bombeamento iônico causados pelo processo inflamatório (ZAFALON et al., 2005). Vários autores ao avaliarem a condutividade elétrica do leite, que é determinada pela concentração iônica, e a concentração de cloretos relataram baixa predição destes testes na detecção de mastite infecciosa, como encontrado no presente estudo, sendo ainda sugerida a análise entre as metades com o intuito de se melhorar a predição do teste (RUEGG & REINEMAN, 2002). Foi também relatado que estes parâmetros apenas podem ser utilizados no diagnóstico desta enfermidade no leite proveniente da presente na cisterna do teto anterior a ejeção do leite pelos alvéolos (BRUCKMAIER et al., 2004).

Todavia, estes parâmetros podem ser influenciados por fatores como idade, estágio lactacional, produção, estação do ano, fração láctea coletada, e variações entre animais, patogenicidade do agente, podendo refletir na avaliação dos testes analisados. Ainda, grande parte da predição dos testes diagnósticos é baseada no exame bacteriológico como padrão ouro, no entanto a mastite nem sempre requer a presença bacteriana, ou se consegue sucesso no isolamento bacteriano (PYÖRALÄ, 2003; ZAFALON et al., 2005).

CONCLUSÃO

A CCS e o CMT apresentaram-se como ferramentas confiáveis para o diagnóstico da mastite, não podendo o mesmo ser aplicado para os demais testes.

REFERÊNCIAS

- BARHEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H.; ZADOKS, R. N. Invited review: the role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 1877- 1895, 2006.
- BRUCKMAIER, R. M.; WEISS, D.; WIEDERMANN, M.; SCHMITZ, S.; WENDL, G. Changes of physicochemical indicators during mastitis and effects of milk ejection on their sensitivity. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 71, p. 316-321, 2004.
- KRIEG, N. R.; HOLT, J. C.. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, Baltimore, 1994.
- LENNETE, E. M.; BALOWS, A.; HANSLER JR., W. J. **Manual of clinical microbiology**. 4.ed. Washington: American Society of Microbiology, 1985.
- MACHADO, T. R. O.; CORREA, M. G.; MARIN, J. M. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from mastitic cattle in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 278-282, 2008.
- OGALA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effects of mastitis on raw milk composition quality. **Journal of Veterinary Science**, Suwon, v. 8, n. 3, p. 237-242, 2007.
- PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 34, p. 565-578, 2003.
- RUEGG, P. L.; REINEMANN, D. J. Milk quality and mastitis test. **Bovine Practitioner**, Stillwater, v. 36, p. 41-54, 2002.
- ZAFALON L. F.; NADER FILHO A.; OLIVEIRA J. V.; RESENDE F. D. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos como métodos auxiliares de diagnóstico da mastite subclínica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 150-163, 2005.

INFLUÊNCIA DA FASE DE LACTAÇÃO NAS PROTEÍNAS DO SORO LÁCTEO DE VACAS JERSEY

Raquel Fraga e Silva Raimondo, Samantha Ive Miyashiro,
Eduardo Harry Birgel Junior

Centro de Pesquisa e Diagnóstico de Enfermidades de Ruminantes (CPDER) - Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Av. Profº Dr. Orlando Marques de Paiva 87 Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira 05508-900 São Paulo – SP.
E-mail: ehbirgel@usp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, eletroforese, lactação, soro lácteo.

ABSTRACT

INFLUENCE OF LACTATION PHASE ON WHEY PROTEINS OF JERSEY COWS

To assess the influence of lactation phase on whey proteins, we collected 48 milk samples from 12 Jersey cows before milking. They were divided into three groups: early lactation (70 to 120 days); middle of lactation (121 to 202 days); and end of lactation (214 to 358 days). The whey was obtained by milk coagulation with renin. Furthermore, serum proteinogram was determined by biuret method and protein digest was fractionated by polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). There was a gradual and significant decrease in whey components during the lactation period, such as serum albumin, lactoferrin, immunoglobulins, beta-lactoglobulin, and alpha-lactalbumin. We recommend the following mean values for whey proteins of Jersey cows: Total whey protein = 640 mg/dL; Lactoferrin = 40 mg/dL; Albumin = 30 mg/dL; Immunoglobulin heavy chain = 40 mg/dL; Immunoglobulin light chain = 80 mg/dL; Beta-lactoglobulin = 230 mg/dL; Alpha-lactalbumin = 140 mg/dL.

KEYWORDS: Bovine, electrophoresis, lactation, whey protein.

INTRODUÇÃO

As proteínas do leite são, na sua grande maioria, sintetizadas na glândula mamária, durante a galactopoiese, por células secretoras alveolares, ou, em menor quantidade, são de origem plasmática (SCHALM et al., 1971). Dentre as frações protéicas sintetizadas nos tecidos mamários, a caseína, do leite representa 80 % de toda a proteína (FONSECA & SANTOS, 2000). Neste grupo de proteínas sintetizadas na mama, também, devem ser

destacadas algumas proteínas presentes no soro lácteo como as frações α -lactoalbumina e β -lactoglobulina.

SCHALM et al. (1971) haviam relatado que a mamite determinava uma diminuição dos teores de caseína, porém que os teores lácteos de proteína total não sofriam influência significativa, devido ao aumento das proteínas do soro em decorrência as alterações de permeabilidade. Apesar disso, até recentemente, a constituição protéica do leite não era considerada como uma importante característica no diagnóstico das doenças da glândula mamária, porém os resultados obtidos por SANT'ANA (2004) evidenciaram a importância da determinação do teor de proteína total do leite e seu fracionamento como parâmetro para o diagnóstico das mamites.

O aumento dos teores de proteína total com diminuição dos teores de caseína e aumento dos teores de proteínas de origem plasmática no soro lácteo representa sintoma evidente de alteração da glândula mamária (SCHALM et al., 1971). Nesses casos patológicos, comprovou-se, aumento dos teores de proteínas de origem plasmática (albumina e imunoglobulinas) no soro lácteo em decorrência das alterações na permeabilidade dos vasos devido ao processo inflamatório (SCHALM et al., 1971; SANT'ANA, 2004).

Dentre os fatores responsáveis pelas alterações na composição protéica do leite merecem destaque não somente aqueles decorrentes das mamites, mas também, a influência de diversos fatores, como os relacionados à fase da lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

A fim de se estabelecer os valores de referencia, e a influencia da fase de lactação nas proteínas do soro de leite de vacas da raça Jersey foram utilizadas 48 amostras de soro lácteo obtidas de mamas de animais criados em sistema semi-extensivo com alimentação baseada em volumoso, suplementada com silagem e concentrado comercial onde adotava-se o sistema de ordenha mecânica. As amostras foram colhidas na sala de ordenha, antes da ordenha, a seleção dos animais foi baseada no exame clínico e no histórico, sendo descartados aqueles que apresentaram episódios recorrentes de mamite, alterações das características macroscópicas do leite, ou alterações na palpação da mama, que pudessem estar relacionadas à existência de um processo inflamatório agudo ou crônico (BIRGEL, 2004).

Após os procedimentos de preparo dos animais para a ordenha, seguia-se a colheita, de cerca de 3 ml de leite em tubo de plástico estéreis para o exame microbiológico, precedido por assepsia da extremidade do teto, utilizando-se compressas de gaze embebidas em álcool 70%,

e em seguida foram colhidos 50 ml em frascos de plástico para a avaliação do proteinograma. As amostras foram acondicionadas em caixas de isopor refrigeradas com gelo reciclável durante o transporte, até o momento de serem analisadas.

Primeiramente as amostras colhidas de maneira estéril foram submetidas ao exame microbiológico, semeadas em meio de ágar-sangue de carneiro e incubadas a 37°C, sendo realizadas leituras com 24, 48 e 72 horas de incubação. Todas as 48 amostras utilizadas tiveram resultado negativo no exame microbiológico, sendo divididas em três grupos de acordo com a fase de lactação que se encontravam: 16 amostras no terço inicial da lactação (entre 70 e 120 dias de lactação); 16 amostras no terço médio de lactação (entre 121 e 202 dias de lactação) e 16 amostras no terço final de lactação (entre 214 e 358 dias de lactação).

O soro lácteo foi obtido através da coagulação do leite pela adição de 5 % de solução de renina utilizando técnica sugerida por SANT'ANA & BIRGEL (2003), sendo as amostras turvas de soro lácteo submetidas a processo de centrifugação durante 20 minutos a 13.000 rpm. Após o estabelecimento de curva-padrão, os teores de proteína total do soro lácteo foi determinado pela técnica do biureto, utilizando-se 3 ml do reativo de biureto e 50ul de amostra de soro lácteo. A absorbância da amostra foi determinada em espectrofotômetro com comprimento de ondas igual a 555 nm, sendo utilizada a seguinte fórmula para cálculo dos teores de proteína: Proteína no soro lácteo = (Absorbância - 0,005) / 0,050.

Para o fracionamento das proteínas foi realizada a eletroforese em gel de poliacrilamida (12 %) contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme as recomendações de FAGLIARI & SILVA (2002). Ao final do procedimento as frações protéicas foram separadas e quantificadas em: proteínas com peso molecular acima de 81 KDaltons, lactoferrina (81 KDaltons), albumina de origem plasmática (68 KDaltons), imunoglobulinas de cadeia leve (26 KDaltons), imunoglobulinas de cadeia pesada (56 KDaltons), β -lactoglobulina (16 KDaltons) e α -lactoglobulina (13 KDaltons).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de proteína do soro de leite de vacas da raça Jersey considerando as 48 amostras foi em média 640 ± 250 mg/dl valores próximos aos encontrados por LARSON & KENDALL (1953) que estudaram o fracionamento do soro lácteo de vacas holandesas através da técnica de eletroforese em papel e obtiveram teores de proteínas do soro de leite que variavam de 700 a 1.100 mg/dl. Entretanto, os presentes resultados discordaram, por serem

maiores dos apresentados por SCHALM et al. (1971), equivalentes a 540 mg/dl, todavia eles utilizaram técnica semi-quantitativa, de menor sensibilidade. Os resultados da presente pesquisa foram menores do que os encontrados por SANT'ANA (2004) que utilizou a técnica do biureto realizado em analisador bioquímico automático LIASYS, e encontrou para vacas Jersey teores médios de proteína do soro lácteo iguais a $1.010,31 \pm 111,34$ mg/dl.

Os teores de proteínas do soro lácteo encontrados na presente pesquisa foram influenciados pela fase de lactação. No terço inicial da lactação os valores médios foram iguais a 800 ± 140 mg/dl e no terço médio iguais a 730 ± 210 mg/dl valores estes significativamente maiores do que os observados no terço final da lactação 380 ± 150 mg/dl. AULDIST et al. (1995) avaliaram dois rebanhos leiteiros na Austrália e encontraram resultados controversos, em um dos rebanhos afirmaram que o teor da proteína do soro lácteo não apresentou variações, que pudessem ser atribuídas à influência do estágio de lactação, no segundo rebanho, as concentrações de caseína e de proteína total no leite foram maiores no início e no terço final da lactação. SANT'ANA (2004) também avaliou a influencia da fase de lactação na proteína do soro lácteo, porém a constituição dos grupos experimentais da referida autora levou em consideração amostras colhidas durante a fase colostrar e verificou que os valores nesta fase foram maiores do que os encontrados no terço inicial, médio e final da lactação.

O fracionamento das proteínas do soro de leite das 48 amostras permitiu que as seguintes frações protéicas fossem caracterizadas: proteínas com peso molecular acima de 80 KDaltons ($10,0 \pm 15,0$ mg/dl), Lactoferrina ($40,0 \pm 22,0$ mg/dl), Albumina sérica ($30,0 \pm 19$ mg/dl), Imunoglobulinas cadeia pesada ($40,0 \pm 24,0$ mg/dl) imunoglobulinas cadeia leve ($80,0 \pm 64$ mg/dl) (imunoglobulinas divididas em duas cadeias, pesada e leve decorrentes do uso do 2-mercaptoetanol utilizado no tampão de preparação das amostras para a eletroforese), Beta-lactoglobulina ($230,0 \pm 87$ mg/dl) e Alfa-lactoalbumina ($140,0 \pm 70,0$ mg/dl).

Os teores médios de Lactoferrina encontrados na presente pesquisa ($40,0 \pm 22,0$ mg/dl) discordaram, por serem maiores, dos apresentados por SCHANBACHER & LARRY SMITH (1974) - 35 mg/dl e por WELTY et al. (1975) - 20 mg/dl ($63,95 \pm 28,30$ mg/dl) e se aproximam dos valores médios obtidos por SANT'ANA (2004) que obtiveram valores médios iguais a $63,95 \pm 28,30$ mg/dl. A lactoferrina é influenciada pela fase de lactação, pois seus valores diminuem significativamente no terço final da lactação chegando a $20,0 \pm 10,0$

mg/dl, informações estas que discordam de SANT'ANA (2004) que não observou influencia do estágio de lactação nos teores de lactoferrina.

Os teores médios de albumina séria ($30,0 \pm 19$ mg/dl) encontrados na presente pesquisa são semelhante aos encontrados por SCHALM et al. (1971) que utilizou técnica semi-quantitativa pouco específica, obteve o valor de 40 mg/dl, e discordam de SANT'ANA (2004) que obteve valor médio de albumina sérica igual a $70,70 \pm 21,06$ mg/dl. Com o evoluir da lactação os teores de albumina sérica diminuíram no terço final da lactação observações estas que não foram mencionadas por SANT'ANA (2004).

Os teores de imunoglobulinas encontrados no presente estudo como citado anteriormente, são divididas em duas cadeias em decorrência da técnica utilizada, cadeia pesada ($40,0 \pm 24,0$ mg/dl) imunoglobulinas cadeia leve ($80,0 \pm 64$ mg/dl) portanto, houve dificuldade para compará-los aos relacionados na literatura, pois a maioria dos pesquisadores utilizou técnicas imunológicas e apesar de SANT'ANA (2004) ter utilizado a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida a autora obteve apenas uma fração única de imunoglobulinas. Os teores de imunoglobulinas diminuem com o evoluir da lactação, concordando com SCHALM et. al., (1971) e SANT'ANA (2004).

Os teores médios de Beta-lactoglobulina, $230,0 \pm 87$ mg/dl, foram menores dos que o encontrados por SANT'ANA (2004) $538,89 \pm 72,88$ em vacas da raça Jersey. E diminuem com o evoluir da lactação (início $280,0 \pm 60$ mg/dl; meio $260,0 \pm 60$ mg/dl e final $150,0 \pm 70,0$ mg/dl), SANT'ANA (2004) observou que os teores desta referida proteína foi maior na fase colostrar e final da lactação (respectivamente: $726,10 \pm 291,20$ mg/dl e; $668,24 \pm 92,60$ mg/dl).

As médias encontradas no presente estudo para alfa-lactoalbumina foram iguais a $140,0 \pm 70,0$ mg/dl valores estes que concordam com os encontrados por SANT'ANA (2004) $142,85 \pm 28,57$ para vacas da mesma raça. A fase de lactação influencia os teores de alfa-lactoalbumina que diminuem com o evoluir da lactação, observações que concordam com SANT'ANA (2004) que encontrou maiores valores na fase inicial da lactação (fase colostrar e primeiro terço da lactação), a seguir observou uma diminuição (segundo terço da lactação) e uma nova diminuição dos resultados na fase final da lactação, concordando com as conclusões apresentadas por LARSON & KENDALL (1953) e LEVIEUX & OLLIER (1999).

CONCLUSÕES

Os valores médios de referencia para as proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey são: Proteína total do soro lácteo – 640,0 mg/dl; 80 KDaltons - 10,0 mg/dl; Lactoferrina - 40,0 mg/dl; Albumina sérica - 30,0 mg/dl; Imunoglobulinas cadeia pesada - 40,0 mg/dl; Imunoglobulinas cadeia leve 80,0 mg/dl; Beta-lactoglobulina - 230,0 mg/dl e Alfa-lactoalbumina 140,0 mg/dl.

As proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey diminuem com o evoluir da lactação.

AGRADECIMENTOS

A FAPESP, pelo auxílio pesquisa nº 2008 / 04109-9 e bolsa de doutorado processo nº nº 06/61571-1.

REFERÊNCIAS

AULDIST, M. J.; COATS, S.; ROGERS, G. L.; MC DOWELL, G. H.; Changes in the composition of milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 35, n. 4, 427-436, 1995.

BIRGEL, E. H. Semiologia da glândula mamária de ruminantes. In: FEITOSA, F. L. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca editora, 2004. p. 353-399

FAGLIARI J. J.; SILVA, S. L. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos hígidos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 6, p. 559-586, 2002.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

LARSON, B. L.; KENDALL, K. A. Protein production in the bovine daily production of the specific milk proteins during the lactation period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 40, n. 3, p. 377, 1957.

LEVIEUX, D.; OLLIER, A. bovine immunoglobulins G, beta-lactoglobulin, alfa-lactoalbumin and serum albumin in colostrums and milk during the early post partum period. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 66, n. 3, p. 421-430, 1999.

SANT'ANA, V. A. C. **Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade**. 2004. 161 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SANT'ANA, V. A. C.; BIRGEL, E. H. Obtenção do soro lácteo para o fracionamento das proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida. In: CONGRESSO

LATINOAMERICANO DE BUIATRIA. 9, CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. 5 E CONGRESSO NORDESTINO DE BUIATRIA. 3. 2003, Salvador. **Anais...** Salvador: Associação Brasileira de Buiatria, 2003. p.31.

SCHALM, O. W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360p.

SCHANBACHER, F. L.; LARRY SMITH, K. Formation and role of unusual whey proteins and enzymes: relation to mammary function. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, n. 7 p. 1048-1062, 1974.

WELTY, F. K.; LARRY SMITH, K.; SCHANBACHER, F. L.; Lactoferrina concentration during involution of bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 9, n. 2. p. 224-231, 1975.

VALORES DE HAPTOGLOBINA PLASMÁTICA EM VACAS COM DIFERENTES CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM AMOSTRAS DE LEITE

Marcelo Fernando Colla¹, Stella Faria Valle², Priscila Secchi³, Naila Duda⁴, Miriam Scalón⁴,
João Walter Dürr⁵, Félix González⁶

1. Médico veterinário, MSc, profissional autônomo, Passo Fundo, Brasil

2. Médica veterinária, MSc, professora da Universidade de Passo Fundo, Brasil

3. Médica veterinária, mestranda do PPGCV - UFRGS, Porto Alegre, Brasil

4. Acadêmicas do curso de Medicina Veterinária da UPF, Passo Fundo, Brasil

5. Engenheiro Agrônomo, PhD, Diretor do Interbull Centre, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suécia

6. Médico veterinário, DSc, professor da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. CEP: 91540-000. E-mail: felix.gonzalez@ufrgs.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVES: Diagnóstico de mastite, fibrinogênio, proteínas de fase aguda.

ABSTRACT

PLASMA HAPTOGLOBIN VALUES IN COWS WITH DIFFERENT MILK SOMATIC CELL COUNT

This study investigates the relationship between plasma values for haptoglobin (Hp) and variations of milk somatic cell count (SCC) in dairy cows from Rio Grande do Sul. A total of 50 animals were divided into three groups according to SCC: cows with healthy mammary glands (SCC below 600.000 cells/mL), subclinical mastitis (SCC above 600.000 cells/mL), and clinical mastitis with signs of inflammatory conditions. Total bacterial count and concentrations of lactose, fat, protein and total solids were also determined. Blood samples were collected for fibrinogen, albumin, and Hp analysis. Results revealed that cows with mastitis had significantly lower concentrations of lactose, fat and total solids, whereas protein, fibrinogen, and Hp values were higher. These last two variables presented no differences in healthy and subclinical mastitis groups. The increase of plasma Hp serum level in cows with low milk SCC was probably due to factors other than an inflammatory condition. Significant positive correlation coefficients were found between milk SCC and plasma fibrinogen ($r=0,27$) as well as plasma Hp ($r=0,36$). Findings from this study were not able to show how Hp values may be useful in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows.

KEYWORDS: Acute phase proteins, fibrinogen, mastitis.

INTRODUÇÃO

A mastite é a principal causa de perdas econômicas nos rebanhos leiteiros com prevalência de 26% (KOSSAIBATI et al., 1998). No Brasil, a incidência de mastite pode atingir 71% das vacas em ordenha nos estados de Minas Gerais e São Paulo (COSTA et al., 1995). A principal causa de perdas por mastites está representada pela forma subclínica da doença que é muito mais difícil de ser diagnosticada (RENEAU & PACKARD, 1991).

O diagnóstico da mastite é feito rotineiramente mediante exame clínico, exame visual do leite, contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT) e cultura de patógenos (GRÖNLUND et al., 2005). No caso de mastite subclínica o diagnóstico torna-se mais difícil devido à ausência de sinais clínicos e de um indicador laboratorial sensível.

As proteínas de fase aguda (PFAs) são secretadas pelo fígado e outros tecidos em resposta a vários estímulos que afetam a homeostasia do sistema imune, particularmente infecções, inflamações e transtornos metabólicos (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2001).

Em vacas, a haptoglobina (Hp) e a amilóide A sérica (SAA) são as principais PFAs (MURATA et al., 2004) com utilidade no diagnóstico de processos inflamatórios com alta sensibilidade (ECKERSALL et al., 2006). Em vacas leiteiras, o monitoramento de PFAs tem sido útil para identificar situações subclínicas, particularmente em afecções mamárias (PETERSEN et al., 2004).

Apesar de considerar a CCS como o padrão ouro para detectar inflamação da glândula mamária (AKERSTEDT et al., 2007), a grande variabilidade deste parâmetro em animais sadios por fatores como idade, início e fim da lactação e sazonalidade, entre outros (SALSBERG et al., 1984), diminuem sua eficiência para distinguir uma vaca com mastite subclínica.

O presente trabalho teve o objetivo de relacionar a concentração plasmática de haptoglobina com a contagem de células somáticas em amostras de leite de rebanhos no Rio Grande do Sul.

MATERIAIS E MÉTODOS

Um total de 150 amostras de leite e suas correspondentes amostras de sangue foram coletadas de vacas de raça Holandesa pertencentes a diferentes rebanhos, independentemente da idade, número de lactações ou número de dias em lactação. O critério de escolha nas amostras de leite foi a contagem de células somáticas (CCS) da forma como a seguir: animais

sadios: CCS <600.000 cél/mL; vacas com mastite subclínica: CCS >600.000 cél/mL sem nenhum sinal clínico e vacas com mastite clínica: qualquer CCS com sinais evidentes de mastite.

As amostras de leite foram coletadas em recipientes usando conservante (bronopol e azidiol). A determinação de CCS e a contagem bacteriana total (CBT) foram realizadas por citometria de fluxo (Somacount, Bentley Instruments). Os componentes químicos do leite (lactose, gordura, proteína e sólidos totais) foram determinados pela técnica do infravermelho (Somacount, Bentley Instruments).

Amostras de sangue foram coletadas usando tubos contendo EDTA mediante venipunção na veia jugular, acondicionadas em caixas de isopor e transportadas até o laboratório. O fibrinogênio foi determinado imediatamente pelo método de precipitação por calor (JAIN, 1993). As amostras de sangue foram centrifugadas e o plasma acondicionado em tubos eppendorf para seu congelamento até a determinação das análises bioquímicas.

A haptoglobina foi determinada usando kit reagente (Phase Haptoglobin, Tridelta). A análise estatística foi realizada com o software SPSS 13.0, aplicando prova de ANOVA e comparação múltipla de Tukey. Os dados totais foram usados para provas de correlação de Pearson entre a concentração plasmática de Hp com outros parâmetros (CCS, CBT e fibrinogênio).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de CCS entre os 3 grupos variaram significativamente, como esperado. Os valores médios de CCS para as vacas sadias foram de 130×10^3 cél/mL, para vacas com mastite subclínica de 1.073×10^3 cél/mL e para vacas com mastite clínica de 4.350×10^3 cél/mL. Também foram diferentes os valores de CBT entre os 3 grupos, que tiveram médias de 90×10^3 UFC/mL para vacas sadias, 1.077×10^3 UFC/mL para vacas com mastite subclínica de 5.783×10^3 UFC/mL para vacas com mastite clínica.

Como resultado da condição sanitária da glândula mamária houve diferenças nos valores dos componentes do leite. A quantidade de lactose teve uma queda gradual e significativa com a diminuição de CCS. PRADA & SILVA et al. (2000) mencionam que o conteúdo de lactose no leite decresce gradualmente com a condição inflamatória da glândula mamária como resultado da síntese diminuída, o aumento da permeabilidade das membranas e a utilização de lactose pelos patógenos intramamários, enquanto que OGOLA et al. (2007) relatam uma queda na lactose em amostras com CCS >500.000 cél/mL. O conteúdo de

gordura não variou significativamente entre os grupos, embora fosse observada uma tendência a diminuir nas vacas com mastites clínica. A quantidade de proteína do leite foi maior nas vacas com mastite clínica.

A concentração plasmática de haptoglobina (Hp) foi maior no grupo de vacas com mastite clínica (0,70 g/L) que nas vacas dos demais grupos (0,41 g/L). Este achado revela que, nas condições do presente trabalho, a concentração de Hp plasmática não seria de utilidade para diferenciar entre vacas sadias e com mastite subclínica. Os resultados sugerem que, em condições de campo, outras causas diferentes da condição sanitária da glândula mamária, estão influenciando os valores de Hp no plasma. ECKERSALL et al. (2001) estudaram a concentração de Hp plasmática em vacas sob condições controladas com mastite induzida encontrando valores de 0,47 g/L em vacas com CCS de 6.400×10^3 cél/mL e de 0,74 g/L em vacas com CCS de 8.700×10^3 cél/mL, mas em vacas sadias os valores de Hp foram indetectáveis. No presente trabalho, contudo, foi encontrada uma correlação significativa entre CCS e valores de Hp ($r = 0,357$) mostrando que a CCS pode ser determinante para o incremento da concentração de Hp, especialmente em vacas com altos valores de CCS.

A concentração de fibrinogênio foi significativamente maior em vacas com mastite (6,50 g/L) comparada com vacas sadias (5,16 g/L) ou com mastite subclínica (5,48 g/L) o que está de acordo com TABRIZI et al. (2008), demonstrando uma resposta do organismo à injúria da glândula mamária.

CONCLUSÃO

A condição sanitária da glândula mamária e, portanto a CCS, é determinante na composição do leite de forma que uma inflamação causa menores valores de lactose e gordura e maiores de proteína total. As concentrações de fibrinogênio e haptoglobina aumentam na mastite clínica, mas seus valores não conseguem distinguir entre animais sadios ou com mastite subclínica. A relação significativa entre CCS e haptoglobina vale a pena ser explorada como ferramenta para o possível papel da haptoglobina no diagnóstico de condições subclínicas ou na avaliação da qualidade do leite.

REFERÊNCIAS

AKERSTEDT, M.; WALLER, K. P.; STERNESJO, A. Haptoglobin and serum amyloid A in relation to the somatic cell count in quarter, cow composite and bulk tank milk samples. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 74, p. 198-203, 2007.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T.; WHITE, C. R.; PARDO, R. B. Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 215-217, 1995.

ECKERSALL, P. D.; YOUNG, F. J.; MCCOMB, C.; HOGARTH, C. J.; SAFI, S.; WEBER, A.; MCDONALD, T.; NOLAN, A. M.; FITZPATRICK, J. L. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. **Veterinary Record**, London, v. 148, p. 35–41, 2001.

ECKERSALL, P. D.; YOUNG, F. J.; NOLAN, A. M.; KNIGHT, C. H.; MCCOMB, C.; WATERSTON, M. M.; HOGARTH, C. J.; SCOTT, E. M.; FITZPATRICK, J. L. Acute phase proteins in bovine milk in an experimental model of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 1488–1501, 2006.

GRÖNLUND U., SANDGREN C.H., WALLER K.P. Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 36, p. 191 – 198, 2005.

JAIN N. C. 1993. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia, pp. 417.

KOSSAIBATI, M. A.; HOVI, M.; ESSLEMONT, R. J. Incidence of clinical mastitis in dairy herds in England. **Veterinary Record**, London, v. 143, p. 649-653, 1998.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; PARRA, M. D.; CERÓN, J. J. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. **Anales de Veterinaria de Murcia**, Murcia, v. 17, p. 99-116, 2001.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 24-40, 2004.

OGOLA, H.; SHITANDI, A.; NANUA, J. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. **Journal of Veterinary Science**, Suwon, v. 8, p. 237–242, 2007.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 35, p. 163-187, 2004.

PRADA E SILVA, L. F.; PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRIÉS, G. A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II. Lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, p. 330-333, 2000.

RENEAU, J. K.; PACKARD, V. S. Monitoring mastitis, milk quality and economic losses in dairy fields. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, Ames, v. 11, p. 4-11, 1991.

SALSBERG, E.; MEEK, A. H.; MARTIN, S. W. Somatic cell counts: associated factors and relationship to production. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ottawa, v. 48, p. 251-257, 1984.

TABRIZI, A. D.; BATAVANI, R. A.; ASRI REZAEI, S.; AHMADI, M. Fibrinogen and ceruloplasmin in plasma and milk from dairy cows with subclinical and clinical mastitis. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 15, p. 571-576, 2008.

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO *IN VITRO* DE SELÊNIO SOBRE A PRODUÇÃO INTRACELULAR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM CÉLULAS POLIMORFONUCLEARES DE BOVINOS: IMPLICAÇÕES NA RESISTÊNCIA À MASTITE

Fernando N. Souza¹, Maiara G. Blagitz², Andréia O. Latorre³, Camila Silano⁴, Kátia A. Souza⁴, Glauco D. Glütler⁴, Camila F. Batista¹, Clara S. Mori³, Maria Claudia A. Sucupira³, Alice M.M.P. Della Libera¹

1. Médico Veterinário, mestrando, Laboratório de Imunodiagnóstico do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo- SP, Brasil.
CEP 05508-270. E-mail: nogueirasouza@usp.br (autor correspondente)
2. Médica Veterinária, doutoranda, Laboratório de Imunodiagnóstico do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
3. Médica Veterinária, doutoranda, Laboratório de Farmacologia e Toxicologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
4. Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
5. Química, Laboratório de Doenças Nutricionais e Metabólica do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
6. Médicas Veterinárias, doutoras, professoras do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

PALAVRAS-CHAVES: Citometria de fluxo, glândula mamária, neutrófilos, resposta imune.

ABSTRACT

EFFECT OF *IN VITRO* SELENIUM SUPPLEMENTATION ON INTRACELLULAR HYDROGEN PEROXIDE PRODUCTION BY BOVINE POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES: IMPLICATIONS FOR MASTITIS CONTROL

This study evaluates the effect of *in vitro* selenium supplementation on intracellular hydrogen peroxide production by bovine polymorphonuclear leukocytes of dairy cows. Thus, a total of 16 blood and milk samples were collected. Cells were then incubated with 50µM 2',7' dichlorodihydrofluorescein diacetate for 30 minutes at 37° C. After selenium supplementation, evidence showed sodium selenite at concentrations of 0-10 µM. Results revealed an increase in reactive oxygen species production of polymorphonuclear cells, which may lead to the enhancement of mammary gland immunity.

KEYWORDS: Flow cytometry, immune response, mammary gland, neutrophils.

INTRODUÇÃO

A mastite não é apenas a doença de maior impacto na pecuária leiteira mundial, mas é também a principal enfermidade que afeta a indústria de laticínios comprometendo a segurança alimentar e qualidade do leite associados aos resíduos de antimicrobianos e às altas contagens de células somáticas.

Logo após a entrada do patógeno na mama, os macrófagos juntamente com as células epiteliais iniciam o processo inflamatório em resposta a necessidade de eliminação do agente invasor através da produção e liberação de citocinas que resulta na migração de células polimorfonucleares (PMN), principalmente neutrófilos, do sangue para a glândula mamária, conferindo assim a primeira linha de defesa contra patógenos. Estas células atuam na eliminação da infecção pela fagocitose e pela capacidade microbicida dada pela explosão respiratória resultante da produção intracelular de espécies reativas de oxigênio, entre elas o peróxido de hidrogênio (PAAPE et al., 2003).

Nos últimos anos, na tentativa de diminuir o impacto da mastite e a utilização de antimicrobianos em fazendas leiteiras, grandes esforços foram realizados na tentativa de aumentar os mecanismos de defesa da glândula mamária. Neste contexto, estudos apontaram para a redução dos casos de mastite e da contagem de células somáticas em animais suplementados com selênio (Se) (HOGAN et al., 1993; HEMINGWAY et al., 1999; SALMAN et al., 2009). Porém, poucos são os estudos que tentaram elucidar os mecanismos pelos quais este elemento atua.

O Se apresenta importante participação no sistema imune, além de conferir proteção contra as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. O primeiro relato que demonstrou o envolvimento deste elemento na resposta imune é datado de 1959, onde foram encontradas maiores concentrações deste elemento em tecidos com significativa importância imunológica como o baço, os linfonodos e o fígado. Várias das ações no sistema imune do Se já descritas citam a participação das selenoproteínas, merecendo destaque neste contexto a glutathione peroxidase 1 (GSH-Px1). Esta enzima participa do sistema antioxidante convertendo o peróxido de hidrogênio em compostos menos tóxicos. Ademais, mais de 50 proteínas têm sido relacionadas a este elemento em várias espécies. No entanto, os efeitos diretos de compostos do Se não podem ser excluídos (McKENZIE et al., 1998).

Assim, o presente estudo objetivou investigar o efeito da suplementação *in vitro* de selênio sobre a capacidade microbicida de células PMN do sangue e da mama de bovinos.

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente estudo foram utilizadas 16 amostras de sangue e 16 amostras de leite de vacas em lactação oriundas de propriedade localizada no Estado de São Paulo. Foi colhida uma amostra de sangue heparinizado de cada animal, e no mínimo 50 ml de leite de cada quarto mamário diluído na proporção 1:1 em solução salina tamponada (SST), e então mantidos a 4° C.

As amostras de leite foram submetidas à centrifugação a 1000 g por 10 minutos, sendo descartado o sobrenadante e retirada a camada de gordura. O botão celular resultante foi resuspendido em 30 ml de SST, e centrifugados novamente a 400g por 10 minutos. Posteriormente, o botão celular foi novamente resuspendido em 500 µL de RPMI-1640 contendo 10% de soro fetal bovino. Finalmente, foi realizada a contagem celular em câmara de Neubauer e avaliada a viabilidade celular pela exclusão do azul de Trypan.

A produção intracelular de peróxido de hidrogênio se deu pela utilização de 100 µL de sangue de cada animal e 2×10^5 células viáveis do leite de cada quarto mamário que foram incubados a 37° C por 30 minutos com 50µM de 2',7' diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCFH-DA). Para avaliação do efeito da suplementação de Se foi adicionado ao meio de cultura celular, solução de selenito de sódio ($\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$) resultando na concentração final de 0 µM (basal) e 10 µM de $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$.

As amostras foram, então, analisadas por citometria de fluxo, onde 30.000 eventos foram adquiridos. A população de células PMN foi identificada pela sua característica de tamanho e granulosidade dada pela citometria de fluxo. A porcentagem de células que produziram peróxido de hidrogênio, assim como a intensidade da produção de intracelular de peróxido de hidrogênio, em valores arbitrários, foram dadas pela análise no programa FlowJo Tree Star Software®.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad Prisma 5.0 (GraphPad Software, USA) utilizando o teste t para amostras pareadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram maior produção intracelular de peróxido de hidrogênio pelos leucócitos PMN sangüíneos e lácteos das amostras suplementadas *in vitro* com 10 µM de selenito de sódio. As amostras sangüíneas apresentaram valores médios arbitrários de 422,14 ($\pm 143,48$) e 935,03 ($\pm 490,97$) ($p = 0,0001$) para as amostras sem e com suplementação, respectivamente. Os leucócitos PMN provenientes das amostras lácteas

apresentaram valores médios arbitrários de produção intracelular de peróxido de hidrogênio de 28,46 ($\pm 15,17$) e 40,75 ($\pm 19,15$) ($p = 0,0001$) para as amostras sem e com suplementação com selenito de sódio, respectivamente. A porcentagem de PMN que produziram peróxido de hidrogênio no sangue foi de 99,63 % ($\pm 0,42$) e 99,65 % ($\pm 0,65$) ($p = 0,87$), e no leite foi de 90,87 % ($\pm 10,71$) e 98,58 % ($\pm 2,19$) ($p = 0,0127$) para as amostras sem e com suplementação, respectivamente.

Semelhante a estes achados, alguns autores têm apontado maior capacidade microbicida em animais com níveis adequados de selênio (WURYASTUTI et al., 1993; SALMAN et al., 2009). Além disso, uma correlação negativa entre a contagem de células somáticas e níveis séricos de selênio têm sido freqüentemente reportados (HEMINGWAY et al., 1999; SALMAN et al., 2009).

Ademais, inúmeros estudos sugerem que a deficiência de selênio pode levar a maior susceptibilidade a doenças ou a progressão da mesma. Assim, a manutenção de níveis adequados de Se é essencial para a regulação da resposta imune, além de proteger contra os danos oxidativos (McKENZIE et al., 1998; RAYMAN, 2000). É ainda sugerido, que a suplementação com Se pode apresentar efeito imunoestimulatório mesmo em pacientes com níveis adequados de selênio (RAYMAN, 2000), o que advir de seus efeitos diretos. Isto, por exemplo, já foi descrito em células T, onde o selênio apresentou função regulatória na expressão de receptores de interleucina-2 (IL-2) (McKENZIE et al., 1998). Desta maneira, isto também pode explicar os efeitos benéficos adquiridos com a suplementação de selênio dado pelo seu efeito regulatório na expressão dos receptores envolvidos com esta citocina, já que é conhecido que a infusão intramamária de IL-2 resulta em maior taxa de cura de animais infectados com *Staphylococcus aureus* (SALMAN et al., 2009).

CONCLUSÃO

O presente estudo apontou para aumento da capacidade microbicida *in vitro* de células polimorfonucleares suplementadas com Se em bovinos. Assim, a suplementação de Se pode apresentar como ferramenta viável no controle da mastite e demais enfermidades.

REFERÊNCIAS

HEMINGWAY, R. G. The influence of dietary selenium and vitamin E intakes on milk somatic cell counts and mastitis in cows. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 23, p. 481-499, 1999.

HOGAN, J. S.; WEISS, W. P.; SMITH, K. L. Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 2795-2803, 1993.

McKENZIE, R. C.; RAFFERTY, T. S.; BECKETT, G. J. Selenium: an essential element for immune function. **Immunology Today**, Cambridge, v. 19, n. 8, p. 342-345, 1998.

PAAPE, M. J.; BANNERMAN, D. D.; ZHAO, X.; LEE, J-W. The bovine neutrophil: structure and function. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 34, p. 597-627, 2003.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, London, v. 356, p. 233-241, 2000.

SALMAN, S.; KHOL-PARISINI, SCHAFFT, H.; LAHRSEN-WIEDERHOLT, M.; HULAN, H.W.; DINSE, D.; ZENTEK, J. The role of dietary selenium in bovine mammary gland health and immune function. **Animal Health Research Reviews**, Wallingford, v. 10, n. 1, p. 21-34, 2009.

WURYASTUTI, H.; STOWE, H. D.; BULL, R. W.; MILLER, E. R. Effects of vitamin E and selenium on immune responses of peripheral blood, colostrum, and milk leukocytes of sows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 2464-2472, 1993.

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE DE CABRA *IN NATURA* EM ALGUNS REBANHOS DE MINAS GERAIS E RIO DE JANEIRO, BRASIL

Juliana Ferreira de Almeida¹, Carlos Henrique da Silva leitão², Elmiro Rosendo do Nascimento¹, Karine de Castro Meireles Vieira³, Eunice Maria Alberto³, Virginia Léo de Almeida Pereira¹

1. Departamento de Saúde Coletiva Veterinária e Saúde Pública, CMV/UFF. Faculdade de Veterinária: R. Vital Brasil Filho, 64, Vital Brazil . CEP: 24.230-340. Niterói, RJ, Brasil.

2. E-mail: jufalmeida@hotmail.com (autor correspondente)

2. Laboratório Nacional Agropecuário, LANAGRO/MAPA/RJ

3. Médica Veterinária, Leopoldina, MG

PALAVRAS-CHAVE: Composição, Instrução Normativa nº 37, qualidade do leite.

ABSTRACT

PHYSICAL-CHEMICAL EVALUATION OF RAW GOAT MILK FROM HERDS IN MINAS GERAIS AND RIO DE JANEIRO, BRAZIL

Increased production of goat milk in the southeast region of Brazil as well as the development of milk's physical-chemical quality parameters have contributed to detection of flaws in management practices and recovery of raw materials. This study evaluates both physical and chemical parameters of raw goat milk in relation to government regulations. Eleven dairy goat herds (A-K) from Minas Gerais (B, C, E, F, G, H, I and J) and Rio de Janeiro (A and D) were investigated. A total of 119 milk samples were examined for determination of acidity, fat, density, non-fat solids, and lactose. All parameters differed significantly ($p < 0,05$) among the herds by statistical analysis (ANOVA and Tukey-Kramer tests). As regards standards set by national legislation, some of the herds did not meet minimum requirements for acidity (K), fat (C, E, F, G, H, I and J), density (H), and lactose (A). These results indicate the importance of close monitoring milk production at dairy farms to provide a better quality product to consumers.

KEYWORDS: Composition, Normative Instruction 37, milk quality.

INTRODUÇÃO

O leite de cabra é um alimento nutritivo e saudável, com elevados teores de vitamina A, cálcio, fósforo, potássio, magnésio e proteínas de alto valor biológico, sendo indicado a consumidores variados como crianças, adultos, idosos e pessoas com restrições alimentares. Possui glóbulos de gordura menores que os do leite de vaca, o que caracteriza uma melhor digestibilidade (LAGUNA, 2004).

As composições física e química do leite de cabra foram avaliadas por vários pesquisadores (BARROS & LEITÃO, 1992; PRATA et al., 1998; QUEIROGA et al., 1998; TONIN & NADER FILHO, 2002; GOMES et al., 2004; PEREIRA et al., 2005; FONSECA et al., 2006; QUEIROGA et al., 2007; ANDRADE et al., 2008) e podem variar conforme a raça, idade, o ciclo estral, estágio da lactação, a alimentação, as condições ambientais, o manejo, estado de saúde, a quantidade de leite produzido e a fisiologia individual do animal (ALVES & PINHEIRO, 2004).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, pela Instrução Normativa N° 37 de 31 de Outubro de 2000 (BRASIL, 2000), estabeleceu requisitos mínimos de qualidade do leite destinado ao consumo humano, fixados no Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra, como por exemplo: 13 a 18°D para acidez; 2,9%, gordura; 4,3%, lactose; 8,2%, de sólidos não gordurosos e 1.028,0 a 1.034,0 para densidade a 15°C.

O presente estudo teve como objetivo analisar parâmetros físico-químicos do leite de cabras de alguns rebanhos dos Estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro, Brasil, e comparar os resultados obtidos com os valores fixados pela Normativa n° 37.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram investigadas 119 amostras de leite de cabra *in natura*, obtidas em 11 rebanhos leiteiros, identificados alfabeticamente de A à K, dos municípios de Niterói (10), Nova Friburgo (10) e Paracambi (7) no Estado do Rio de Janeiro, e dos municípios de Além Paraíba (20), Belmiro Braga (10), Coronel Pacheco (22), Leopoldina (20) e Viçosa (20), do Estado de Minas Gerais. As criações eram compostas de animais puros e/ou mestiços das raças Saanen e Parda Alpina em diferentes estágios de lactação.

A coleta de 250mL de leite (mistura dos dois tetos), por animal, foi realizada pela ordenha manual, sendo as amostras acondicionadas em frascos plásticos descartáveis, remetidos sob refrigeração em caixa isotérmica ao Laboratório Nacional Agropecuário/ LANAGRO/MAPA/RJ, para a realização de exames físico-químicos no prazo de até 24 horas.

Os parâmetros físico-químicos analisados das 119 amostras de leite de cabra compreenderam: acidez titulável pelo Teste Dornic, gordura pelo butirômetro de Gerber, extrato seco desengordurado (ESD) pelo disco de Ackermann (BRASIL, 1981); lactose pelo método de Lane-Eynon (BRASIL, 2003) e densidade a 15°C em aparelho eletrônico modelo “Density DMA 48 Density Meter AP PAAP”. Os resultados obtidos foram comparados ao estabelecido pela Instrução Normativa nº 37 de 31 de Outubro de 2000, Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra (BRASIL, 2000).

O presente estudo foi realizado pelo método epidemiológico observacional transversal, e a seleção dos caprinos por rebanho feita ao acaso. Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente pela Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo Teste de Tukey-Kramer para comparação entre as médias. Os dados obtidos em frequência foram analisados pelo Qui-quadrado para comparar proporções (MARTIN et al., 1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros acidez, gordura, ESD, densidade e lactose diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os rebanhos caprinos leiteiros estudados pela ANOVA e dentre os rebanhos pela análise de Tukey-Kramer.

O valor médio geral de 15,6°D, obtido para o parâmetro acidez, foi próximo aos valores reportados por PRATA et al. (1998), PEREIRA et al. (2005) e QUEIROGA et al. (2007), isto é, 16,1; 16,0 e 15,2°D, respectivamente. O padrão fixado pela legislação brasileira é de 13°D a 18°D (BRASIL, 2000). Todos os rebanhos apresentaram valores dentro do preconizado, exceto o rebanho K com um valor médio de 19,48°D.

O teor médio geral de gordura foi de 2,6%, inferior aos valores de 3,5% (BARROS & LEITÃO, 1992; PEREIRA et al., 2005), 3,7% (PRATA et al., 1998; ANDRADE et al., 2008), 4,6 a 5,5% (QUEIROGA et al., 1998), 4,1% (GOMES et al., 2004), 4,4% (PEREIRA et al., 2006) e 3,4% (FONSECA et al., 2006; QUEIROGA et al., 2007). A média de gordura nos rebanhos C (2,6%), E (2,0%), F e G (2,3%), H (1,4%), I (2,7%) e J (2,1%), não atendeu o valor mínimo de 2,9% preconizado (BRASIL, 2000).

O valor médio geral de 8,2% para o ESD foi inferior aos valores de 8,6% (BARROS; LEITÃO, 1992), 8,9% (PRATA et al., 1998) e 8,4% (PEREIRA et al., 2005) e superior ao valor de 7,9% encontrado por QUEIROGA et al. (2007). Os rebanhos A (7,9%), E (7,9%), F (8,1%), G (8,1%) e H (7,4%) não atingiram o mínimo de ESD (8,2%) exigido pela legislação (BRASIL, 2000).

O valor médio observado para densidade a 15°C foi de 1029,7g/L, inferior aos valores de 1032,4; 1030,2 e 1031,7g/L obtidos por PRATA et al. (1998), PEREIRA et al. (2005) e QUEIROGA et al. (2007), respectivamente. No rebanho H o valor médio de 1027,0 foi inferior ao valor mínimo de 1028,0 estabelecido por BRASIL (2000).

O valor médio geral de lactose foi de 4,9%, superior aos registrados por PRATA et al. (1998), QUEIROGA et al. (1998), GOMES et al. (2004), PEREIRA et al. (2006) e QUEIROGA et al. (2007) de 4,3%, 4,4%, 4,1%, 4,3% e 4,1%, respectivamente. O rebanho A (4,0%) não atendeu o valor mínimo de 4,3% estabelecido pela legislação (BRASIL, 2000).

CONCLUSÃO

Em relação aos resultados obtidos, os rebanhos K para acidez; C, E, F, G, H, I e J para gordura; H para densidade e A para lactose, não alcançaram os valores fixados pela Normativa nº 37, o que implica em melhorias da produção leiteira caprina com a implementação de monitoramento dos rebanhos a fim de garantir um melhor rendimento e qualidade desse produto, oferecido ao consumidor.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Nacional Agropecuário - LANAGRO/MAPA/RJ, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à Fundação de Amparo à Pesquisa Carlos Chagas Filho - FAPERJ.

REFERÊNCIAS

- ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. P. A importância do leite de cabra na nutrição humana. 2004. Disponível em: <http://www.caprtec.com.br/artigos_embropa.htm>. Acesso em: Set. 2004.
- ANDRADE, P. V. D.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M.; FERREIRA, J. M. Características microbiológicas e físico-químicas do leite de cabra submetido à pasteurização lenta pós-envase e ao congelamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p. 1424-1430, 2008.
- BARROS, G. C.; LEITÃO, C. H. S. Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.12, n. 3-4, p.45-48, 1992.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes**. II Métodos Físicos e Químicos. Cap. 14: Leite Fluido. Brasília, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. **Instrução Normativa nº 37**. Brasília, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Instrução Normativa nº 22**. Brasília, 2003.

FONSECA, C. R.; PORTO, E.; DIAS, C. T. S.; SUSIN, I. Qualidade do leite de cabra *in natura* e do produto pasteurizado armazenados por diferentes períodos. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 944-949, 2006.

GOMES, V.; LIBERA, A. M. M. P. D.; MADUREIRA, K. M.; ARAÚJO, W. P. Influência do estágio de lactação na composição do leite de cabras (*Capra hircus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 5, p. 339-342, 2004.

LAGUNA, L. E. O Leite de cabra como alimento funcional. EMBRAPA. Disponível em: <http://www.capritec.com.br/artigos_embropa030609a.htm>. Acesso: Set. 2004.

MARTIN, S. W.; MEEK, A. H.; WILLEBERG, P. **Veterinary epidemiology: Principles and Methods**. 4.ed. Iowa: Iowa State University Press/ Ames, 1994. 343 p.

PEREIRA, J. S.; MOREIRA, L. H.; RISTOW, A. M.; MARINI, S.; TAVARES, D. V. A. M.; ARAGÃO, I. K. M. B. Levantamento da contagem de células somáticas (CCS) e componentes do leite de cabras da raça Saanen criadas no município de Teresópolis – RJ. **Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida**, Santa Maria, v. 26, p. 439-440, 2006.

PEREIRA, R. A. G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; VIANNA, R. P. T.; OLIVEIRA, M. E. G. Qualidade química e física do leite de cabra distribuído no Programa Social “Pacto Novo Cariri” no Estado da Paraíba. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 205-211, 2005.

PRATA, L. F.; RIBEIRO, A.C.; REZENDE, K. T.; CARVALHO, M. R. B.; RIBEIRO, S. D. A.; COSTA, R. G. Composição, perfil nitrogenado e características do leite caprino (Saanen). Região Sudeste. Brasil. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 428-432, 1998.

QUEIROGA, R. C. R. E.; COSTA, R. G.; BISCOTINI, T. M. B.; MEDEIROS, A. N.; MADRUGA, M. S.; SHULER, A. R. P. Influência do manejo do rebanho, das condições higiênicas da ordenha e da fase de lactação na composição química do leite de cabras Saanen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 430-437, 2007.

QUEIROGA, R. C. R. E.; TRIGUEIRO, I. N. S.; FERREIRA, M. C. C. Caracterização do leite de cabras mestiças do Brejo Paraibano, durante o período de lactação. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 58, p. 77-80, 1998.

TONIN, F. B.; NADER FILHO, A. Influência do estágio de lactação, hora e número de ordenhas sobre o teor de cloretos no leite caprino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 1, p. 64-67, 2002.

INFLUÊNCIA DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE DE OVELHAS SANTA INÊS EM DIFERENTES FASES DA LACTAÇÃO: ESTUDO PRELIMINAR

Eduardo Levi de Sousa Guaraná¹, Rogério Adriano dos Santos¹, Natália da Silva e Silva²
Anne Grace S. Siqueira Campos¹, José Augusto Bastos Afonso³, Carla Lopes de Mendonça³

1. Médico Veterinário, Aluno do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

2. Médica Veterinária, Aluna do Programa Saúde Animal na Amazônia (UFPA)

3. Médico Veterinário, doutor, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, 55292-901, Garanhuns, C.P.152, Pernambuco, Brasil – E-mail:cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: *California Mastitis Test*, componentes do leite, infecção intramamária.

ABSTRACT

INFLUENCE OF SUBCLINICAL MASTITIS ON THE PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF MILK FROM SANTA INÊS EWES IN DIFFERENT LACTATION STAGES: A PRELIMINARY STUDY

This work assesses how subclinical mastitis can influence physical-chemical characteristics of milk from 18 Santa Inês ewes in different lactation stages. The animals were divided into two groups according to the condition of the glands: healthy glands (G1) and glands with subclinical mastitis (G2). The number of mammary glands was stable, although slightly higher after parturition. Research findings revealed no significant differences between levels of protein and electrical milk conductivity ($P < 0,05$) in both cow groups, although the latter variable's values were higher for the second group. As regards healthy glands, percentage of lactose decreased in the last lactation stage. In the same period, the percentage of milk fat reduced significantly, which correlated with density. Evidence from the second group included lower dornic acidity levels, higher alkaline pH values, and higher chloride concentrations. Therefore, results show that subclinical mastitis caused little variation on the physical-chemical qualities of milk, which was probably due to the low pathogenicity of coagulase-negative staphylococci isolated from the milk samples.

KEYWORDS: *California Mastitis Test*, intramammary infection, milk components.

INTRODUÇÃO

A mastite ovina pode se manifestar nas formas clínica ou subclínica, sendo esta última de difícil diagnóstico, pela não apresentação de sintomas e sinais. As alterações provocadas no tecido mamário refletem não somente na produção, como também nas características físico-químicas do leite, onde os principais componentes podem estar alterados, comprometendo a qualidade nutricional deste para a alimentação dos borregos (SANTOS et al., 2007). O *California Mastitis Test* (CMT) é considerado um teste útil como triagem para identificação de ovelhas com mastite subclínica, sendo empregado como preditor de infecções mastíticas, apresentando correlação positiva com a contagem de células somáticas e o isolamento bacteriano (McDOUGALL et al., 2001). Este estudo tem por objetivo avaliar a influência da mastite subclínica sobre as principais características físico-químicas do leite de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases da lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram acompanhadas 18 ovelhas primíparas e multíparas da raça Santa Inês durante a lactação: Antes do parto (aproximadamente 10 dias); 15 dias pós-parto (dpp); 30 dpp; 60 dpp e 90 dpp. Os animais eram criados em sistema semi-intensivo e submetidos ao mesmo manejo higiênico-sanitário e nutricional. As ovelhas foram submetidas ao exame clínico da glândula mamária (DIFFAY et al., 2004). Para a triagem dos animais foi empregado o CMT. Os resultados foram classificados em dois grupos: CMT negativo (negativo e traços) e CMT positivo (1+, 2+ e 3+) em cada uma das fases de observação (SCHALM et al., 1971). Foram acompanhadas ao longo da lactação 36 metades mamárias e as respectivas amostras de leite separadas em dois grupos: G1 (glândulas sadias) e G2 (mastite subclínica). Não era empregado manejo de ordenha por se tratar de raça com aptidão para corte. A colheita foi realizada pela manhã, com separação prévia dos borregos 12h antes do exame da glândula e colheita de 80 mL de leite utilizado para análise físico-química. Após prévia higienização do úbere e antisepsia do óstio do teto com álcool a 70^oGL, colheu-se 5mL para análise bacteriológica (QUINN et al., 1994). Para avaliação da densidade a 15°C e acidez Dornic (°D) empregou-se as recomendações do Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA, 1981). Para a determinação da gordura (%), proteína (%), lactose (%), potencial de hidrogênio (pH) e condutibilidade elétrica (mS/cm) utilizou-se analisador automatizado de leite (Ekomilk Total), calibrado para a espécie ovina. O teor de cloretos (mEq/L) foi determinado empregando *kit* comercial (Labtest). A análise físico-química foi realizada no 15^o, 30^o, 60^o e

90º dias de lactação. Os resultados foram analisados estatisticamente empregando-se análise de variância (CURI, 1997). Utilizou-se o programa de computador Statwin (SIGMASTAT).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 18 ovelhas acompanhadas, verificou-se na fase final da lactação (90 dpp) que uma estava sem leite (seca) e outra veio a óbito; uma terceira ovelha apresentou mastite clínica na mesma metade mamária nos momentos 15 dpp, tendo sido isolado *Streptococcus* spp e aos 60 e 90 dpp, *Staphylococcus aureus*, apesar da terapia medicamentosa. Das amostras provenientes das ovelhas com mastite subclínica foram isolados, quase em sua totalidade, *Staphylococcus* coagulase negativo (S-CN) (79,2%), conforme também relatado por Oliveira (2006). Após avaliação clínica das glândulas durante a lactação foi observado que o número de metades mamárias com mastite subclínica se manteve estável (15º dpp – n=12; 30º dpp – n=9; 60º dpp – n=9; 90º dpp – n=10), tendo valores pouco superiores no primeiro momento.

Ao compararmos os resultados, observou-se elevação significativa ($P<0,05$) no percentual de gordura no grupo com mastite subclínica, quando comparado ao sadio, nos momentos 15 dpp (7,39%) e 30 dpp (10,13%). No grupo sadio foi verificado efeito de momento, sendo verificado aumento ($P<0,05$) nos valores desta variável no final da lactação (90 dias). Estes resultados provavelmente estejam relacionados à diminuição do volume de leite verificado em algumas glândulas com mastite subclínica, assim como no final da lactação (KITCHEN, 1981).

Os valores da proteína não apresentaram diferença estatística entre grupos e na comparação entre os momentos de cada grupo. ASSENAT (1991) relata valores de proteína superiores aos encontrados neste estudo, observando um aumento na concentração da proteína durante a lactação, fato este não observado.

No componente lactose, observou-se não haver diferença entre os grupos ($P>0,05$), apesar de ter sido observado no último momento (90 dpp) diminuição desta variável (5,88%), quando comparada ao primeiro momento (15 dpp) (6,41%) no G1. Os valores obtidos para a lactose, de maneira geral, foram superiores aos relatados por ASSENAT (1991) e OLIVEIRA (2006), provavelmente em decorrência das diferentes metodologias empregadas.

Ao compararmos os valores da densidade, notou-se apenas aos 30 dpp diferença entre os grupos ($P<0,05$), estando os valores do G2 inferiores (1.032,53) aos do G1 (1.037,13), este fato pode estar relacionado com o percentual de gordura desta mesma fase, que apresentou seu valor mais elevado, tendo em vista ser a densidade inversamente proporcional ao percentual de gordura (BRITO et al., 2006). Foi observado efeito de momento ($P<0,05$) nos

valores da densidade no leite do G1, no qual ocorreu um decréscimo significativo no final da lactação (90 dpp), semelhantes aos relatados por ASSENAT (1991).

Ao analisar a acidez Dornic, verificou-se somente haver diferença estatística ($P < 0,05$) entre ambos os grupos aos 60 dpp (G1- 24,74⁰D; G2- 21,19⁰D), apesar de em todas as fases da lactação os valores desta variável permanecer inferior nas amostras de leite do G2. Os valores da acidez Dornic de G1 e G2 ao longo dos momentos foram semelhantes aos descritos por BRITO et al. (2006).

Ao analisar os valores do pH do leite, verificou-se haver diferença estatística ($P < 0,05$) entre os grupos em todas as fases estudadas, exceto aos 60 dpp, apesar dos valores desta variável permanecerem sempre superiores durante a lactação no G2, atingindo inclusive, na fase final aos 90 dpp valores médios de 7,26. Esta elevação do pH no G2 poderia ser justificado pela passagem de proteínas plasmáticas e eletrólitos favorecendo à alcalinidade do leite (SANTOS et al., 2007).

Ao compararmos os resultados do teor de cloretos entre os grupos verifica-se haver diferença estatística ($P < 0,05$) nos primeiros momentos de avaliação (até 30 dpp), apesar dos valores médios permanecerem em todas as fases superiores no G2. Foi observado efeito de momento no G1, no qual foi verificado aumento significativo desta variável aos 90 dpp (114,94mEq/L). Conforme relatado por AFONSO & VIANNI (1995) uma das primeiras modificações é a passagem de eletrólitos (sódio e cloreto), justificando a elevação de cloretos na mastite.

A condutibilidade elétrica do leite permitiu-nos constatar não haver diferença ($P > 0,05$) entre os grupos ao longo da lactação e entre os momentos de cada um dos grupos analisados; no entanto em todos os momentos os valores desta variável no G2 foram superiores aos observados no G1. Informações sobre eletrocondutividade do leite de ovelhas são escassas, no entanto os valores encontrados neste estudo são inferiores aos relatados por Fernandes (2002), trabalhando com cabras Saanen. Na espécie bovina esta variável vem sendo considerada um bom indicador da mastite subclínica (ZAFALON et al., 2005).

CONCLUSÃO

A mastite subclínica diagnosticada durante as fases da lactação estudadas comprometeu de forma branda a qualidade físico-química do leite, provavelmente em decorrência da baixa patogenicidade do S-CN isolado na quase totalidade das amostras.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (MCT/CNPq – Edital Universal-15/2007), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

AFONSO, J. A. B.; VIANNI, M. C. E. Variação do teor de cloretos e acidez Dornic no leite de vacas com mastite induzida experimentalmente. **Revista Universidade Rural. Série Ciências da Vida**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, p. 1-6, 1995.

ASSENAT, L. Composición e propiedades. In: LUQUET, F. M. **Leche y productos lácteos: vaca-oveja-cabra**. Zaragoza: Acribia, cap. 1, p. 277-313, 1991.

BRITO, M. A.; GONZÁLEZ, F. D.; RIBEIRO, L. A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L.; BARBOSA, P. R.; BERGMANN, G. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 942-948, 2006.

CURI, P. R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas**. Botucatu: Tipomic, 1997. 263p.

DIFFAY, B. C.; MCKENZIE, D.; WOLF, C.; PUGH, D. G. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**, São Paulo: Roca, p.1 – 19, 2004.

FERNANDES, M. A. **Avaliação das características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de cabras, das raças Saanen, e Alpina, criadas no estado de São Paulo**. 2002. 152 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

KITCHEN, B. J. Review on the progress of dairy science: Bovine mastitis, milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 48, p. 167-188, 1981.

LANARA – Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II- Métodos físicos e químicos**. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Brasília, 1981. 201p.

McDOUGALL, S.; MURDOUGH, P.; PANKEY, W.; DELANEY, C.; BARLOW, J.; SCRUTON, D. Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 40, p. 245-254, 2001.

OLIVEIRA, V. L. M. **Aspectos do leite e mastite em ovinos da raça Santa Inês em Sergipe**. 2006. 70p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Núcleo de Pesquisa e Pós-Graduação e Estudos em Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD, F. C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 1994. 512p.

SANTOS, R. A.; MENDONÇA, C. L.; AFONSO, J. A. B.; SIMÃO, L. C. V. Aspectos clínicos e características do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 1, p. 6-12, 2007.

SCHALM, O. W. CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea&Febiger, 1971. 360p.

ZAFALON, L. F.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos do leite como métodos auxiliares de diagnóstico na mastite subclínica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 159-163, 2005.

INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO INTRAMAMÁRIA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE DE OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS.

Mayra Zilta P. R. B. de Almeida¹, Luiz Gustavo Lopes de Oliveira¹, José Augusto Bastos Afonso², Norma dos Santos Lázaro³, Carla Lopes de Mendonça²

1. Aluno de Pós Graduação do Programa de Pós Graduação em Ciência Veterinária / UFRPE

2. Médico Veterinário, Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns/UFRPE, Garanhuns, C.P.152, Cep. 55290-000, Garanhuns, PE. E-mail: cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

3. Médica Veterinária, Pesquisadora Visitante, Depto de Bacteriologia, IOC/Fiocruz, RJ.

PALAVRAS-CHAVE: Agentes etiológicos, componentes do leite, mastite subclínica.

ABSTRACT

INFLUENCE OF INTRAMAMMARY INFECTIONS ON THE PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF MILK FROM SANTA INÊS EWES

This study assesses subclinical mastitis in Santa Inês ewes and its influence on the physical-chemical characteristics of milk. Investigation of 31 flocks was carried out, totalizing 135 primiparous and multiparous ewes in different lactation stages. A total of 244 mammary glands were examined before the collection of milk samples for bacteriological analysis and determination of physical-chemical milk compounds, such as acidity, density, fat, pH and chloride concentration. The microorganisms isolated were: *Staphylococcus* spp., mainly coagulase negative *Staphylococcus*, *S. aureus*, and *S. hyicus* (80,18%); Gram-negative bacteria (9,43%); *Streptococcus* spp. (7,55%); and *Bacillus* spp. (2,83%). Research findings revealed significant alterations ($p<0,05$) as regards values of acidity, pH, density, and chloride concentration due to subclinical mastitis.

KEYWORDS: Bacterial agents, milk composition, subclinical mastitis.

INTRODUÇÃO

A mastite representa um entrave na criação de ovinos, devido às perdas econômicas que vem acarretando e por limitar a produção de borregos, devido ao comprometimento funcional da glândula mamária, causando sérios prejuízos econômicos aos produtores. (COSTA et al., 2001). Na mastite subclínica não se detecta alterações na secreção láctea e no úbere, embora

possa ser observado a redução na produção de leite, alterações na composição físico-química, aumento do número de células somáticas e isolamento de microrganismos patogênicos, comprometendo a qualidade nutricional deste para a alimentação dos borregos (SANTOS et al., 2007). Esta apresentação tem maior conotação pela associação significativa entre o aparecimento de mastite clínica a partir de antecedentes de mastite subclínica, causada pelo mesmo agente etiológico (MENZIENS, 2000).

Diante das evidências descritas na literatura sobre a importância econômica da enfermidade e considerando ser a forma subclínica da doença um problema potencial aos rebanhos não somente leiteiros, mas de carne, este estudo objetivou avaliar a influência dos agentes etiológicos da mastite subclínica sobre as características físico-químicas do leite.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 31 rebanhos da raça Santa Inês localizados em 15 municípios na região do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco. Foram utilizadas 135 ovelhas primíparas e múltiparas em diferentes estágios de lactação. Nenhuma das ovelhas se encontrava no período de secagem nem recém paridas, não sendo colhido material nos quinze dias após o parto, ou nos estágios inicial e final de lactação. Nos rebanhos não se adotava o manejo de ordenha das ovelhas, por se tratar de uma raça de aptidão para corte. Os borregos foram separados de suas mães 12 horas antes do exame da glândula mamária para posterior colheita do leite. O exame clínico da glândula mamária foi efetuado seguindo as recomendações de GRÜNERT (1993) e DIFFAY et al. (2005).

Após desprezar os primeiros jatos de cada metade mamária, aproximadamente 50ml de leite foi colhido para a análise físico-química do leite. Logo em seguida, após prévia higienização do úbere e criteriosa antissepsia do óstio do teto aproximadamente 5mL de leite foram acondicionadas em tubos esterilizados para análise bacteriológica.

A análise físico-química do leite foi realizada seguindo as recomendações do Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA, 1981). O teor de cloretos foi determinado quantitativamente pelo método colorimétrico (Cloreto, LABTEST) e a leitura efetuada em analisador bioquímico semi automático (LABQUEST).

O cultivo bacteriológico foi realizado de acordo com o método recomendado pelo *National Mastitis Council* (1990). As amostras foram semeadas em ágar sangue de carneiro a 5% e agar MacConkey e incubadas a 37°C, realizando-se leituras às 24, 48, 72 e 96h. Observou-se as características culturais e morfo-tintoriais, por meio do método de coloração de Gram, com posterior caracterização bioquímica das amostras (QUINN et al., 2004).

As características físico-químicas foram analisadas por meio da estatística descritiva e de inferência onde as variáveis acidez, cloreto, densidade, gordura e pH foram agrupadas baseadas no resultado do isolamento bacteriológico. Os dados das variáveis: acidez, cloreto, densidade, gordura e pH analisados nas amostras de glândulas mamárias sadias, infectadas e infectadas pelos diferentes agentes apresentaram distribuição normal, empregando-se o teste t de *Student* ao nível de significância de 5 % (VIEIRA, 1980). Com o emprego dos softwares SPSS 8.0.0 for Windows e Statistica 6.0 foram calculadas as estatísticas descritivas e os testes de hipótese sobre os dados das variáveis analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De uma população constituída de 135 ovelhas, 270 glândulas foram submetidas ao exame clínico, sendo selecionadas 244 para este estudo, uma vez que 26 metades mamárias foram diagnosticadas com mastite clínica. Das 244 amostras de leite analisadas, 100 (40,98%) apresentaram crescimento bacteriano. O gênero com maior frequência de isolamento foi *Staphylococcus* (*Staphylococcus* coagulase negativo (SCN), *S.aureus* e *S. hyicus*) com um percentual de 80,18% de isolamento nas amostras analisadas, seguido pelo grupo das bactérias Gram negativas fermentadoras (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*) e não fermentadoras (*Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*), que revelaram um percentual de isolamento de 9,43%, *Streptococcus* spp. (7,55%) e *Bacillus* spp. (2,83%). Dentre os *Staphylococcus* spp., os SCN foram os microrganismos mais frequentemente isolados. Estes microrganismos são considerados não patogênicos ou de baixa patogenicidade para glândula mamária de ruminantes, entretanto alguns SCN podem causar mastite clínica como um patógeno maior, já tendo sido observada evidente variação na patogenicidade dos diferentes isolados (FTHENAKIS & JONES, 1990).

O valor médio da acidez Dornic das ovelhas sadias foi de 20,61⁰D, estando situado na faixa de normalidade para a espécie (ASSENAT, 1991). Comparando este resultado aos das glândulas infectadas, observou-se diminuição significativa ($P < 0,05$) desta variável nas amostras com crescimento bacteriano, independente do agente etiológico. Os valores médios, da acidez, dos animais sadios quando comparados aos infectados por SCN, SCP, *Streptococcus* spp. e bactérias Gram negativas, revelaram diminuição significativa, com exceção do *Streptococcus* spp. ($P > 0,05$), que não desencadeou alteração neste componente. Os menores valores foram evidenciados nas amostras de leite infectadas com SCP (15,50⁰D). Resultados semelhantes foram observados por VIANNI (1997) trabalhando com leite de

búfalas, ao observar diminuição mais intensa nos valores desta variável em búfalas infectadas com *S. aureus*, quando comparadas às infectadas com cocos catalase negativo.

O teor de cloretos das glândulas sadias (72,47mEq/L) foram similares aos relatados por NUNES et al. (2007), trabalhando com ovelhas Santa Inês. Ao compararmos a glândula sadia frente às infectadas pelos diferentes agentes etiológicos observamos que os valores médios mais elevados do teor de cloretos no leite ($p < 0,05$) foram evidenciados nas amostras em que se isolou SCP e bactérias Gram-negativas. As infecções das metades mamárias ocasionadas por *Streptococcus* spp. não alteraram estatisticamente o constituinte cloreto nesta investigação. O aumento da passagem de íons cloretos (CL-) para o leite de glândulas infectadas ocorre como mecanismo de compensação no restabelecimento do equilíbrio osmótico do leite em relação ao sangue, uma vez que a lactose que desempenha papel importante neste equilíbrio geralmente encontra-se diminuída nos processos infecciosos da glândula mamária (FONSECA & SANTOS, 2001).

O valor médio verificado para a densidade do leite foi de 1.037,32. Ao compararmos os resultados das glândulas sadias aos das infectadas verificamos diferença significativa, muito embora esta tenha ocorrido somente em decorrência da infecção por bactérias Gram-negativas, tendo em vista que apesar de ter ocorrido diminuição nos valores da densidade nas infecções acarretadas pelos os outros agentes isolados, estas não foram significativas. Para SCHALM et al. (1971), na infecção intra mamária a quantidade dos principais componentes do leite decaem comprometendo desta forma a densidade.

O percentual de gordura do leite de ovelhas sadias foi de 3,40%, estando abaixo dos relatados por BRITO (2004). Ao observarmos os valores do percentual de gordura do leite das glândulas sadias e infectadas, verificamos não haver diferença significativa ($P > 0,05$), resultado também evidenciado nas infecções ocasionadas pelas distintas bactérias isoladas neste estudo, com exceção das Gram-negativas. KITCHEN (1981) relata que a maior parte das mudanças, que ocorrem no teor da gordura no leite, como resultado da mastite, são relativamente mínima e em muitos casos não acontece até que a infecção se torne severa.

Os valores encontrados para o pH do leite de glândulas sadias foi de 6,72, semelhantes aos relatados por SANTOS et al. (2007). Ocorreu diferença significativa ($P < 0,05$) nos valores médios do pH entre as glândulas sadias e infectadas (6,82). A elevação nos valores do pH ($P < 0,05$) observado neste estudo foi significativa na infecção causada pelos diferentes microrganismos isolados, exceto pelo *Streptococcus* spp., único agente em que não foi detectada diferença estatística ($P > 0,05$). A elevação do pH no leite ocorre devido à alteração na permeabilidade capilar, provocada pela intensa reação inflamatória, como consequência há passagem de certos íons como o cloreto de sódio e o bicarbonato de sódio (SCHALM, 1977).

A elevação, apesar de não significativa, dos valores de pH das glândulas infectadas com *Streptococcus* spp., também foi relatada por VIANNI (1997), que verificou menor intensidade de variação do pH em amostras de búfalas infectadas com cocos catalase negativos, quando comparadas à infecção pelo *S. aureus*. Neste estudo observou-se que a infecção intra-mamária por bactérias Gram negativas acarretou alterações ($p < 0,05$) em todos os constituintes físico-químicos, sendo verificados os maiores valores médios de cloreto, gordura e pH, assim como os menores valores médios de densidade.

CONCLUSÃO

Os agentes bacterianos isolados dos casos de mastite subclínica diagnosticada nos rebanhos, acarretou alterações nos valores da acidez Dornic, densidade, teor de cloretos e pH do leite representando um sério problema ordem econômica nesta espécie animal.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ASSENAT, L. Composición e propiedades. In: LUQUET, F.M. **Leche y productos lácteos: vaca-oveja-cabra**. Zaragoza: Acribia, 1991. cap. 1, p. 277-313.
- BRITO, M. R. A. **Variação dos perfis metabólico, hematológico e lácteo em ovinos leiteiros na serra gaúcha**. 2004. 53 f. Dissertação. (Mestrado em ciência veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
- COSTA, N. A.; MENDONÇA, C. L.; AFONSO, J. A. B.; SOUZA, M. I.; CALADO, A. L.; PIRES JR., J. B.; COUTINHO, L. T.; SIMÃO, L. C. V.; CAVALCANTE, A. E. L. Ocorrência de mastite em ovelhas atendidas na Clínica de Bovinos, UFRPE, Campus Garanhuns. In CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28, 2001. Salvador. **Anais...** Salvador, 2001. p.123.
- DIFFAY, B. C.; MC KENZIE, D.; WOLF, C.; PUGH, D. G. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca. p.1-19, 2005.
- FONSECA, F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2001.175 p.
- FTHENAKIS, G. C.; JONES, J. E. The effect of inoculation of coagulase-negative staphylococci into the ovine mammary gland. **Journal of Comparative Pathology**, Amsterdam, n. 102, v. 2, p. 211-219, 1990.

GRÜNERT, E. Sistema genital feminino In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER M. **Rosenberger: exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1993. p.299-308.

KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis, milk compositional changes and related diagnostic test. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 48, p. 167-188, 1981.

LANARA – Laboratório Nacional de Referência Nacional. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II- Métodos físicos e químicos**. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Brasília, 1981, 201p.

MENZIES, P. I. **Mastitis of sheep – Overview of recent literature**. University of Guelph, 2000. Disponível em <http://www.vwex.edu/ces/animalscience/sheep/mastitis>. 2000.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection**. 3ed. Arlington: NMC, 1990. 34p.

NUNES, G. R.; BLAGITZ, M. G.; FREITAS, C. B.; SOUZA, F. N.; STRICAGNOLO, C. R.; SANCHES, B. G. S.; AZEDO, M. R.; SUCUPIRA, M. C. A.; DELLA LIBERA, A. M. M. P.. Influência da mastite na composição do leite de ovinos lactantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 34, 2007Santos. **Anais...** Santos, 2007, p.262.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD, F. C.; MAGUIRE, D. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed. 1994. 512p.

SANTOS, R. A.; MENDONÇA, C. L.; AFONSO, J. A. B.; SIMÃO, L. C. V. Aspectos clínicos e das características físico-químicas do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 1, p. 6-12, 2007.

SCHALM, O. W. Pathologic changes in the milk and udder of cows with mastitis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.170, n.10, p.1137-1140, 1977.

SCHALM, O. W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea e Febiger. 1971. 360p.

VIANNI, M. C. E. **Etiologia das mastites subclínicas bubalinas e sua influência sobre as características do leite**. 1997. 162 f. Tese (Tese em Ciência Veterinária) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística**. Piracicaba: Campus. 1980. 120p.

**ESTUDO DO PROTEINOGRAMA E DOS MINERAIS COBRE, FERRO E ZINCO
NO SORO EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS COM MASTITE
EXPERIMENTAL POR *Staphylococcus aureus***

Nivaldo de Azevêdo Costa¹, Luis Carlos Valeriano Simão¹, Rogério Adriano dos Santos¹,
José Augusto Bastos Afonso², José Jurandir Fagliari³, Elizabeth da Cruz Cardoso⁴, Pierre
Castro Soares⁵, Carla Lopes de Mendonça²

1.Aluno do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária/UFRPE, Recife, PE, Brasil

2.Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, C.P. 152, Garanhuns, PE 55292-901.

E-mail: cbg@prppg.ufrpe.br (autor correspondente)

3.Depto de Clínica e Cirurgia, Faculdade de Ciências Agrárias, UNESP, Jaboticabal, SP

4.Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ

5.Depto de Medicina Veterinária, UFRPE, Recife

PALAVRAS-CHAVE: Bactéria Gram positiva, infecção intramamária, ovinos, proteínas
de fase aguda, SDS-PAGE

ABSTRACT

**EVALUATION OF PROTEINOGRAM AND LEVELS OF COPPER, IRON AND
ZINC OF SANTA INÊS EWES WITH EXPERIMENTALLY INDUCED
STAPHYLOCOCCUS AUREUS MASTITIS**

This study evaluates changes in the serum proteinogram and concentrations of copper, iron, and zinc in Santa Inês primiparous ewes with experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. The right mammary gland of 10 animals were inoculated with $1,0 \times 10^4$ UFC/mL. The clinical exam, polyacrilamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), and determination of Cu, Fe, Zn, and plasma fibrinogen (PF) levels were carried out just before inoculation and after 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 168, 180, 288, and 336 hours. All animals presented mastitis and subsequent loss of function of the gland. A total of 23 protein fractions were detected. Their molecular weights (MW) varied between 26,000 and 185,000 daltons (Da), which allowed the identification of positive and negative acute phase proteins, immunoglobulins (IgA and IgG), and some nonidentified proteins. A positive correlation between PF and ceruloplasmin ($r=0,74$), haptoglobin ($r=0,62$) and IgA ($r=0,62$) was also evidenced. Results revealed the importance of ceruloplasmin and haptoglobin as acute phase proteins in intramammary infections of ewes and reiterate fibrinogen as an inflammatory

marker. Serum alterations of Cu, Fe and Zn indicated inflammatory actions of mediators triggered by *S. aureus*.

KEYWORDS: Acute-phase proteins, Gram positive bacteria, intramammary infection, SDS-PAGE, sheep

INTRODUÇÃO

No Brasil, o *Staphylococcus aureus* é relatado como o principal agente da mastite em ovelhas, acarretando transtornos sistêmicos e locais, inclusive com perda do parênquima mamário (OLIVEIRA, 2007). Várias técnicas já estão bem estabelecidas no diagnóstico da mastite, no entanto, a quantificação das PFA pode não apenas detectar a presença de um processo inflamatório em franca ação, mas também indicar um prognóstico e/ou monitorar a resposta do indivíduo à terapia instituída (ECKERSALL, 2000). O aumento na concentração das PFA precede o início do aumento na contagem de células somáticas no leite de vacas com mastite clínica, sendo um importante biomarcador com capacidade de predição (SANDHOLM, 1995). A avaliação do perfil de biomarcadores de reação inflamatória da glândula mamária de ovelhas, bem como de elementos traços, como o Cu, Fe e Zn revestem-se de grande importância, ampliando as possibilidades da utilização de ferramentas diagnóstica e monitoramento frente à utilização de fármacos terapêuticos capazes de restituir a higidez da glândula. Objetivou-se avaliar a patogenicidade do *S. aureus* sobre a glândula mamária de ovelhas, por meio da avaliação da concentração de algumas proteínas, entre as quais as de fase aguda e das dosagens séricas dos minerais cobre, ferro e zinco.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se dez ovelhas Santa Inês, primíparas, recém paridas (> 15 dias pós-parto), dois anos de idade, mantidas em aprisco e dieta constituída de feno de tifton (*Cynodon* sp), capim elefante (*Pennisetum purpureum*), concentrado (aproximadamente 200g/animal/dia), sal mineral e água *ad libitum*. Os borregos foram separados das mães após o parto, depois da ingestão do colostro. As ovelhas foram ordenhadas manualmente duas vezes/dia.

Previamente à inoculação foram estabelecidos os parâmetros clínicos e laboratoriais estabelecendo o momento controle (*baseline*). A glândula direita foi inoculada com $1,0 \times 10^4$ ufc/mL de *S. aureus*, servindo a esquerda como controle. A cepa empregada foi submetida à caracterização bioquímica, molecular e testada frente a diferentes antimicrobianos. Os animais foram acompanhados diariamente. A partir do diagnóstico da

mastite, procedeu-se a colheita do material estabelecendo os momentos: controle, 12h, 24h, 36h, 48h, 60h, 72h, 84h, 96h, 108h, 120h, 132h, 168h, 180h, 288h e 336h pós-inoculação (p.i.). Após o surgimento da infecção e diagnóstico bacteriológico positivo, foi instituído o tratamento, às 36h p.i. Os animais foram submetidos ao exame clínico (DIFFAY et al., 2005). A determinação do FP foi realizada segundo JAIN (1986). A concentração da proteína total sérica foi realizada empregando-se *kit* comercial (Labtest). Para a separação das frações protéicas utilizou-se eletroforese em gel de acrilamida (SDS-PAGE) (LAEMMLI, 1970). As concentrações protéicas foram determinadas em densitômetro computadorizado. Como referência foi utilizada uma solução marcadora (Sigma) com pesos moleculares 29.000, 45.000, 66.000, 97.400, 116.000 e 205.000 daltons (D), além das proteínas purificadas. A determinação das concentrações de Cu, Fe e Zn foram realizadas de acordo com Milles et al. (2001) e leitura em espectrofotômetro de absorção atômica em chama.

Empregou-se análise de variância (Teste F) utilizando-se o procedimento GLM do SAS, com contraste de médias pelo teste de Duncan. Foram efetivadas análises de regressão ajustadas em função dos momentos experimentais e determinação dos coeficientes de correlação para verificar a relação entre pares de variáveis. A significância obtida na regressão foi avaliada por meio do Teste F. Os dados foram analisados por meio do programa computacional *Statistical Analysis System* (SAS, 2000). Foi adotado o nível de significância (p) de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as glândulas inoculadas apresentaram quadro de mastite clínica aguda. Das dez ovelhas, oito desenvolveram a forma gangrenosa, uma evoluiu para a forma crônica, com fibrose do parênquima mamário e outra foi a óbito 48 h p.i.. Após o tratamento, verificou-se em algumas ovelhas o retorno à normalidade dos indicadores clínicos sistêmicos, no entanto houve perda total da funcionalidade da glândula mamária. A SDS-PAGE permitiu o fracionamento de 23 proteínas, cujos pesos moleculares (PM) variaram de 26.000 a 185.000 daltons (D), sendo possível identificar imunoglobulina A (PM=143.000 D), ceruloplasmina (PM=115.000 D); transferrina (PM=85.000 D), hemopexina (PM=79.000 D); albumina (PM=66.000 D), antitripsina $\alpha 1$ (PM=60.000 D), haptoglobina (PM=45.000 D), glicoproteína ácida $\alpha 1$ (PM=40.000 D), imunoglobulina G (PM=36.000 D), bem como das outras proteínas não caracterizadas e identificadas pelos respectivos pesos moleculares. Os estágios iniciais da reação inflamatória, desencadeada pelo *S. aureus* foram responsáveis por várias alterações de fase aguda, sendo uma de suas características a ambigüidade de resposta de dois grupos

distintos de proteínas. As PFA positiva, como a haptoglobina, ceruloplasmina, hemopexina, antitripsina e glicoproteína ácida e as PFA negativa, como a transferrina e a albumina. A elevada concentração da haptoglobina já nas primeiras 24 h.p.i., alcançando níveis máximos às 180h.p.i., ou seja, mais de 14 vezes em relação ao encontrado no momento controle, apesar de significativa ($P<0,05$), foi inferior aos relatados por SALONEN et al. (1996), que verificaram um aumento de mais de 50 vezes em resposta à mastite experimental por *E. coli* em vacas, provavelmente relacionado ao agente etiológico envolvido, tendo em vista ser a *E. coli*, um forte estímulo para a síntese hepática desta PFA, inclusive usada em modelos experimentais (SANDHOLM, 1995). A elevação da ceruloplasmina seis vezes superior ao observado no *baseline* coincidiu com a gravidade do quadro clínico desencadeado 24h.p.i.. A elevação da concentração desta proteína pode ser justificada por sua ação antiinflamatória e biocatalisadora (CHASSAGNE et al., 1998). A diminuição dos níveis séricos de transferrina até 60 h.p.i. a caracterizam como proteína de fase aguda negativa, relacionada com a imunidade inespecífica, considerando que esta seqüestra íons férricos, que poderiam servir de substrato para diferentes agentes patógenos (MURATA et al., 2004). O decréscimo da concentração da hemopexina nas primeiras 24 h.p.i. poderia estar relacionado a um mecanismo de defesa do organismo animal, caracterizado pela particularidade desta glicoproteína de se ligar a fração heme da hemoglobina, indisponibilizando o ferro para patógenos invasores (JAIN, 1993). Os valores médios de albumina diminuídos nos momentos experimentais subseqüentes à indução podem ser justificados pelo fato de ocorrer diminuição desta proteína em resposta a processos inflamatórios (JAIN, 1993). A diminuição inicial observada na concentração da antripsina- $\alpha 1$, sugere que esta não seja representativa como marcador inflamatório nas infecções intra-mamárias em ovelhas causadas pelo *S. aureus*, pois não ocorreu elevação desta proteína nos momentos iniciais de observação, não se mostrando eficaz em predizer a severidade e prognóstico da infecção. Das proteínas identificadas, a glicoproteína ácida $\alpha 1$ foi a única que não sofreu alterações ao longo dos momentos de observação, destoando do encontrado na literatura, onde é relatada como PFA empregada para monitorar processos inflamatórios em diferentes espécies animais (FAGLIARI et al., 2003) e considerada por MURATA et al. (2004) importante biomarcador no monitoramento clínico de processos inflamatórios em bovinos. O leve decréscimo na concentração da imunoglobulina G nos primeiros dias após a infecção pode estar relacionado à migração desta para a glândula na tentativa de auxiliar no controle da infecção, assim como a elevação a partir do 5º dpi, resultante da sua síntese em decorrência do estímulo antigênico (TIZARD, 2002). A concentração de IgA no soro demonstrou correlação positiva com o fibrinogênio ($r = 0,63$) e

com a ceruloplasmina ($r=0,65$), ambas PFA positiva. O perfil de hiperfibrinogenemia entre 60 a 180 h.p.i. foi indicativo de um processo inflamatório resultante do aumento de sua síntese pelos hepatócitos (JAIN, 1993), sendo verificada alta correlação do fibrinogênio plasmático e a ceruloplasmina ($r=0,74$) e deste com a haptoglobina ($r=0,62$), ambas reconhecidas como importantes PFA de ruminantes.

Foi observada elevação ($P<0,05$) nos teores séricos do Cu, que alcançou valor máximo às 168hpi (1,29 $\mu\text{g/dL}$). Os valores do Fe elevaram-se discretamente 12 hpi, e a partir de 24hpi decresceram ($P<0,05$) (2,25 $\mu\text{g/dL}$), mantendo-se inferior ao estabelecido antes da infecção até 180 horas p.i.. Foi observada diminuição ($P<0,05$) nos valores do Zn a partir de 24h p.i. ($P<0,05$), com menor valor entre este momento e de 36 horas p.i.. (0,46 $\mu\text{g/dL}$), nos dois últimos momentos (288h e 336h) os teores séricos foram semelhantes aos iniciais. A diminuição expressiva encontrada para os valores do ferro e zinco foi relatada, em maior ou menor intensidade, nos casos de mastite em vacas, cabras e ovelhas, apesar de MIDDLETON et al. (2004) concluírem que o processo de indisponibilização de minerais como um mecanismo de defesa inespecífico na mastite por *S. aureus* ser menos acentuado que o descrito para infecções por Gram-negativas, como a causada pela *Escherichia coli*.

CONCLUSÃO

Neste estudo ficou caracterizada a potente ação local do *S. aureus* sobre a glândula mamária de ovelhas e sua repercussão sistêmica por meio da resposta das PFA, particularmente a ceruloplasmina e a haptoglobina, que apresentaram alta correlação com o fibrinogênio plasmático e das alterações séricas dos minerais caracterizadas pelo decréscimo do Fe e Zn e elevação do Cu.

AGRADECIMENTOS

Ao MCT/CNPq pelo suporte financeiro e à Dra Nilma C. Leal (Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Recife) pela caracterização molecular da amostra de *S. aureus*.

REFERÊNCIAS

- CHASSAGNE, M.; BARNOUIN, J.; CHACORNAC, J. P. Biological predictors for early clinical mastitis occurrence in Holstein cows under field conditions in France. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 35. p. 29-38, 1998.
- DIFFAY, B. C.; McKENZIE, D.; WOLF, C.; PUGH, D.G . Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos** . São Paulo: Roca, p. 1-19, 2005.

ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Medecine Veterinaire**, Toulouse, v. 151, p. 577-584, 2000.

FAGLIARI J. J.; WEISS D. J.; MCCLENANHAN D. M.; EVANSON O. A. Serum protein concentrations in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n.4, p. 383-387, 2003.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4 ed.; Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 221p.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

MIDDLETON, J. R.; LUBY, C. D.; VIERA, L.; TYLER, J. W.; CASTEEL, S. Short Communication: Influence of *Staphylococcus aureus* Intramammary Infection on Serum Copper, Zinc, and Iron Concentrations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v 87, p. 976-979, 2004.

MILLES, P. N.; WILKINSON, S., MCDOWELL, L. R. **Analysis of mineral for animal nutrition research**. 3.ed. Florida: University of Florida - Department of Animal Sciences/USDA/T-STAR, 2001, 118p.

MURATA H.; SHIMADA N.; YOSHIOKA M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 28-40, 2004.

OLIVEIRA, L. G. L. **Estudo clínico-epidemiológico e bacteriológico da mastite em ovelhas da raça Santa Inês no agreste meridional do Estado de Pernambuco**. 2007. 47f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SALONEN, M.; HIRVONEN, J.; PIÖRÄLÄ, S.; SANKARI, S.; SANDHOLM, M. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. **Research in Veterinary Science**, London, v. 60, n.1, p. 88-91, 1996.

SANDHOLM, M. Inflammation in mastitis. IN: SANDHOLM, M.; BUZALSKI, T. H.; KAARTINEN, L.; PYORALA S. **The bovine udder and mastitis**. Helsinki: Gummerus Kirjapaino, 1995. p. 59-75.

SAS INSTITUT. **SAS User's Guide**: statistical Analysis Systems Institute. Inc. Cary, 2000.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**: uma introdução. 6.ed. São Paulo: Roca, 2002. 532p.

DETERMINAÇÃO DA PREVALÊNCIA DAS PRINCIPAIS DOENÇAS DA REPRODUÇÃO NO REBANHO BOVINO DA REGIÃO DE UBERABA-MG

Mauricio Batista Mendes¹, Joely Ferreira Figueiredo Bittar², Wanderson Adriano Biscola Pereira², Gabriela de Godoy Cravo Arduino², Eustáquio Resende Bittar², João Cláudio do Carmo Panetto² e Jandra Pacheco dos Santos³

1. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Uberaba

2. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Uberaba, Av. Nenê Sabino, 1801, 38055-500, Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

E-mail: gabriela.arduino@uniube.br (autor correspondente)

3. Médica Veterinária, mestre, Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, Hospital Veterinário de Uberaba, Instituto de Estudos Avançados em Veterinária “José Caetano Borges”, Universidade de Uberaba.

PALAVRAS-CHAVE: Anticorpos, brucelose, BVD, IBR, leptospirose, neosporose.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE PREVALENCE OF REPRODUCTIVE DISEASES IN UBERABA, MINAS GERAIS

This study estimates the prevalence of antibodies against infectious diseases that affect cattle reproduction in Uberaba, Minas Gerais. These included brucellosis, leptospirosis, infectious bovine rhinotracheitis (IBR), bovine viral diarrhea (BVD), and neosporosis. Serum samples from 126 adult dairy cows were analysed. Results revealed that IBR (80,15%) and BVD (71,42%) infections had the highest prevalence rates, followed by neosporosis (26,98%) and leptospirosis (15,87%). Cattle tested negative for brucellosis.

KEYWORDS: Antibodies, brucellosis, BVD, IBR, leptospirosis, neosporosis.

INTRODUÇÃO

Os sistemas de produção de bovinos são diretamente influenciados pela eficiência reprodutiva dos rebanhos (OLIVEIRA et al., 2007). Doenças infecto-contagiosas da reprodução animal como a rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), neosporose, brucelose e leptospirose estão disseminadas no rebanho nacional, havendo necessidade de preveni-las (DEL FAVA et al., 2003). A etiologia das doenças da reprodução é multifatorial, podendo ser de causa infecciosa e não infecciosa. Dentre as causas infecciosas podem ser citados os agentes virais, bacterianos e parasitários (DEL FAVA et al., 2007).

Inquéritos sorológicos realizados em todo o Brasil têm demonstrado altos percentuais de soroconversão de fêmeas bovinas para o herpesvírus bovino 1 (BoHV-1), para o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e para a *Leptospira hardjo* (*L. hardjo*). A IBR, a BVD e a leptospirose, tanto de forma isolada quanto em associação, ocorrem em um percentual expressivo dos rebanhos bovinos brasileiros (TAKIUCHI et al., 2001; FLORES et al., 2005; JUNQUEIRA et al., 2006). Há relatos da ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* no Brasil, com valores que variam de 7,7% (ANDREOTTI & PINCKNEY, 1999) a 67,85% (BELO et al., 1999).

Estudos mostram que a brucelose bovina parece estar disseminada por todo o território brasileiro, com maior ou menor prevalência dependendo da região estudada. O último diagnóstico de situação da brucelose bovina em nível nacional foi realizado em 1975, tendo sido estimada a porcentagem de animais soropositivos em 7,5% na Região Sudeste. Pesquisas revelaram pequenas alterações na prevalência de brucelose, em Minas Gerais passou de 7,6% em 1975, para 6,7% em 1980. Os dados de notificações oficiais indicam que a prevalência de animais soropositivos se manteve entre 4% e 5% no período de 1988 a 1998 em todo o país (BRASIL, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a prevalência das principais doenças reprodutivas que acometem rebanhos leiteiros da região de Uberaba (MG) através de inquérito sorológico.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras analisadas foram colhidas de 126 fêmeas bovinas adultas de aptidão leiteira de propriedades da região de Uberaba (MG), constituíram-se de soro sanguíneo obtido por punção venosa, acondicionado em recipientes tipo “*ependorf*” e estocado a -20°C até o momento da análise.

As análises sorológicas foram efetuadas no laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Hospital Veterinário de Uberaba. O diagnóstico da brucelose foi efetuado de acordo com os métodos preconizados pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) (BRASIL, 2006).

Para a titulação de anticorpos contra a leptospirose foi utilizada a técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) com utilização de 18 sorovares de leptospirosas cultivadas no laboratório, conforme preconizado por FAINE et al. (1999). Foi considerada como reagente a amostra que apresentou aglutinação de pelo menos 50% na diluição de 1:100. As

amostras reagentes foram tituladas em diluições crescentes, segundo técnica preconizada pela Fundação Nacional da Saúde (BRASIL, 1995).

A pesquisa de anticorpos contra a IBR e BVD foi procedida pelo ensaio imunoenzimático, ELISA indireto, com o auxílio de kits comerciais (IDEXX, Berna, Suíça), da mesma forma como descrito por HOWARD et al. (1989) para BVD, e MÉDICI et al. (2000) para IBR. Já para o diagnóstico sorológico da neosporose a prova utilizada foi a imunofluorescência indireta segundo a técnica descrita por ÁLVAREZ-GARCIA et al. (2002).

Os dados foram tabulados e analisados com relação às suas frequências de observação dos resultados nos exames efetuados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliadas 126 vacas e destas uma (0,79%) foi reagente para brucelose no teste de triagem. Quando submetida à prova confirmatória (prova lenta e 2-mercaptoetanol) apresentou resultado negativo. MONTEIRO et al. (2006) observaram 11,53% dos animais estudados no Mato Grosso do Sul reagentes ao teste de triagem, positividade de 57,29% no exame confirmatório e 6,56% de exames inconclusivos. POLETO et al. (2004), em Passo Fundo (RS), verificaram que 1,22% dos bovinos apresentaram anticorpos contra a *Brucella abortus*.

Após a realização da SAM, foram identificados 15,87% dos animais reagentes aos sorovares Canicola, Copenhageni, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Hebdomadis, Pomona, Pyrogenes, Sentot, Tarassovi e Wolffii. Dos sorovares encontrados o Hebdomadis e o Hardjo foram os mais prevalentes, seguidos pelo sorovar Wolffii. Estes dados se assemelham aos obtidos por MINEIRO et al. (2007) nos quais os sorovares Hardjo, Wolffii e Hebdomadis são os mais prevalentes. JUNQUEIRA et al. (2006) relatam soropositividade contra o sorovar Hardjo em 78,8% das fêmeas testadas.

Reações para mais de um sorovar de *Leptospira* foram observadas em 10 amostras (50%), oito das amostras reagiram contra dois sorovares, e duas contra três ao mesmo tempo. O sorovar Hardjo e Hebdomedis reagiram três vezes entre si, e o Hardjo reagiu ainda com Wolffii, Tarassovi e Sentot, e o Hebdomadis com Sentot, Grippotyphosa, Wolffii e Icterohaemorrhagiae. Os resultados observados são semelhantes ao de Mineiro et al. (2007) que relatam os sorovares Hardjo, Wolffii e Hebdomadis como os mais frequentes.

Contra a neosporose 26,98% dos animais reagiram à imunofluorescência indireta, resultado próximo ao observado por RAGOZO et al. (2003) e por MELO et al. (2006).

Os índices de animais reagentes contra IBR e BVD foram de 80,15% e 71,42%, respectivamente. Resultados diferentes aos observados por FRANDOLOSO et al. (2008) que obtiveram 57,7% dos animais reagentes e por POLETO et al. (2004) com 32,84% dos animais positivos para IBR e 29,41% para BVD.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados do presente estudo, observou-se que a IBR e a BVD foram as enfermidades com maior prevalência entre as doenças da reprodução, já a neosporose e a leptospirose apresentaram menores índices de prevalência, a brucelose não apresentou reação em nenhuma amostra testada.

A brucelose devido à vacinação sistemática e controle da doença através do Plano Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) apresenta-se controlada e com baixa prevalência nos rebanhos leiteiros amostrados.

A presença dessas enfermidades nos rebanhos estudados pode ser um dos fatores para a redução dos índices de produtividade leiteira nessa região.

REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ-GARCIA, G.; PEREIRA-BUENO, J.; GÓMES-BAUTISTA, M.; et al. Pattern of recognition of *Neospora caninum* tachyzoite antigens by naturally infected pregnant cattle and aborted foetuses. **Veterinary Parasitology**, Geneve, v. 107, n. 1-2, p. 15-27, 2002.

ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.; GOMES, A. Diagnóstico sorológico de um rebanho bovino de corte de Mato Grosso do Sul. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11. 1999, Salvador, BA. 1999. **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 226.

BELO, M. A. A.; REZENDE, L. M.; COSTA, A. J. Presença de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos com histórico de abortos não diagnosticados etiologicamente. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11. 1999, Salvador. 1999. **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 229.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)** / organizadores, Vera Cecília Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de controle de zoonoses e animais peçonhentos. **Manual de Leptospirose**. 2.ed. Brasília, DF, 1995. 98 p.

DEL FAVA, C.; ARCARO, J. R. P.; POZZI, C. R. et al. Manejo sanitário para o controle de doenças da reprodução em um sistema leiteiro de produção semi-intensivo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.25-33, 2003.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; GENOVEZ, M. E. Diagnóstico diferencial de doenças da reprodução em bovinos: Experiência do Instituto Biológico. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 73-79, 2007.

FAINE, S. **Leptospira and leptospirosis**. Melbourne: MedSci, 1999. 353 p.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F. et al. A infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 125-134, 2005.

FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; SPAGNOLO, J.; et al. Prevalência de leucose enzoótica bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 4, p. 1102-1106, 2008.

HOWARD, C. J.; CLARKE, M. C.; BROWNLIE, J. Protection against respiratory infection with bovine virus diarrhoea virus of passively acquired antibody. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 19, p.195-203, 1989.

JUNQUEIRA, J. R. C.; FREITAS, J. C.; ALFIERI, A. F. et al. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com o BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo* 1. **Seminário: Ciência Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 471- 480, 2006.

MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Ensaio imunoenzimático comercial no diagnóstico sorológico das infecções por herpesvírus bovino 1. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 343-346, 2000.

MELO, D. P. G.; SILVA, A. C. DA; ORTEGA-MORA, L. M. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 15, n. 3, p. 105-109, 2006.

MINEIRO, A. L. B. B.; BEZERRA, E. E. A.; VASCONCELLOS, S. A.; et al. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 5, p. 1103-1109, 2007.

MONTEIRO, L. A. R. C.; PELLEGRIN, A. O.; ISHIKAWA, M. M.; et al. Investigação epidemiológica da brucelose bovina em um estrato do Estado de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 217-222, 2006.

OLIVEIRA, V. S. F.; FERNANDES, P. R.; MELO, D. P. G.; et al. Neosporose bovina - Revisão. **Revista CFMV**, Brasília, n. 42, p. 27-34, 2007.

POLETTTO, R.; KREUTZ, L. C.; GONZALES, J. C.; et al. Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 595-598, 2004.

RAGOZO, A. M. A. R.; PAULA, V. S. O.; SOUZA, S. L. P.; et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003.

TAKIUCHI, E.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Herpesvírus bovino tipo 1: Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnóstico. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 203-209, 2001.

COMPORTAMENTO SEXUAL DE BOVINOS MACHOS DA RAÇA NELORE COM DERMATITE DIGITAL

Luiz Antônio Franco da Silva¹; Maria Ivete de Moura²; Carlos Vinícius de Miranda Faria²; Jordanna de Almeida e Silva⁴; Ângela Moni Fonseca⁴; Sabrina Lucas Ribeiro de Freitas⁴; Leandro Batista Caetano⁴; Jalily Bady Helou⁴; Tales Dias do Prado⁵

1. Professor Associado de Clínica Cirúrgica Animal, EV/UFG, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil, CEP 74001-970, – E-mail: silvaprofessor@hotmail.com (autor correspondente)
2. Aluna do Programa de Pós-Graduação EV/UFG – Bolsista CNPQ
3. Médico veterinário autônomo
4. Acadêmicos (as) de Medicina Veterinária EV/UFG- Bolsista CNPQ
5. Médico Veterinário Residente EV/UFG

PALAVRAS-CHAVE: Desempenho sexual, enfermidades digitais, reprodução animal.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF THE SEXUAL BEHAVIOR OF NELORE BULLS WITH DIGITAL DERMATITIS

Digital dermatitis may affect fertility, conception rate, pregnancy, and milk production. This study evaluates the behavior of Nelore cattle before and after treatment of digital dermatitis. Three cows in estrus cycles were exposed to 30 bulls. They were 36 months old in the beginning and 48 months old by the end of the experiment and were randomly distributed into two groups of 15 animals each (GI and GII): Group I – animals with digital dermatitis in different degrees of development; Group II – clinically healthy animals (control group). Friedman, Kruskal-Wallis, and Mann-Whitney U tests at 5% ($p \leq 0,05$) significance level were used to detect the presence or absence of a significant difference between groups. A statistically significant difference was observed between GI and GII in 2007, and GI (2007) and GII (2008). Animals in GI performed 34,43% less, when compared to GII in 2007, and 19,9% less when compared to GII in 2008. In 2008, GI animals still did 10,7% less when compared to GII. We conclude that the sexual behavior of Nelore bulls is influenced by digital dermatitis; however, treatment promotes increase of sexual performance.

KEYWORDS: Cattle, digital injuries, sexual performance

INTRODUÇÃO

Enfermidades digitais em bovinos ocasionam perdas de até 20% na produção de leite e 25% na de carne, altos custos com o tratamento, descarte prematuro de animais de alto valor zootécnico e interferência na produção e reprodução, tanto de machos como de fêmeas (NICOLETTI, 2004). Dentre as enfermidades digitais de grande importância econômica e produtiva, destaca-se a dermatite digital (DD) bovina, para qual MANSKE et al. (2002) encontrou prevalência de 29,3% na Suécia e FERREIRA (2003) de 44,0% pesquisando rebanho leiteiro confinado no Brasil. A fertilidade do touro tem alta relação com o comportamento sexual e pode ser avaliada pela intensidade da libido, taxa de serviço e comportamento sexual a campo (SANTOS, 2001). Conforme afirmou MOURA (2008), as enfermidades que determinam impotência *coeundi*, como as doenças digitais atuam como importante fator estressante, mas existem evidências dessas alterações desencadearem esterilidade por impotência *generandi*, relacionada à produção e qualidade dos espermatozóides. Este trabalho objetivou avaliar o comportamento sexual de bovinos machos da raça Nelore, saudáveis e com lesões de dermatite digital, antes e após o tratamento da enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa se desenvolveu em propriedade rural, no município de Quirinópolis, Goiás, entre 2007 e 2008, empregando 30 bovinos machos, Nelore, não castrados, com 36 meses de idade ao início e 48 meses ao final do estudo. Ao começo da avaliação, 50% dos animais apresentavam DD em diferentes graus de evolução clínica e independente do ano estipulou-se abril para a realização das avaliações. A precipitação pluviométrica na região em abril de 2007 foi de 36,5mm, a umidade relativa do ar de 70% e temperatura média de 24,3 °C. Em 2008, esses dados foram de 231,9mm, 78% e 23,1°C, respectivamente. Os bovinos foram distribuídos em dois grupos de 15 animais (GI e GII), sendo GI animais com DD em diferentes graus de evolução clínica e tratados logo após a primeira avaliação do comportamento e GII animais saudáveis, utilizados como controle. Para cada animal doente avaliava-se um bovino saudável com as mesmas características raciais e faixa etária. A avaliação ocorreu individualmente, sempre no período matutino, utilizando-se três vacas no cio. As observações do desempenho sexual dos machos foram realizadas, por dez minutos, sempre na presença das mesmas pessoas. Os principais parâmetros avaliados foram: tentativa de monta (Tm), monta completa (Mc), monta orientada (Mo), monta não orientada (Mn), cheiradas (Ch), lambidas (La), Flehmen (Fl), cabeçada (Cb), movimento pélvico (Mp),

mugido (Mg) e masturbação (Ms) (SALVADOR et al., 2003). Após a primeira avaliação, os animais do GI tiveram as lesões digitais tratadas em duas etapas.

Na primeira removeu-se cirurgicamente as lesões e na seqüência fez-se o toalete dos estojos córneos digitais, doentes e saudáveis, segundo padrões de NUSS & PAULUS (2006). Na segunda etapa aplicou-se nas feridas cirúrgicas antisséptico, antibiótico e sulfato de cobre, protegendo-as com faixas elásticas impermeabilizadas. Realizou-se antibióticoterapia parenteral, removeu-se o curativo no sétimo dia do pós-operatório e iniciou-se a passagem dos animais no pedilúvio. Os grupos I e II tiveram a primeira avaliação em abril de 2007 e a segunda em abril de 2008. Os bovinos alocados no grupo GI a avaliação aconteceu antes e após o tratamento das lesões. Na avaliação dos dados obtidos utilizaram-se o teste Kruskal-Wallis, U Mann Whitney e teste de Friedman ($p \leq 0,05$). Os demais resultados foram analisados descritivamente conforme recomendação de (SAMPAIO, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o tratamento, 13 (86,66%) animais do GI apresentaram cicatrização completa das lesões e dois (13,34%) parcial. A grande variação na apresentação clínica da doença e a falta de qualificação da mão-de-obra possivelmente foram os principais fatores que limitaram a recuperação de todos os animais. Entretanto, como as avaliações ocorreram sempre no mesmo mês e local provavelmente minimizou, em parte, possíveis interferências relacionadas ao desempenho dos animais. A elevada umidade relativa do ar, adequada precipitação pluviométrica e a temperatura amena observada no mês de abril também podem ter contribuído para que ocorresse certa regularidade no comportamento dos animais. Segundo CHAVES et al. (2002) o comportamento sexual de touros depende de vários fatores, como os genéticos, fisiológicos, idade e ambientais.

Os animais de GI, em 2007 praticaram 34,43% a menos das atitudes apontadas por SALVADOR et al. (2003), quando comparados ao GII em 2007 e, menos 19,9% quando comparado ao GII em 2008. Em 2008, os animais de GI ainda realizaram 10,7% a menos quando comparados ao GII. Além do tratamento, a maturidade também pode ter contribuído para que acontecesse uma melhora nos índices de atitudes de comportamento sexual em 2008. Na ausência dos sinais clínicos da enfermidade os animais mostraram-se mais ativos, justificando, em parte, o acréscimo nas atitudes de libido dos touros do GI. A recuperação incompleta de dois animais (13,33%) sugere que a causa a interferência negativa no bem estar desses animais ainda persistiu, limitando o retorno às atitudes comportamentais. A libido

comprometida do touro pode representar prejuízo substancial para o criatório, especialmente pela possibilidade de reduzir o número de crias. SILVA (2002) e CHIQUETO (2004) confirmaram que as doenças dos cascos constituem importante fator limitante na manutenção de bons níveis de fertilidade, mas a redução dos níveis de fertilidade possui diversas questões ainda não explicadas.

Os resultados das médias das ocorrências por touro de cada uma das atitudes comportamentais indicaram que houve interação entre o reflexo de Flehmen dos grupos GI e GII ($p=0,028$) no ano de 2007, sendo que nos bovinos alocados no GII, essa atitude foi maior ($5,73\pm3,33$).. Portanto, considerando que esse reflexo é uma das mais comuns e importantes atitudes de libido dos bovinos frente a uma fêmea no cio (HAFEZ, 2004), é possível que essa maneira de se comportar tenha uma relação com a impotência *couendi*, indicando que os bovinos pertencentes ao grupo GII apresentaram melhor desempenho sexual.

Verificou-se que GI, antes do tratamento para DD, apresentou atitudes de La de (24,89%), Ch (21,99%) e Fl (13,27%) e em GII verificou-se La de (23,14%), Ch 20,98% e Fl 20,98% do total de atitudes praticadas. Confrontando os achados obtidos para o Grupo GI durante os anos de 2007 e 2008, não se observou diferença entre as atitudes que foram praticadas com maior frequência. Em 2007, notou-se nesse grupo valores para La de 60 (24,89%), Ch 53 (21,99%) e Fl 32 (13,27%) enquanto que em 2008, houve acréscimo nos valores observados para 67 (25,67%), 54 (20,68%) e 42 (16,09%), respectivamente. Acrescente-se que em 2008, esse acréscimo nas diversas atitudes em ambos os grupos pode ser justificado também pela idade, pois animais mais velhos tendem a apresentar maior libido.

Autores com NICOLETTI (2004) e GREENOUGH (2006) acreditam que as enfermidades digitais sejam um agente estressor que altera as funções reprodutivas dos bovinos. Comparando os dados de GI no ano de 2007 e o GII em 2008, observa-se diferença significativa ($p=0,008$), sendo que GII ($4,62\pm2,72$) praticou maior número de atitudes comportamentais. O mesmo ocorreu entre o grupo GII avaliado em 2007 com grupo GI de 2008, após o tratamento, demonstrando que essa atitude ainda poderia estar sofrendo influência das enfermidades digitais decorridos um ano do tratamento.

Em 2007, GI apresentou índice de 9,12% e 3,73% para as atitudes de Mo e Mc, respectivamente, já em 2008, após tratamento, esses índices ascenderam para 9,19% e 4,21%, estando de acordo com as afirmações de PÉREZ Y PEREZ (1969) que a dor desencadeada no momento do salto, muitas vezes, obriga os animais interromper a cópula. Em 2007, os bovinos de GII apresentaram frequência de 8,95% para Mo e 4,01% para Mc, enquanto em

2008 esses valores foram de 10,72% e 4,15%. Como em 2008 os animais possuíam 48 meses, a idade mais elevada também pode ter contribuído para a ascensão desses valores. É provável que independente de estarem doentes ou saudáveis existe uma tendência de os bovinos mais jovens praticar menor número de montas orientadas e completas. CHENOWETH (1997) relatou que a experiência em relação às montas pode influenciar na eficiência para a cópula e consequentemente em seus *rankings* e *scores* de libido. Para CHAVES (2002) pode-se inferir que a correta orientação de monta é aprendida por meio de experiência de montas praticadas continuamente. Entretanto, os achados em relação à idade e o desempenho sexual dos touros pode não corresponder aos dados obtidos para animais que apresentam impotência *generandi*.

Na avaliação realizada em 2008 para as atitudes de Mg, Ms e Cb, nos bovinos pertencentes de GI ocorreu um decréscimo nos valores, mas os Mp permaneceram estáveis. Em GII houve uma tendência dessas atitudes se manterem estáveis. Uma análise visual dos touros durante a aplicação dos testes de comportamento indica que muitos animais apresentavam dificuldade de locomoção. A relutância em se locomover agravada pela dificuldade do animal em suportar o próprio peso sobre o membro acometido, manifestada por alguns, aparentemente diminuiu a procura pelas fêmeas aptas ao acasalamento e, conseqüentemente, ocasionou redução na capacidade de efetuar a cobrição. Apesar dessas limitações, 3,73% das atitudes praticadas pelos animais pertencentes ao grupo GI, em 2007, estão relacionadas a monta GI (2007), mas discute-se a fertilidade desses reprodutores, conforme apontado por MOURA (2008). Esses achados estão de acordo com CHIQUETTO (2004). SILVA et al. (2006), afirmaram que a dermatite digital bovina constitui um relevante exemplo de fator estressante que promove interferência na performance reprodutiva dos bovinos o que pode ser comprovado com os resultados obtidos.

CONCLUSÃO

Algumas atitudes que expressam o comportamento sexual de bovinos machos da raça Nelore são influenciadas por lesões de dermatite digital, mas o tratamento da enfermidade promove acréscimo nesses caracteres. Nos animais saudáveis essas atitudes se mantêm estáveis, contudo nas duas categorias de bovinos o comportamento varia com a idade.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao CNPq pelo apoio financeiro concedido.

REFERÊNCIAS

CHAVES. S.M. **Avaliação de rufiões bovinos preparados pelos método do desvio lateral modificado e da aderência do pênis á parede abdominal.** 2002. 131f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

CHENOWETH, P.J. In: YOUNGQUIST, R.S. **Theriogenology**, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997.

CHIQUETO. C. E. **Efeitos da dermatite sobre características andrológicas de touros da raça Holandesa.** 2000. 48f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, Instituto Nacional de Meteorologia – INMET, 10º Distrito de Meteorologia de Goiânia – 10º DISME-GO, informações e documentação: referencia – elaboração. Goiânia, 2009.

FERREIRA, P. M. **Enfermidades podais em rebanho leiteiro confinado.** 2003. 79f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GREENOUGH ,P . Reflections on the prevention of claw disease in cattle. In: SIMPÓSIO INTERNATIONAL 14 & CONFERENCIA COJERAS EN RUMINANTES. LAMENESS IN RUMINANTS. 6, 2006. Colonia. **Anais:...**Colonia: Central de Impresiones LTDA., 2006.p.6-9.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal.** 7.ed. Barueri: Manole, 2004. p. 97-110.

MANSKE, T.; HULTGREN, J.; BERGSTEN, C. Topical treatment of digital dermatitis associated with severe heel-horn erosion in a Swedish dairy herd, **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 53, p. 215–231. 2002.

MOURA, M. I. **Características espermáticas de reprodutores Nelore com dermatite digital.** 2008.100f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

NICOLETTI, J. L. M. **Manual de podologia bovina.** Barueri: Manole, 2004. 125p.

NUSS, K.; PAULUS, N. Measurements of claw dimensions in cows before and after functional trimming: a post-mortem study. **American Journal of Veterinary Medicine**, Chicago v. 172, p. 284-292, 2006.

PEREZ y PEREZ, F. **Fisiopatologia de la reproduccion animal.** 2.ed., Barcelona: Editorial Cientifico – Medica, 1969. 925p.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental.** 14.ed. Piracicaba: Degaspari, 2000. 477p.

SALVADOR, D. F.; ANDRADE, V. J.; VALE FILHO, V. R.; SILVA, A. S.; COSTA SILVA, E. V. Avaliação da libido de touros Nelore adultos em curral e sua associação com características andrológicas e desempenho reprodutivo a campo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 5, p. 588-593, 2003.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SANTOS, N. R. **Comportamento sexual de touts zebu (*Bos taurus indicus*) a pasto**. 2001. 88p. Tese (Doutorado). Escola de veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

SILVA, L. A. F. Mudanças trazem doenças de casco em Goiás. **Revista DBO**, São Paulo, n. 262, p.156-160, 2002.

SILVA, L. A. F.; MORAES, R. R.; FIORAVANTI, M. C. S.; CUNHA, P. H. J.; BORGES, J. R. J.; MACEDO, S. P.; DAMASCENO, A.D.; RABELO, R. E; GARCIA, A. M. Pododermatite séptica em bovinos: evolução clínica da fase inicial. **Brazilian Journal Of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 674-680, 2006.

NÍVEIS SÉRICOS DE TESTOSTERONA EM BOVINOS DA RAÇA NELORE COM DERMATITE DIGITAL

Maria Ivete de Moura¹; Luiz Antônio Franco da Silva²; Ângela Moni Fonseca³; Jalily Bady Helou³; Sabrina Lucas Ribeiro de Freitas³; Leandro Batista Caetano³; Tales Dias do Prado⁴

1. Médica veterinária, doutoranda em Ciência Animal do Programa de Pós- Graduação da Escola de veterinária, Universidade Federal de Goiás (UFG)
2. Médico veterinário, Doutor, Professor do Curso de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brasil – e-mail: lafranco@vet.ufg.br (autor correspondente)
3. Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás (UFG)
4. Médico Veterinário Residente EV/UFG

PALAVRAS- CHAVE: Enfermidade podal, hormônio, reprodução

ABSTRACT

SERUM TESTOSTERONE LEVELS OF NELORE CATTLE WITH DIGITAL DERMATITIS

Digital dermatitis may affect fertility and reproductive performance of cattle. This study evaluates serum testosterone levels of Nelore bulls before and after digital dermatitis (DD) treatment. A total of 24 animals were randomly divided into three groups: Group I – 9 animals with DD treated after the second blood collection; Group II – 7 animals with DD that did not receive any treatment; and Group III (control) – healthy animals. Seven samples were taken from each animal with a 15-day interval. Blood testosterone concentration was assessed by immunoassay (ELISA) and values were established by Kruskal-Wallis, Mann Whitney U, and Friedmann tests. GI presented a gradual increase of testosterone levels after the second blood collection, and GIII had the highest increase. Statistically significant differences were observed between GI and GIII as regards testosterone levels from the first, second, and third blood collections. We conclude that DD may influence the reproduction of bulls due to stress.

KEYWORDS: Bulls, digital diseases, hormones.

INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva do touro constitui característica relevante na produção de bovinos, principalmente nas criações extensivas em que a reprodução é fator determinante à produção e esta diretamente relacionada ao retorno econômico da atividade (SILVA et al.,

2002). ANDERSSON (1992) encontrou correlação positiva entre a concentração sérica de testosterona e a fertilidade de touros e segundo POST et al. (1987) o hormônio é um preditor efetivo da fertilidade. Para LEZIER (2003), ainda desconhece alguns parâmetros hormonais em bovinos nelore em condições extensivas, apesar de a função reprodutiva depender do equilíbrio e dos níveis adequados de diferentes hormônios. De acordo com NICOLETTI (2004), acredita-se que as enfermidades digitais constituam agentes estressores que alteram as funções reprodutivas e causam decréscimo nas taxas de fertilidade e prenhez. Segundo LEÃO (2006), dentre as enfermidades podais a dermatite digital infecciosa é de grande importância econômica e produtiva e CHIQUETO (2004), ao avaliar os parâmetros de fertilidade em touros da raça Holandesa acometidos de dermatite digital, concluiu que a fertilidade foi afetada pela enfermidade. SILVA et al. (2006) também descreveram que a dermatite digital bovina promove interferência na performance reprodutiva, justificando a realização de pesquisas científicas que relacione alguns fatores de risco com a impotência *coendi* em touros.

O objetivo do presente estudo constituiu avaliar os níveis séricos de testosterona em touros da raça Nelore, antes e após o tratamento da dermatite digital bovina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 24 bovinos jovens, não castrados, da raça Nelore, com idade entre 30 e 36 meses, procedentes de propriedade rural que adotam o manejo extensivo, na região sudoeste do Estado de Goiás, durante o período de Agosto a Novembro de 2008. Todos os bovinos foram submetidos ao exame clínico geral e específico dos membros torácicos e pélvicos com a finalidade de diagnosticar a presença de dermatite digital. Posteriormente, os animais foram identificados e divididos aleatoriamente em três grupos, sendo o grupo I (GI) composto por nove animais portadores de dermatite digital, que foram tratados após a segunda colheita de sangue, o grupo II (GII) composto por sete animais doentes que permaneceram com lesões de dermatite até o término das colheitas de sangue e, finalmente, o grupo III (GIII) contendo oito animais saudáveis, que constituiu o grupo controle. Amostras sanguíneas foram colhidas no período das nove às 12 horas, por punção na veia caudal, obtendo-se 20 ml de sangue, as quais foram acondicionadas em frasco estéril sem anticoagulante. Foram colhidas sete amostras de sangue de cada animal, com intervalos de 15 dias. O sangue foi centrifugado a 1500G durante dez minutos para obtenção de soro, e em seguida dividido em alíquotas de 3,0 ml e mantido sob temperatura de congelamento (-20°C), para posterior dosagem hormonal de testosterona. As amostras foram processadas no Laboratório de Endocrinologia da Universidade Estadual de São Paulo, Campus Araçatuba-

SP. As dosagens de testosterona foram realizadas pelo método imunoensaio (ELISA), utilizando-se kits comerciais (Testosterone, Human- Invitro, Itabira- MG). Os valores séricos de testosterona obtidos das colheitas provenientes do controle, tratado e portador de dermatite digital foram submetidos aos testes de Kruskal-Wallis e U Mann Witney, sendo detalhada a análise pelo teste de Friedmann, com nível de significância 5% ($P<0,05$), conforme recomendação de SAMPAIO (1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma análise descritiva dos valores da concentração de testosterona obtidos nas sete colheitas indica que ao serem tratados, após a segunda colheita, os animais do GI apresentaram expressivo aumento da concentração dos níveis séricos de testosterona, sendo o mesmo gradual e chegando a atingir níveis até cinco vezes maiores em relação a colheitas anteriores. Em GIII observou-se médias de concentração sérica maiores que GI e GII, em todas as colheitas, exceto na colheita quatro, em que apresentou nível ligeiramente menor que GII, que teve média de 317,48 ng/dl, enquanto em GIII a média foi de 306,10 ng/dl. Ressalte-se que em GI ocorreu um acréscimo progressivo nos níveis de testosterona após o tratamento, exceto nas colheitas 6 e 7. O GII apresentou variação dos níveis e redução de 1,47 da testosterona sérica, ao se comparar a primeira e última colheitas.

Esperava-se que os animais do GII estivessem adaptados as condições de estresse e apresentassem níveis de testosterona sérica estáveis, contudo, os resultados mostraram certa instabilidade, com oscilação dos níveis séricos de testosterona. Esse fato contesta as afirmações de MOBERG & MENCH (2000), os quais descreveram que, se a intensidade do fator estressor estabilizar, o animal tende a se adaptar as condições impostas, normalizando as funções fisiológicas. Como na colheita sete houve diminuição da concentração do hormônio em todos os grupos, como esse fato ocorreu tanto em GI, como GII e GIII provavelmente se devem a algum fator adverso que envolveu todos os grupos. A testosterona, segundo MACKINNON et al. (1991) pode ter a secreção influenciada por fatores como nutrição, aspectos climáticos e estresse, é considerado uma variável instável, resultando em alto desvio padrão, justificando o emprego de mais de um teste estatístico na presente análise dos dados obtidos.

Dentre os grupos, apenas GI ($p<0,001$) e GIII ($p=0,048$) apresentaram diferença estatística significativa entre as médias das colheitas, sendo que entre as colheitas do GII, não teve diferença significativa com ($p>0,05$). Em GI, a colheita 1 apresentou a menor média (54,3 ng/dl) e a colheita 6 a maior (324,7 ng/dl). Essa melhora provavelmente se deu em

função do tratamento realizado aos animais após a segunda colheita de sangue. Já em GIII, a colheita 2 apresentou a menor média (175,7 ng/dl), e a colheita 1, a maior (537,5 ng/dl). Pôde-se observar ainda, que dentre os três grupos analisados, GI apresentou a menor média de testosterona sérica, enquanto GIII apresentou a maior. Esse fato pode ser atribuído ao estresse e trauma tecidual decorrente da agudização da lesão em consequência da intervenção cirúrgica sofrida pelos animais de GI, situação também mencionada por CHIQUETTO (2004) e MOURA (2008).

Observou-se diferença significativa quanto ao nível sérico de testosterona apenas para as colheitas 1 ($p=0,003$), 2 ($p=0,025$) e 3 ($p=0,034$), não tendo interação entre os grupos GI, GII e GIII nas colheitas 4, 5, 6 e 7. Apesar de SANCHES et al. (1998) ter relatado o fato de a concentração sérica de testosterona aumentar com a aproximação da puberdade, o aumento observado, por exemplo, no grupo I, não pode ser atribuído a esse fator, haja vista que os animais do experimento já possuíam de 30 a 36 meses. Ressalte-se que a concentração desse hormônio tende a permanecer constante na fase adulta, decrescendo com a idade. Logo, esse aumento provavelmente deu-se em função da instituição do tratamento e conseqüente melhora do quadro de dermatite digital.

Fatores nutricionais, climáticos e estressantes também podem influenciar a secreção desse hormônio. Apesar de relatos em que a concentração de testosterona sujeitou-se a variações conforme estações do ano segundo SUNDBY & TOLLMAN (1978) e nas condições tropicais, a média mensal mais baixa deste hormônio ter sido encontrada no mês de outubro, em touros zebuínos conforme relatado por SANCHES et al. (1998), esse fato não foi observado no presente estudo. Segundo CHASE et al. (1993), a nutrição também influencia sobremaneira a produção hormonal e altera as características de crescimento e reprodução, visto que o consumo insuficiente de energia pode reduzir a concentração de testosterona circulante. Esse fato não justifica a diferença de concentração de testosterona entre os grupos, haja vista que a alimentação fornecida aos três grupos foi semelhante.

O fato de os animais que não possuíam dermatite digital (GIII) terem apresentado concentração sérica de testosterona superior aos bovinos doentes e não tratados e, mesmo aqueles que foram tratados, reforça os achados de estudos, os quais propõem que as afecções digitais influenciam na fertilidade dos bovinos, sejam eles machos ou fêmeas. BARKER (1971) abordou a influência de enfermidades do sistema locomotor sobre a fertilidade de touros em seus estudos. O autor afirmou que um touro acometido de laminite sente muita dor durante o salto, falhando em seu serviço até que seja revertida a causa. Caso o processo inflamatório da laminite seja agudo e severo o suficiente para causar alteração sistêmica, a

produção de sêmen deverá ser prejudicada por um período, talvez de dois meses após a cura, assim como ocorre com outras doenças sistêmicas relativamente severas, porém não informou a intensidade do comprometimento do sêmen.

Por último, os resultados aqui encontrados indicam que as variações observadas nos níveis de testosterona podem influenciar a eficiência reprodutiva dos animais. NICOLETTI (2004) afirmaram que injúrias no sistema locomotor podem influenciar na reprodução dos touros. CHIQUETO (2004), avaliando as características físicas e morfológicas do sêmen de touros da raça Holandesa, registrou diferenças significativas quanto a algumas características físicas e morfológicas do sêmen de animais portadores de dermatite digital em relação a animais saudáveis. No entanto, esses autores não relataram nenhum estudo direto avaliando a condição andrológica dos animais de forma mais específica, ou seja, analisando o sêmen dos animais que sofrem de alguma enfermidade no sistema locomotor em seus diversos aspectos, ou considerando se houve modificações na concentração sérica de testosterona.

CONCLUSÃO

Os níveis séricos de testosterona em touros da raça Nelore com dermatite digital, tratados e saudáveis apresentaram oscilações variadas nos diversos momentos de avaliação, mas a doença provocou um decréscimo significativo nos níveis séricos do hormônio em relação aos animais saudáveis.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao CNPq pelo auxílio concedido.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, M. Relationship between GnRH-induced maxim, sperm motility and fertility in Ayrshire bulls. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.27, n.2, p.107-111, 1992.
- BARKER, D. J. Forced feeding of bulls in relation to reproductive performance. In: **proceedings of refresher course for veterinarians on the examination of bulls**, 14th. Sydney: Muresk Agricultural College. 1971.
- CHASE, C. C.; LARSEN, R. E.; HAMMOND, A. C.; RANDEL, R. D. Effect of dietary energy on growth and reproductive characteristics of Angus and Senepol bulls during summer in Florida. **Theriogenology**, New York, v. 40, p. 43-61, 1993.
- CHIQUETO, C. E. **Efeitos da dermatite sobre características andrológicas de touros da raça Holandesa**. 2004. 48f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

LEÃO, M. A. **Aspectos epidemiológicos, evolução clínica e controle da dermatite digital em duas propriedades de exploração leiteira do estado de Goiás**. 2006. 88f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

LEZIER, D. H. **Avaliação da biometria testicular, concentração plasmática de hormônios e minerais em bovinos Nelore variedade Mocha dos 12 aos 24 meses**. 2003. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo.

MACKINNON, M. J.; CORBET, N. J.; MEYER, K.; BURROW, H. M.; BRYAN, R. P.; HETZEL, D. J. S. Genetic parameters for testosterone response to GnRH stimulation and scrotal circumference in tropical beef bulls. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 29, p. 297-309, 1991.

MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**. Cambridge: CABI Publishing, 2000. 377p.

MOURA, M. I. **Características espermáticas de reprodutores Nelore com dermatite digital**. 2008. 100f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

NICOLETTI, J. L. M. **Manual de podologia bovina**. Barueri: Manole, 2004. 125p.

POST, T. B.; CHRISTENSEN, H. R.; SEIFERT, G. W. Reproductive performance and productive traits of beef bulls selected for different levels of testosterone response to GnRH. **Theriogenology**, New York, v. 27, p. 317-328, 1997.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p

SANCHES, A. C.; LOBO, R. B.; BEZERRA, F. L. A.; MACARI, M. Variação da secreção de testosterona no desenvolvimento corporal e idade “puberdade em touros *Bos indicus*”. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 43-45.

SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T.; FREITAS, A. R. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1157-1165, 2002.

SILVA, L. A. F.; MORAES, R. R.; FIORAVANTI, M. C. S.; CUNHA, P. H. J.; BORGES, J. R. J.; MACEDO, S. P.; DAMASCENO, A. D.; RABELO, R. E.; GARCIA, A. M. Pododermatite séptica em bovinos: evolução clínica da fase inicial. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 674-680, 2006.

SUNDBY, A.; TOLLMAN, R. Plasma testosterone in bulls. **Acta Veterinaria Scandinavica**, London, v. 19, p. 263-268, 1978.

CORTISOL E SUA RELAÇÃO COM A REGULAÇÃO ENDÓCRINA NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO EM VACAS LEITEIRAS SOB CONDIÇÕES DO TRÓPICO COLOMBIANO

Rómulo Campos¹, Erika Andrea Hernández², Leonidas Giraldo³, Félix González⁴

¹ Professor Associado, Universidade Nacional da Colômbia, campus Palmira.

E-mail: rcamposg@unal.edu.co (autor correspondente)

² Acadêmica, Laboratório de Reprodução e Metabolismo Animal, Universidade Nacional da Colômbia, Campus Palmira

³ Professor Assistente, Departamento de Ciência Animal, Universidade Nacional da Colômbia, campus Palmira

⁴ Professor Associado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos, cortisol hormônios tireoidianos, insulina, período de transição, progesterona.

ABSTRACT

CORTISOL AND ITS RELATIONSHIP WITH ENDOCRINE REGULATION OF DAIRY COWS DURING THE TRANSITION PERIOD IN SOUTH-WEST COLOMBIA

This study investigates the effect of cortisol levels on immune system homeostasis during the peripartum period. A total of 344 multiparous cows of four different breeds were assessed in Colombia. Venous blood samples were collected after morning milking by coccygeal venipuncture into vacutainer tubes, which was carried out 30 days before calving until 75 days postpartum. A solid-phase radioimmunoassay (RIA) was used to determine levels of T3, T4, cortisol, progesterone, and insulin. Results revealed that hormone levels were within the normal range. A significant variation ($p < 0,01$) in cortisol levels was observed between *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds. However, they did not vary during different collection periods, so our hypothesis that cortisol significantly affects behavioral homeostasis was not confirmed. We conclude that the physiology of cows in the postpartum period suffers profound endogenous regulation under different management systems; this occurs even under stress conditions in order to achieve homeostasis, regardless of cortisol levels.

KEYWORDS: Cattle, cortisol, insulin, progesterone, thyroid, transition period.

INTRODUÇÃO

O metabolismo no pós-parto é um intrincado processo de ajuste metabólico no qual participam diversos hormônios (RENAVILLE et al., 2002). De forma integral, no período de transição ocorrem as maiores mudanças sobre a homeostasia, muitas com origem no desequilíbrio hormonal que ocorrem ao final da gestação para dar início à fase de excreção de metabolitos inerentes à produção leiteira.

As mudanças negativas que a perda de homeostasia envolve são traduzidas em ineficiência biológica para a produção de leite e para a reprodução (SPICER et al., 2001). Alguns fatores de regulação e adaptação dos bovinos em relação a seu tamanho corporal, nutrição e seleção genética são desconhecidos (AEBERHARD et al., 2001). O período fisiológico mais crítico das fêmeas bovinas é o parto (RAJALA-SCHULTZ et al., 2001). Diferentes estudos mostram que as maiores descompensações metabólicas acontecem durante esta fase (INGVARTSEN et al., 2003; LAGO et al., 2004). A homeostasia é um complexo sistema de ajuste no qual os hormônios exibem um elevado potencial regulatório. Pelo menos 50 hormônios diferentes fazem parte do complexo regulatório do pós-parto (CAMPOS et al., 2005), entre os quais se encontram a insulina, T3, T4, cortisol e progesterona.

O principal objetivo do presente trabalho foi a valoração das concentrações dos hormônios citados durante o peri-parto de vacas com aptidão leiteira, pertencentes a quatro grupos raciais diferentes localizados sob condições ecológicas do trópico baixo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados quatro grupos raciais de rebanhos com aptidão leiteira localizados em condições tropicais do Sudoeste da Colômbia. Os grupos raciais estudados foram: Hartón del Valle (raça nativa colombiana), Holandês, Girolando e Brahman. A zona agroecológica correspondeu a bosque seco montano baixo na classificação de Holdridge, com temperaturas entre 24 a 31°C, umidade relativa entre 85 a 95%, nos eixos compreendidos entre 32-33° Latitude Norte e 71-74° Longitude Oeste (ESPINAL, 1990). De cada raça foram selecionadas 8 fêmeas em final da gestação para iniciar a amostragem. As amostras foram coletadas 30 dias antes do parto até 75 dias do pós-parto. No período do pré-parto coletaram-se duas amostras com intervalo de 15 dias. Depois no parto e durante os 4 primeiros dias do pós-parto as amostragens foram diárias, e em seguida com intervalo de 6 dias. No total foram realizadas 14 amostragens em um intervalo de 90 dias. As coletas de sangue foram por

venipunção coccígea mediante o sistema vacutainer sem anticoagulante. Posteriormente as amostras foram transportadas refrigeradas ao laboratório, onde foram centrifugadas (2.500 rpm por 15 min), para a obtenção de soro. As frações de soro identificadas por raça, grupo e animal foram armazenadas a -20°C até o momento das análises. Foram determinados mediante radioimunoanálise de fase sólida os seguintes hormônios: T3, T4, insulina, cortisol e progesterona. Os resultados foram salvos em uma base de dados e analisados estatisticamente através de provas de correlação de Pearson e análise de variância mediante o procedimento GLM do programa estatístico SAS (CARY, NC). O modelo proposto procurou provar a hipótese de diferente comportamento dos valores dos hormônios em relação à raça e ao período em relação ao parto. Adicionalmente foi realizada estatística descritiva e provas de comparação de médias (prova de Tukey) entre os grupos raciais e os dias de coleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cortisol tem sido considerado como bom indicador de estresse, mas não é o indicador ideal. Uma das ações fisiológicas do cortisol é seu potente efeito gliconeogênico, que parece ser seu principal papel no peri-parto (BEERDA et al, 2004). No presente trabalho foi encontrada uma concentração média de cortisol sérico de 46,7 nmol/L, para o conjunto de períodos analisados. Entretanto, não houve diferença significativa entre os períodos. Houve variação significativa ($p < 0,01$) nos valores de cortisol entre os 4 grupos raciais estudados, sendo maior o valor para o grupo Brahman leiteiro, provavelmente devido ao maior estresse que apresentaram estes animais no momento da amostragem. Este achado evidencia que apesar de o parto ser um fator crítico para os animais, todos respondem de forma similar e que o cortisol reduz progressivamente seu valor na medida em que o pós-parto avança.

A T3 apresentou diferença entre os grupos raciais, correspondendo os maiores valores aos grupos *Bos taurus* (Hartón del Valle e Holandês), com valores acima de 2,5 nmol/L. O valor médio de T3 encontrado (2,16 nmol/L) é menor que o relatado por REIST et al. (2003) sendo os menores valores obtidos no período do pós-parto inicial (2ª e 3ª semana).

A T4 não apresentou diferencia significativa entre grupos raciais nem entre períodos. A concentração média de T4 foi de 53,7 nmol/L, similar a outros valores relatados na literatura (CAMPOS et al., 2005). A análise de correlação entre T3 e T4, mostrou coeficiente positivo e significativo ($r=0,43$; $p<0,01$)

A insulina não mostrou variação entre raças nem entre períodos. Existem várias hipóteses desta situação. Os bovinos selecionados não apresentaram elevadas produções leiteiras (entre 8 a 15 L/dia) e o escore de condição corporal dos animais no início do período foi de 3,0 (escala 1-5), o que permite um melhor ajuste homeostático que em condições superiores a escores de 3,5 (BUSATO et al., 2002). Estas duas situações não geram altas demandas energéticas para estes animais, refletindo secreção de insulina sem alterações dramáticas que possam ser evidenciadas. O valor médio de insulina foi de 18,5 µm/L.

A progesterona mostrou ampla oscilação durante o período de estudo. Os maiores valores ocorreram no período anterior ao parto, quando chegaram a valores próximos de 11 nmol/L. Após o parto o valores diminuíram, ficando em torno de 5 nmol/L nos primeiros 3 dias e desaparecendo posteriormente até serem evidenciados de novo aos 60 dias pós-parto. O valor médio de progesterona durante os períodos foi de 6,78 nmol/L, mostrando variação entre os grupos raciais, onde as raças de grupos *Bos indicus* (Girolando e Brahman) exibiram maiores valores em conjunto.

Os processos de adaptação fisiológica ocasionam mudanças no metabolismo, de origem nutricional e hormonal, que podem ocasionar distúrbios metabólicos e reprodutivos (LAGO et al., 2004). O período de transição parece não ser tão severo em animais de produção leiteira média a baixa, ao contrário do que ocorre em animais de alta produção (AEBERHARD et al., 2001).

CONCLUSÃO

Bovinos localizados no trópico baixo apresentando produção leiteira limitada, em sistemas de produção de pastagem, não exibem marcadas mudanças endócrinas no período de transição. Acredita-se que isto ocorra pela adequada adaptação fisiológica às condições climáticas e nutricionais.

REFERÊNCIAS

- AEBERHARD, K.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Metabolic, enzymatic and endocrine status in high-yielding dairy cows - Part 2. **Journal of Veterinary Medicine** A, Berlin, v. 48, p. 111-127, 2001.
- BEERDA, B.; KORNALIJNSLIJPER, J. E.; VAN DER WERF, J. T. N.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; HOPSTER, H. Effects of milk production capacity

and metabolic status on HPA function in early postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, p. 2094-2102, 2004.

BUSATO, A.; FAISSLER, D.; KÜPFER, U.; BLUM, J. Body condition scores in dairy cows: associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine A**, Berlin, v. 49, p. 455-460, 2002.

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Indicadores do controle endócrino em vacas leiteiras de alta produção e a sua relação com a composição do leite. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 33, p. 147-153, 2005.

ESPINAL, L. S. **Zonas de vida de Colombia**. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. 90p. 1990.

INGVARTSEN, K. L.; DEWHURST, R. J.; FRIGGENS, N. C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production disease in dairy cattle: A position paper. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 83, p. 227-308, 2003.

LAGO, E. P.; COSTA, A. P. D.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; FARÍAS, V. P.; DO LAGO, L. A. Parâmetros metabólicos em vacas leiteiras durante o período de transição pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Science**, Niterói, v. 11, p. 98-103, 2004.

RAJALA-SCHULTZ, P. J.; SAVILLE, W. J. A.; FRAZER, G. S. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 482-489, 2001.

REIST, M.; ERDIN, D.K.; VONEUW, D.; TSCHÜMPERLIN, K.M.; LEUENBERGER, H.; DELAVALD, C.; CHILLIARD, Y.; HAMMON, H.M.; KUENZI, N.; BLUM, J. Concentrate feeding strategy in lactating dairy cows: metabolic and endocrine changes with emphasis on leptin. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 1690-1706, 2003.

RENAVILLE, R.; HAMMADI, M.; PORTETELLE, D. Role of the somatotrophic axis in the mammalian metabolism. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 23, p. 351-360, 2002.

SPICER, L. J.; ALONSO, J.; CHAMBERLAIN, C. S. Effects of thyroid hormones on bovine granulosa and thecal cell function in vitro: dependence on insulin and gonadotropins. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, p. 1069-1076, 2001.

SUPLEMENTAÇÃO MINERAL DE NOVILHAS DA RAÇA NELORE NO PERÍODO PERIPARTO E O DESENVOLVIMENTO PONDERAL DE SUAS CRIAS

Rinaldo Batista Viana¹; Marcos Sampaio Baruselli²; Bruno Moura Monteiro³; Maurício Soares Pancieri⁴; Paulo Fernando Pires Bastos Junior¹, Fernanda Altieri², Paulo Marcelo Albuquerque de Melo¹; Luciana Celi Chaves¹

¹Instituto da Saúde de Produção Animal/Universidade Federal Rural da Amazônia(UFRA) Av. Tancredo Neves, 2501, cx. Postal 917, Terra-Firme, Belém/PA. E-mail: rinaldo.viana@ufra.edu.br (autor correspondente)

²Tortuga – Cia Zootécnica Agrária - Av. Brigadeiro Faria Lima, 2066, 1º andar, São Paulo/SP

³Pós-graduando VCM-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP

⁴Agropecuária Pancieri, Tomé-açu/PA

PALAVRAS-CHAVE: Bezerros, bovinos, desempenho ponderal, mineralização.

ABSTRACT

THE EFFECT OF PERIPARTUM MINERAL SUPPLEMENTATION ON PONDERAL PERFORMANCE OF CALVES

This study evaluates the effect of peripartum mineral supplementation of Nelore cattle diets on ponderal performance of their offspring. A total of 153 heifers raised in a farm in the municipality of Tomé Açu, Pará, were assessed. They were randomly divided into three groups according to the type of supplements received: Group A (n=51) – organic mineral mixture; Group B (n=51) – inorganic mineral mixture; and Group C (n=51) – no mineral supplementation. The animals were kept in paddocks cultivated with pastures of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, and were weighed at birth, 30 and 60 days postpartum, and at weaning (210 days of life). Cows were also weighed and body condition scores were measured 30 days prepartum and 30 days postpartum. Considering the different mineral supplements, it was found that the weight of heifers at birth, 60 days, and at weaning, as well as their body gain during this period, were significantly ($p<0,01$) influenced by the mother's weight 30 days postpartum. The average weight of cows from Groups A and B at parturition were $426,43 \pm 27,01$ and $433,24 \pm 40,67$ kg, respectively, while cows from Group C had the lowest average weight ($390,97 \pm 33,30$ kg). Therefore, results revealed that heifers from Groups A and B weighed more ($173,34 \pm 20,26$ and $196,03 \pm 23,31$ kg, respectively) than those of cows that did not receive any supplements ($133,16 \pm 30,47$ kg). Furthermore, their mean weight gain from birth to weaning were: $142,66 \pm 18,43$ kg (Group A); $164,45 \pm 21,82$ kg (Group B); and $105,29 \pm 30,11$ kg (Group C).

KEYWORDS: Calves, mineralization, nutrition, weight gain.

INTRODUÇÃO

Segundo PEROTTO et al. (2001), a eficiência da produção de um rebanho de bovinos de corte pode ser definida como a habilidade da vaca em transformar o alimento que ingere em peso de bezerro à desmama. Esta eficiência depende das relações entre tamanho corporal, taxa de maturação, fertilidade e produção de leite das vacas.

A nutrição é um dos fatores que mais influenciam o desempenho reprodutivo do rebanho de cria. Assim, durante as diversas fases reprodutivas há necessidade de que os níveis de proteína, energia, minerais e vitaminas sejam suficientes para atender às exigências nutricionais das matrizes. A suplementação mineral inadequada ou a falta dela implicam na perda acentuada de peso e da condição corporal antes e após o parto e reduzem substancialmente o peso dos bezerros à desmama (VALLE et al., 1998).

Entre os fatores que afetam o peso do bezerro à desmama, pode-se citar principalmente o nível nutricional pré-desmama, o qual é altamente dependente do nível nutricional da mãe pela produção de leite, nos primeiros meses de vida, e ainda o potencial genético dos bezerros e as interações entre estes fatores (JENKINS et al., 1991). Segundo ESPASANDIN et al. (2001), o nível de oferta de forragem ao qual o rebanho de cria é submetido influencia a produção de leite das vacas e conseqüentemente o desempenho dos bezerros até a desmama.

VALLE et al. (1998) citam que a perda acentuada de peso e da condição corporal antes e após o parto reduz substancialmente o desenvolvimento adequado do bezerro da gestação à desmama e a produção de leite pós-parto. SARMENTO et al. (2003) ratificam essa idéia ao afirmarem que a influência materna no período do nascimento à desmama é alta porque, nesse período, o bezerro depende quase exclusivamente dos cuidados da mãe.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a influência da suplementação mineral no peso vivo ao nascer dos bezerros, além do ganho de peso médio diário do nascimento à desmama, considerando diferentes tipos de suplementação mineral da mãe, além de correlacionar o desempenho das vacas com o desenvolvimento ponderal dos bezerros.

MATERIAL E MÉTODOS

Para este estudo foram utilizadas 153 novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), criadas em uma fazenda localizada no município de Tomé Açu, Estado do Pará. Os animais foram mantidos em piquetes, com pastagens cultivadas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Para se eliminar os efeitos da pastagem, os animais foram rotacionados a cada 28 dias, respeitando-se uma taxa de lotação não superior a 1,5 UA/ha. Cada grupo formado por 51 novilhas foi suplementado por quatro meses antes da IATF. O grupo A, recebeu um suplemento mineral orgânico para a fase reprodutiva (cálcio, 123,0g; cobalto 60,0mg; cobre 1.500,0mg; enxofre 18,0g; ferro 1.800,0 mg; flúor 900,00 mg; fósforo 90,0 g; iodo 75,0 mg; manganês 1.800,0 mg; selênio 17,0 mg; sódio 141,00g; zinco 4.500,0mg; solubilidade do P 95,00%; cromo 20,0mg), enquanto o grupo B, recebeu um suplemento mineral inorgânico (cálcio 120,0g; cobalto 120,0mg; cobre 1.500,0mg; enxofre 20,0g; flúor 1.122,0mg; fósforo 100,0g; iodo 80,0mg; magnésio 15,0mg; manganês 1.250,0mg; selênio 30,0mg; sódio 144,0g; zinco 4.600,0mg; solubilidade do P 90%; o grupo C não foi suplementado.

Os animais foram inseminados artificialmente em tempo fixo, submetidos a um protocolo hormonal que consistiu na colocação intra-auricular de progesterona, associado a administração de 2 mg de benzoato de estradiol no dia zero. No dia oito foi retirado o implante e administrado 2 mL de prostaglandina e 400 UI de gonadotrofina coriônica equina. No dia nove foi administrado 1 mg de benzoato de estradiol, sendo as vacas inseminadas 30 horas após. Durante toda a gestação até o desmame, os animais dos grupos A e B continuaram recebendo os dois tipos de suplementação mineral, a exceção do grupo C que continuou sem suplementação mineral, durante todo o experimento.

A quantidade mensal de mistura mineral consumida foi dividida em porções iguais e distribuída semanalmente nos cochos, precedido sempre da retirada das sobras. O consumo da mistura mineral foi calculado em função da quantidade de UA (1UA = 450kg) de cada grupo, de modo que a quantidade oferecida foi sempre igual para ambos os grupos. Os bezerros foram pesados ao nascimento, aos 30, 60 e 210 dias (desmama). O ganho de peso do nascimento à desmama foi calculado a partir da diferença entre o peso aos 210 dias e o Peso ao nascimento.

A condição do escore corporal dos animais foi estimada de acordo com HOUGHTON et al. (1990), mas uma meia unidade foi acrescida às mensurações (magro 1; gordo 5). Todas as avaliações foram realizadas pela mesma pessoa.

Para avaliação do peso e ganho de peso dos animais, foi aplicado o teste de Shapiro-Wilks para detectar, se a amostra possuía uma distribuição de densidade de probabilidade normal, ou próxima disto. Todos os testes e análises foram realizados por meio do software Statistical Analysis System (SAS, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os pesos médios aos 30 dias pré (Grupo A - $426,43 \pm 27,01\text{kg}$; Grupo B - $433,24 \pm 40,67\text{kg}$; Grupo C - $390,97 \pm 33,30\text{kg}$) e 30 dias pós-parto (Grupo A - $371,48 \pm 31,95\text{kg}$; Grupo B - $385,60 \pm 47,95\text{kg}$; Grupo C - $343,93 \pm 40,84\text{kg}$) para as de novilhas que receberam suplementação mineral orgânica e inorgânica; todavia o grupo sem suplementação mineral apresentou peso vivo médio significativamente menor que os demais grupos estudados ($p<0,05$).

Estes resultados concordam com SÁ FILHO et al. (2005), ao citarem que animais suplementados com misturas minerais orgânicas e inorgânicas não apresentaram diferença no peso das vacas ao parto. Diferentemente o grupo que não recebeu suplementação mineral apresentou uma média de peso inferior aos demais grupos, corroborando as afirmativas de TOKARNIA et al. (2000); NICODEMO et al. (2004); ROSSI & WILSON (2006), quando afirmaram que a suplementação mineral inadequada ou a falta dela implicam na perda acentuada de peso e da condição corporal antes e após o parto.

As médias de escore de condição corporal (ECC), aos 30 dias pré-parto dos animais do grupo A ($3,3 \pm 0,4$) foram similares àquelas do grupo B ($3,5 \pm 0,3$) e maiores que as do grupo C ($3,2 \pm 0,4$). Aos 30 dias pós-parto os animais não suplementados ($2,7 \pm 0,4$) obtiveram o pior desempenho com médias de ECC significativamente menores ($p<0,05$) que dos demais grupos (grupo A = $3,0 \pm 0,3$; grupo B = $3,0 \pm 0,3$). As médias de ECC descritas nesse estudo foram superiores àqueles descritos por SÁ FILHO et al. (2005). SILVA et al. (2000), concluíram que as vacas no momento da parição apresentavam maiores pesos vivos e ECC, produziam e desmamavam crias mais pesadas, e a seleção das vacas da raça Nelore, quanto ao peso pós desmama produziu mais gramas de bezerro por quilograma de vaca.

Os bezerros filhos de vacas que consumiram as misturas minerais orgânicas (peso ao nascer = $30,68 \pm 4,63\text{kg}$; 30 dias = $52,62 \pm 10,92$; 60 dias = $76,02 \pm 12,09$; 210 dias/(desmama) = $173,34 \pm 20,26$ e ganho de peso (nascimento à desmama) = $142,66 \pm 18,4\text{kg}$) e inorgânica (peso ao nascer = $31,57 \pm 4,50\text{kg}$; 30 dias = $53,69 \pm 7,78$; 60 dias $78,87 \pm 8,65$; 210 dias/(desmama) = $196,03 \pm 23,31$ e ganho de peso (nascimento à desmama) = $164,45 \pm 21,82\text{kg}$), apresentaram pesos médios ao nascer semelhantes, todavia obtiveram maiores pesos que os filhos de vacas não suplementadas (peso ao nascer = $27,87 \pm 4,14\text{kg}$; 30 dias = $46,06 \pm 8,46\text{kg}$; 60 dias = $63,93 \pm 12,92$; 210 dias/(desmama) = $133,16 \pm 30,47\text{kg}$ e ganho de peso (nascimento à desmama) = $105,29 \pm 30,11\text{kg}$). Esta condição permaneceu até os 60 dias de vida dos bezerros. Todavia, aos 210 dias de idade, quando da desmama, os bezerros filhos de vacas do grupo B apresentaram pesos médios significativamente maiores

que os bezerros filhos de vacas do grupo A, e este por sua vez foram maiores que os bezerros filhos de vacas do grupo C.

O peso dos bezerros ao nascer, aos 60 dias, e à desmama, e o ganho de peso do nascimento à desmama foram significativamente ($p < 0,01$) influenciados pelo peso da mãe aos 30 dias pré-parto. Portanto, as vacas suplementadas com minerais orgânicos e inorgânicos com pesos médios ao parto iguais a $426,43 \pm 27,01$ e $433,24 \pm 40,67$ kg respectivamente, desmamando bezerros mais pesados ($173,34 \pm 20,26$ e $196,03 \pm 23,31$ kg, respectivamente) foram maiores do que as vacas não suplementadas, com menores pesos médios ao parto ($390,97 \pm 33,30$ kg), desmamando bezerros mais leves ($133,16 \pm 30,47$ kg). Isso demonstra claramente o efeito do peso ao parto sobre o desenvolvimento do bezerro durante a lactação.

Foi possível constatar que o grupo A apresentou um melhor desempenho produtivo, pois, conseguiu um maior número de bezerros desmamados aos 210 dias (86,27 %; 44/51), frente ao grupo B (64,71%; 33/51) e ao C (60,78%; 31/51). Esse fato provavelmente pode se atribuir ao fornecimento, para as vacas do grupo A, de uma mistura mineral orgânica específica para fase reprodutiva no período chuvoso na fase pré-concepção. O desempenho obtido pelo grupo A corrobora as observações de BARUSELLI, (1999; 2003), ao afirmar que a mineralização orgânica aumentaria a produtividade dos animais devido a maior bioatividade destes minerais quelatados, e o melhor desempenho reprodutivo.

CONCLUSÕES

Verificou-se um claro efeito do peso da vaca ao parto sobre o peso do bezerro ao nascer, aos 30, 60 e 210 dias e no ganho de peso médio do nascimento à desmama, onde o lote de vacas mais pesadas no momento do parto, desmamou bezerros mais pesados.

AGRADECIMENTOS

Tortuga Cia Zootécnia Agrária, Agropecuária Pancieri, Intervet Schering-Plough, Universidade Federal Rural da Amazônia e Nutricell pelo suporte financeiro e apoio dado a esta pesquisa.

REFERÊNCIAS

BARUSELLI, M. S. Minerais orgânicos: o que são, como funcionam, e vantagens da sua utilização em ruminantes. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA; 2 & SIMPÓSIO DE BUIATRIA, 2. 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: FMVZ, Unesp, 1999.

BARUSELLI, M. S. Efeito do uso dos minerais orgânicos no desempenho e no comportamento animal. CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECHNIA; 5.

CONGRESSO NACIONAL DE ZOOTECNIA; AMBIÊNCIA – EFICIÊNCIA E QUALIDADE NA PRODUÇÃO ANIMAL; ZOOTEC, 13, 2003, Uberaba. **Anais...Uberaba**, 2003.

CUBAS, A. C., PEROTTO, D., ABRAHÃO, J. J. S., MELLA, S. C. Desempenho até a desmama de bezerros Nelore e cruzas com Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 694-701, 2001.

ESPASANDIN, A. C.; PACKER, I. U.; ALENCAR, M. M. et al. Estimativas de parâmetros genéticos para a produção de leite em bovinos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. 5p.

FAGUNDES, J. I. B.; LOBATO, J. F. P.; SCHENKEL, F. S. Efeito da carga animal na produção de leite de vacas de corte primíparas e no desenvolvimento de seus bezerros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 412-419, 2004.

HOUGHTON, P. L.; LEMENAGER, R. P.; HORSTMAN, L. A.; HENDRIX, K. S.; MOSS, G. E. Effects of body composition, pre and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 1438-1446, 1990.

JENKINS, T. G.; CUNDIFF, L. V.; FERRELL, C. L. Differences among breed crosses of cattle in the conversion of food energy to calf weight during the preweaning interval. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 2762-2769, 1991.

NICODEMO, M. L. F.; MORAES, S. S.; S' THIAGO, L. R. L.; MACEDO, M. C. M.; CAXIAS, E. L.; NOGUEIRA, E.; VIERA, J. M.; VAZ, E. C. Desempenho de vacas jovens nelore em pastagens de *Brachiaria brizantha* suplementadas ou não com fósforo/cálcio e ração durante a seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 2151-2160, 2004.

PEROTTO, D., ABRAHÃO, J. J. S., KROETZ, I. A., Produtividade à Desmama de Novilhas Nelore e F1 *Bos Taurus* x Nelore e *Bos indicus* x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n.6, p. 1712-1719, 2001.

RESTLE, J.; PACHECO, P. S.; PADUA, J. T.; MOLETTA, J. L.; ROCHA, M. G. da; SILVA, J. H. S. da; FREITAS, A. K. Efeitos da taxa de ganho de peso pré-desmama de bezerras de corte e do nível nutricional pós-parto, quando vacas, sobre a produção e composição do leite e o desempenho de bezerros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 197-208, 2005.

ROSSI, J.; WILSON, T. W. **Body condition scoring beef cows** The University of Georgia. **Cooperative Extension**. College of Agricultural and Environmental Sciences and the U.S. Department of Agriculture cooperating. Abril 2006.

SÁ FILHO, M. F.; MADUREIRA, E. H.; ZANETTI, M. A.; BARUSELLI, M. S.; BARUSELLI, P. S. Atividade ovariana pós-parto e eficiência reprodutiva em vacas Nelore suplementadas com minerais quelatados. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 24, n. 143, p. 52-55, 2005.

SARMENTO, J. L. R.; FILHO, E. C. P.; RIBEIRO, M. N.; FILHO, R. M. Efeitos ambientais e genéticos sobre o ganho em peso diário de bovinos Nelore no Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 325-330, 2003.

SAS INSTITUTE. **SAS**. Cary, 2000. Software v. 8.1

SILVA, J. A. I. V.; RAZOOK, A. G.; TONHATI, H.; FIGUEIREDO, L. A. Efeito da seleção para peso pós-desmama sobre indicadores da eficiência produtiva de vacas da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n.4, p. 1020-1027, 2000.

TOKARNIA, C. H., DOBEREINER, J., PEIXOTO, P. V., CANELA, C. F. C. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p. 127-138, 2000.

VALLE, E. R.; ANDREOTTI, R.; THIAGO, L. R. L. S. **Estratégias para aumento da eficiência reprodutiva e produtiva em bovinos de corte**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1998. 80p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 71).

AVALIAÇÃO DE MEDIDAS PÉLVICAS INTERNAS DE VACAS HOLANDESAS DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL

Luciana Faria de Oliveira¹, Valentim Arabicano Gheller²

1. Médica veterinária, MSc , Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)
2. Médico veterinário, doutor, professor Associado do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária da Federal de Minas Gerais (UFMG) – Email: valentim@ufmg.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, dificuldade de parto, pelvimetria.

ABSTRACT

EVALUATION OF INTERNAL PELVIC MEASUREMENTS OF HOLSTEIN CATTLE FROM MINAS GERAIS, BRAZIL

Dystocias may cause significant economic losses for cattle raisers due to reduction in milk production and fertility, premature culling, and additional expenses with veterinary services. According to many studies on this subject, most difficult births are related to fetal-pelvic incompatibility. Therefore, we measured the pelvic height, width and area of 236 Holstein dairy cows by pelvimetry. The animals were between their second and sixth parturition and were raised in a farm in Inhaúma, Minas Gerais. Mean values for pelvic measurements were: $18,62 \pm 1,21$ cm (width), and $19,911 \pm 1,61$ cm (height). Results indicate that the majority of cows may be classified as dolichopellics, 20,33% as platypellics, and 11,01% as mesatipellics.

KEYWORDS: Calving difficulty, cattle, pelvimetry.

INTRODUÇÃO

O Brasil alcançou, de acordo com estimativas, uma produção de leite de 27,083 bilhões de litros de leite (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2008), sendo incontestável a importância da pecuária leiteira no desempenho econômico e no agronegócio brasileiro. O estado de Minas Gerais aparece, nos anos subseqüentes, como o principal e maior produtor de leite no país, contribuindo com 27,83% de toda a produção no ano de 2007 (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2008). A ocorrência de partos distócicos em uma propriedade é causa de perdas relacionadas à parturiente e ao produto, com conseqüências econômicas diretas e indiretas como queda na produção leiteira, redução de fertilidade, descarte prematuro de animais e gastos adicionais com manejo e cuidados veterinários.

A área pélvica é considerada como a variável de maior influência na dificuldade de parto, sendo que a maioria das distocias é resultante de uma incompatibilidade feto-pélvica, ou seja, entre o tamanho do bezerro e da abertura pélvica materna, ou por peso/tamanho excessivo do feto ou área pélvica materna insuficiente (DEUTSCHER, 1978; MEIJERING, 1984; JOHNSON et al., 1988; NIX et al., 1998). As medidas de importância na composição da área pélvica envolvem as seguintes partes anatômicas: sacro, ísquio, ílio e púbis. No púbis encontra-se a porção cranial do assoalho pélvico, onde ocasionalmente pode-se observar, principalmente em fêmeas mais jovens, uma tuberosidade pontiaguda projetando-se para o canal pélvico na porção cranial da sínfise. Essa projeção pode ser causa de contusões ou mesmo lacerações do canal do parto em partos distócicos, considerada como um obstáculo ao parto (ROBERTS, 1971; DERIVAUX & ECTORS, 1984). Observando-se as medidas internas da pelve as fêmeas bovinas: biilíaca média e sacropubiana, normalmente a entrada da pelve apresenta a medida sacropubiana maior, caracterizando a espécie bovina como dolicipélvica (DERIVAUX & ECTORS, 1984).

O uso da pelvimetria direta permite a identificação e avaliação prévia das conformações das pelves das fêmeas, podendo-se evitar casos de distocias, cesarianas ou morte de vaca e/ou bezerros ao parto (MEIJERING, 1984; KO & RUBLE, 1990). A grande frequência das distocias, suas implicações obstétricas e reflexos econômicos na propriedade, a escassez de dados relacionados à pelvimetria na raça holandesa no Brasil motivaram a

execução do presente trabalho, com o objetivo de avaliarem-se as características da raça através da determinação de dados pelvimétricos de 236 fêmeas no estado de Minas Gerais.

MATERIAL DE MÉTODOS

Local de execução

O experimento foi realizado em uma fazenda localizada no município de Inhaúma, MG, durante o período de agosto de 2007 e janeiro de 2008. Os animais encontravam-se em regime *free-stall* durante todo o período de lactação.

Animais

Foram utilizados 236 vacas da raça Holandesa, pluríparas (de segunda à sexta cria), instaladas em piquetes maternidade de 12 X 40 m², recebendo dieta total balanceada e produzida na propriedade, sal mineral e água *ad libitum*. Os animais foram avaliados no período entre 60 a 30 dias antes da data prevista para o parto.

Mensuração dos parâmetros pélvicos internos

A mensuração interna da pelve foi realizada através do pelvímeter de Rice. Após contenção adequada do animal e esvaziamento manual do reto realizou-se a introdução do aparelho. As formações ósseas de interesse foram localizadas manualmente, sendo apoiada cada uma das extremidades do aparelho nestas, para realização da mensuração. As medidas internas mensuradas foram: biilíaca média (maior distância interna entre os braços do ílio) e sacropubiana (distância entre o relevo ventral do corpo das últimas vértebras sacrais e a projeção localizada na sínfise púbica).

RESULTADO E DISCUSSÃO

As medidas internas da pelve dos animais avaliados variaram para biilíaca média entre 15,5 a 21,5 (X: 18,627 ± 1,21) e para sacropubiana entre 16,0 a 23,5 (X: 19,911 ± 1,61). Os

valores observados neste trabalho superaram todos os relatos da literatura consultada (BARRETO et al., 2004; OLIVEIRA, 2003; OLIVEIRA et al., 2001; OKUDA et al., 1994), apesar de somente os dados de OLIVEIRA (2003) poderem ser diretamente comparados com os encontrados por ter também utilizado a medida biilíaca média com medida padrão de avaliação, e não a distância entre a biilíaca superior e inferior, como os demais autores.

Uma característica observada nas vacas avaliadas foi a grande variação de tamanho da projeção na sínfise púbica, influenciando diretamente na medida sacropubiana, já que o -pelvímetro do Rice deve ser posicionado em cima da mesma. Alguns animais chegaram a apresentar projeção de aproximadamente 4 cm, tendo sua medida sacropubiana conseqüentemente diminuída. Esta projeção pode ser um obstáculo a mais a ser ultrapassado pelo bezerro no momento do parto, e quando presente em maiores dimensões, poderá ser responsável por diminuição da altura da pelve (sacropubiana) e da própria área de passagem para o mesmo no canal do parto.

Após o exame dos 236 animais avaliamos que, a distribuição em porcentagem dos animais que, de acordo com sua caracterização de pelve (sacropubiana X biilíca média) foi de 68,66% de vacas dolicipélvicas, 20,33% platipélvicas e 11,01% mesatipélvicas. Achado diferente da maioria dos autores como BENESCH (1963), MENISSIER & VISSAC (1977), RICE & WILTBANK (1972), MEIJERING (1984), BELLOWS et al. (1988), JOHNSON (1988), TONIOLLO & VICENTE (1993), MURRAY et al. (1999) e OLIVEIRA (2003), que caracterizam a espécie bovina com dolicipélvica. Uma das possíveis causas para este achado pode ser a projeção do assoalho da pelve, encontrada em diversos animais durante o experimento, e que interfere na medida sacropubiana.

CONCLUSÃO

Analisando-se os resultados da avaliação das medidas pélvicas internas e da observação ocasional de uma projeção de tamanho variável no assoalho pélvico, conclui-se que a espécie bovina pode apresentar conformação diferente da dolicipélvica, apresentando-se tanto como mesatipélvica (11,01%) quanto platipélvica (20,33%), quando avaliada em um total de 236 animais.

REFERÊNCIAS

- BARRETO, P. B. M.; SANTOS, B. M. R.; WISCHRAL, A.; et al. Pelvimetria e pelviologia em fêmeas bovinas da raça Girolanda em diferentes estágios reprodutivos. **Ciências Veterinárias nos Trópicos**, Recife, v. 7, n. 2 / 3, p. 131-139, 2004.
- BELLOWS, R. D.; SHORT, R. E.; STAIGMILLER, R. B.; et al. Effects of induced parturition and early obstetrical assistance in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 5, p. 1073-1080, 1988.
- BENESCH, F. **Tratado de obstetricia y ginecologia veterinaria**. Barcelona: Labor, 1963. 853p.
- DEUTSCHER, G. H. Factors influencing dystocia and pelvic area in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 47, suppl. 1, p. 8, 1978.
- EMBRAPA, EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA GADO DE LEITE. Disponível em: <
<http://www.cnp.gl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/producao.php> >. Acessado em 25 Jul. 2009.
- JOHNSON, S. K.; DEUTSCHER, G. H.; PARKHURST, A. Relationship of pelvic structure, body measurement, pelvic area and calving difficulty **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 5, p. 1081-1088, 1988.
- KO, J. C. H.; RUBLE, M. V. Using maternal pelvis size and fetal hoof circumference to predict calving difficulty in beef cattle. **Veterinary Medicine**, Lenexa, v. 85, p. 1030–1036, 1990.
- MEIJERING, A. Dystocia and stillbirth in cattle – a review of causes, relations and implications. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 11, p. 143-177, 1984.
- MENISSIER, F; VISSAC, B. Possibilites d’amélioration des conditions de vêlage par sélection. I. Technique de mesure de l’ouverture pelvienne des bovins. **Annales de Genetique et de Selection Animale**, Paris, v. 3, p. 207-214, 1971.
- MURRAY, R. D.; CARTWRIGHT, T. A; DOWNHAM, D. Y; ET AL. Some maternal factors associated with distocia in Belgian Blue cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 1, p.105-113, 1999.

NIX, J. M.; SPITZER, J. C.; GRIMES, L. W.; et al. A retrospective analysis of factors contributing to calf mortality and dystocia in beef cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 49, p. 1515-1523, 1998.

OKUDA, H. T.; PEDUTTI, N. J.; BOMBONATO, P. P.; et al. Influência do parto na pelvimetria de vacas da raça guzerá. **Revista da Faculdade de Zootecnia Veterinária e Agronomia. de Uruguaiana**, Uruguaiana, v. 1, n. 1, p. 39-48, 1994.

OLIVEIRA, A. C; BOMBONATO, P. P.; BARUSELLI, S. P; ET AL. Pelvimetria e pelvilogia em búfalas mestiças (*Bubalus bubalis*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 3, p. 114-121, 2001.

OLIVEIRA, C. P.; BOMBONATO, P. P.; BALIEIRO, C. C. J. Pelvimetria em vacas Nelore. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, p. 297-304, 2003.

RICE, L. E.; WILTBANK, J. N. Factors affecting dystocia in beef heifers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 161, n. 11, p. 1348-1358, 1972.

ROBERTS, S. J. **Veterinary obstetrics and genital diseases: theriogenology**. 2.ed. Ithaca: [s.n.], 1971. 776p.

TONIOLLO, G. H.; VICENTE, W. R. R. **Manual de obstetrícia veterinária**. São Paulo: Varela, 1993. 124p.

AValiação da Necessidade do Tempo de Equilíbrio no Congelamento de Sêmen Caprino

Paula Letícia Nemes Schawb Gomes¹; Leandro Cavalcante Lipinski²; Raimundo Jorge Teles
de Araújo Pereira³

¹ Acadêmica do 8º período do curso de Medicina Veterinária do CESCAGE - Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais, Ponta Grossa - PR, Brasil. CEP: 84010-410.

² Professor Adjunto do curso de Medicina Veterinária do CESCAGE – Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais, Ponta Grossa – PR, Brasil.

³ Professor Titular e Coordenador do curso de Medicina Veterinária do CESCAGE - Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais, Ponta Grossa - PR, Brasil.

E-mail: rjtapereira@yahoo.com.br, raimundo@cescage.edu.br (autores correspondentes)

PALAVRAS-CHAVE: Criopreservação, espermatozóides, pequenos ruminantes.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF EQUILIBRATION TIME IN THE FREEZING OF GOAT SEMEN

The process of cryopreservation causes a marked decrease in sperm viability. Essential measures are followed to prevent changes in sperm cells during freezing, such as the cooling of semen to 5°C before the freezing process. This study evaluates the effect of equilibration periods on quality of frozen goat semen. A total of 8 semen samples from one adult goat were collected by artificial vagina and cryopreserved. The experiment was performed in two stages: Group A – semen cooling to +5°C at 0,25 °C/min (equilibration time of 1 hour), and semen freezing to -120°C at 0,25°C/min; Group B – same cooling and freezing phases, but without the equilibration period (Group B). Analysis of progressive motility revealed that the equilibrium time at 5°C is unnecessary for cryopreservation of goat semen due to the fact that both groups showed a MIP of 65% after thawing.

KEYWORDS: Cryopreservation, small ruminants, sperm

INTRODUÇÃO

O sêmen caprino pode ser usado a fresco, resfriado ou congelado. Tanto o sêmen fresco bem como o resfriado apresentam fertilidade mais elevada, quando comparados ao congelado (SALAMON & MAXWELL, 2000), contudo o caprino por tratar-se de uma espécie que apresenta estacionalidade reprodutiva a utilização do sêmen em estado fresco ou

resfriado pode ficar limitado a determinados períodos do ano. Já o sêmen criopreservado por ser mantido por um longo período armazenado em nitrogênio líquido, apresenta maior aplicabilidade (TRALDI, 2006).

O sêmen caprino foi inicialmente congelado por SMITH & POLGE (1950), cujos autores registraram uma baixa fertilidade pós-descongelação, o que limitava a sua utilização prática, sendo, portanto motivo de muitas investigações no âmbito da criopreservação em todas as etapas envolvidas no processo (LEBOEUF et al., 2000).

O tempo de equilíbrio é considerado o tempo total em que os espermatozóides são mantidos em contato com o glicerol e todos os demais componentes do diluidor, previamente à congelação (BITTENCOURT et al., 2006). Durante esse período, ocorre o equilíbrio osmótico entre o meio intracelular espermático e extracelular, formado por todos os componentes osmoticamente ativos presentes no meio diluidor (SALAMON & MAXWELL, 2000). Segundo OETTLÉ (1986), um apropriado período de equilíbrio, assim como adequadas taxas de diluição e resfriamento celular, são fatores fundamentais para a prevenção do surgimento de alterações espermáticas durante o processo de criopreservação espermática, além do que uma otimização dos processos iniciais de pré-congelação pode aumentar os índices de viabilidade espermática pós-descongelação.

A inseminação artificial é considerada a mais antiga biotécnica da reprodução promovendo notáveis ganhos genéticos no melhoramento dos animais domésticos. O uso do sêmen congelado apresenta inúmeros benefícios como o melhor aproveitamento de reprodutores, facilidade no comércio e transporte de material genético superior, permitindo assim a introdução de novas linhagens no rebanho com maior segurança sanitária, preservação de genética diferenciada entre outras vantagens (SALAMON & MAXWELL, 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a necessidade do uso do tempo de equilíbrio a 5°C antes do início da curva negativa de congelação de sêmen caprino.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no laboratório de andrologia do Centro de Biotecnologia de Reprodução Animal do CESCAGE, localizado na cidade de Ponta Grossa-PR, durante o período de novembro a dezembro de 2008. Neste estudo foi utilizado 01 reprodutor da raça Boer, com idade de 04 anos e fertilidade comprovada. Foram realizadas 08 coletas de sêmen em dias alternados. O reprodutor foi mantido em pastagem de Aruana, com

água e sal mineral *ad libitum*, além da suplementação de 0,4kg/dia de concentrado comercial com 18% PB e feno de Tifton. As coletas do sêmen foram realizadas utilizando uma vagina artificial, tendo como manequim uma cabra com estro induzido ou natural.

Imediatamente após a coleta, o sêmen foi mantido em banho maria numa temperatura de 37°C para realização dos exames físicos (volume, cor e aspecto) e microscópico (turbilhão, vigor e motilidade progressiva). O turbilhonamento foi avaliado pela deposição de uma gota do sêmen sobre a lâmina aquecida observando-se movimentos de onda em escala de 0 a 5. A motilidade progressiva-MIP (0 a 100%) e o vigor (0 a 5) foram observados pela deposição de uma gota de sêmen diluído entre lâmina e lamínula com objetiva de 200x, de acordo com o indicado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA) (HENRY & NEVES 1998). A determinação da concentração espermática foi feita com o auxílio da câmara de Neubauer, utilizando-se sêmen numa diluição de 1:400 em solução de formol-salina tamponada (SALAMON & MAXWELL, 2000).

O sêmen foi diluído em TRIS-GEMA-GLICEROL a 7%, sendo imediatamente envasado em palhetas de 0,25ml, lacradas com álcool polivinílico, numa dose inseminante de 100×10^6 espermatozoides/ml. Todo o processo de congelamento foi realizado na máquina TK3000[®], feito em duas etapas, sendo a primeira etapa referente à curva positiva (resfriamento a 0,25°C/min. até alcançar +5° C) e a segunda etapa referente à curva negativa (congelamento a partir de +5° C numa velocidade de 0,25%/min. até atingir -120°C). Para avaliar a influência do tempo de equilíbrio foram conduzidos 02 grupos experimentais: Grupo A – O sêmen resfriado foi mantido em equilíbrio por 1 hora na temperatura de +5°C, para então ser colocado na curva negativa e o Grupo B – O sêmen foi colocado diretamente na curva negativa sem fazer uso do tempo de equilíbrio. A descongelação em ambos os grupos estudados foi realizada em banho Maria a 37°C por 20 segundos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desde o primeiro registro do congelamento de sêmen caprino, realizado por SMITH & POLGE (1950), quando esses autores já reportavam baixos índices de fertilidade pós-descongelação, muitos estudos têm sido desenvolvidos sobre a criopreservação do sêmen caprino e todas as etapas envolvidas no processo (LEBOEUF et al., 2000). Neste contexto muitas investigações têm sido desenvolvidas para avaliar o efeito do tempo de equilíbrio sobre a qualidade espermática pós descongelação. Embora OETTLÉ (1986) tenha indicado que um apropriado período de equilíbrio, assim como adequadas taxas de diluição e

resfriamento celular, são fatores fundamentais para a prevenção do surgimento de alterações espermáticas durante o processo de criopreservação espermática, os resultados apresentados na literatura sobre a influência do período de equilíbrio sobre os índices de motilidade espermática pós descongelação são bastante conflitantes, cuja influência tem variado de 1 hora entre os trabalhos analisados. WESTHUYSEN (1978) verificou que maiores tempos de equilíbrio proporcionaram melhores índices de motilidade pós descongelação quando comparado a períodos de equilíbrio inferiores. Enquanto que SINHA et al. (1992) obtiveram os melhores resultados de motilidade espermática pós descongelação, utilizando um tempo de equilíbrio (TE) de 4h, DAS & RAJKONVAR (1993) e DAS & RAJKONVAR (1995) observaram que o sêmen mantido por 3h em TE obteve melhores índices de motilidade pós descongelação, em relação ao sêmen submetido a 1h de TE. Já BITTENCOURT et al. (2006) observaram que o tempo de equilíbrio de 2h (G2) foi o que obteve os melhores índices de viabilidade espermática pós descongelação. Discordando com todos os resultados da literatura, BARUAH et al. (2003) não verificaram diferenças significativas em relação às taxas de motilidade espermática e lesões acrossomais, para as amostras de sêmen equilibradas por 0,5, 1 e 1,5h. Estes resultados foram corroborados pelos encontrados no presente estudo, quando observamos uma similaridade nos índices de motilidade progressiva de 65% em ambos os grupos estudados, tanto sem utilização de tempo de equilíbrio bem como com um tempo de equilíbrio de 1h. Este resultado pode ser explicado diante do fato de que os diversos trabalhos apresentados na literatura utilizam diferentes metodologias, o que poderia interferir diferentemente nos resultados encontrados, além do que o tempo de equilíbrio a que os espermatozóides devem ser mantidos depende tanto da taxa de resfriamento que o sêmen será submetido previamente à congelação (SALAMON & MAXWELL, 1995), bem como da composição da fonte de açúcar presente no diluidor e da concentração de glicerol utilizada (LIGHTFOOT & SALAMON, 1969).

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo indicam ser desnecessário a utilização de tempo de equilíbrio na temperatura de 5°C antes do início da curva negativa de congelação.

A não utilização do tempo de equilíbrio na congelação de sêmen caprino implica diretamente numa otimização do tempo disponibilizado durante todo o processo reduzindo em pelo menos 1 hora de trabalho empregado.

REFERÊNCIAS

BARUAH, C.K.; BISWAS, R.K.; DEKA, B.C.; BORGOHAIN, B.N. Effect of glycerol equilibration periods on quality of frozen semen in Beetal x Assam local crossbred goats. **Indian Veterinary Journal**, Madras, v. 80, n. 8, p. 763-765, 2003.

BITTENCOURT, R. F., RIBEIRO FILHO, A. L., ALVES, S. G. G., BISCARDE, C. E., VASCONCELOS, M. F., OBA, E. O efeito do tempo de equilíbrio sobre a qualidade do sêmen caprino criopreservado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 7, n. 1, p. 27-37, 2006.

DAS, K. K.; RAJKONWAR, C. K. A study on the characteristics of Beatal buck semen and its freezability. **Journal of Veterinary Physiology and Allied Sciences**, Izatnagar, v. 12, n. 2, p. 6-16, 1993.

DAS, K. K.; RAJKONWAR, C. K. Effects of equilibration periods on the motility of frozen buck semen in raffinose egg yolk glycerol extender. **Indian Journal of Animal Research**, Haryana, v.29, n.2, p.141-144, 1995.

HENRY, M.; NEVES, J. P. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.49, 1998.

LEBOEUF, B.; RESTALL, B.; SALAMON, S. Production and storage of goat semen for artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.62, p.113-141, 2000.

LIGHTFOOT, R. J.; SALAMON, S. Freezing of ram semen by the pellet method. II. The effect of method of dilution, dilution rate, glycerol concentration, and duration of storage at 5°C prior to freezing on survival of spermatozoa. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 22, p. 1547-1560, 1969.

OETTLÉ, E. E. Changes in acrossome morphology during cooling and freezing of dog semen. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 12, p. 145-150, 1986.

SALAMON, S., MAXWELL W. M. C. Storage of ram semen. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 62, p. 77-111, 2000.

SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. C. Frozen storage of ram semen. I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 37, p. 185–249, 1995.

SINHA, S.; DEKA, B. C.; BORGOHAIN, B. N.; TAMULI, M. K. Study on freezing of goat semen in skim milk extender with different glycerol levels and equilibration periods. The **Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v. 13, n. 1, p. 38-41, 1992.

TRALDI A. S. Biotécnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes. In: **FEINCO 3**, 2006.

WESTHUYSEN, J. M. VAN DER. Observations on the deep-freezing of Angora goat semen. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v. 8, n. 2, p. 111-113, 1978.

TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES COMO FERRAMENTA PARA FORMAÇÃO DE REBANHO EXPERIMENTAL OVINO

Huber Rizzo¹, Dominique François², Thierry Fassier³, Edouard Guitton⁴, Gérard Baril⁵, Juliette Cognié⁵, Alice Fatet⁵, Florence Guignot⁵, Pascal Mermillod⁵, Jean Paul Petit⁵, Jean François Beckers⁶, Benoît Remy⁶, Gilles Foucras⁷ e Gilles Meyer⁷

1. Doutorado do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo - Brasil - email: hubervet@usp.br (autor correspondente)
2. Station d'Amélioration Génétique des Animaux, Institut National de la Recherche Agronomique, Toulouse - França
3. Domaine de La Sapinière, Institut National de la Recherche Agronomique, Bourges- França
4. Plate-forme d'Infectiologie Expérimentale, Institut National de la Recherche Agronomique, Nouzilly - França
5. Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Institut National de la Recherche Agronomique, Nouzilly - França
6. Laboratoire de Physiologie de la Reproduction- Faculté de Médecine Vétérinaire-Université de Liège - Bélgica
7. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - França

PALAVRAS - CHAVE: Ovulações, reprodução, sobrevivência embrionária.

ABSTRACT

EMBRYO TRANSFER AS A TOOL FOR EXPERIMENTAL REPRODUCTION OF OVINE HERDS

This study constitutes an experimental reproduction of Black Belly sheep in order to investigate the Bluetongue disease or catarrhal fever. A total of 32 multiparous Black Belly ewes were superovulated with porcine FSH during the last three days of progestagen treatment, which lasted 14 days. Embryos were surgically collected six days after intrauterine insemination. A total of 264 transferable embryos were recovered ($8,2 \pm 6,0/\text{donor}$), of which 232 were transferred to 111 synchronized females (88 multiparous Romane and 23 nulliparous Suffolk receptor ewes). Lambing and embryo survival rates were 83,6% and 63%, respectively. Both results were significantly higher in multiparous Romane than in nulliparous Suffolk receptors. The number of ovulations and embryos transferred per recipient, as well as their stage of development had a significant effect on embryo survival rate. The best lambing and embryo survival rates were obtained from recipients with more than two ovulations and that had received two embryos in the blastocyst stage.

KEYWORDS: Embryo survival, ovulation, reproduction, sheep.

INTRODUÇÃO

Na espécie ovina, a transferência de embriões é geralmente aplicada a fins de ordem genética, sanitária, comercial ou para conservar a biodiversidade. Este método de reprodução assistida pode ser aplicado para multiplicar rapidamente um rebanho ou um genótipo formado por poucos indivíduos.

Atualmente é desenvolvido na França, com a raça Black Belly, um programa de estudo com a infecção ao vírus da febre catarral maligna ovina sorotipo 8 (Bluetongue) denominado BTV-infect. Este estudo não será possível sem a formação de um rebanho de ovinos da raça Black Belly com grande diversidade genética e quantidade suficiente de indivíduos. A fim de multiplicar o número de indivíduos e a variabilidade genética necessária a realização do estudo, um programa de transferência de embriões, cujos resultados aqui são descritos, foi realizado a partir de fêmeas pertencentes a o único rebanho francês da raça Black Belly instalado no centro INRA da cidade de Bourges.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O programa de coleta e transferência de embriões foi realizado ao término da estação sexual ovina na França, final de janeiro de 2009. Foram utilizados como doadoras de embriões 32 ovelhas múltiparas da raça Black Belly pesando de 40 a 45 quilos. O rebanho de receptoras foi formado por 115 ovelhas: 91 múltiparas da raça Romane e 24 nulíparas da raça Suffolk. Todas as fêmeas haviam parido entre um ano e três meses antes da coleta e transferência de embriões.

Tratamento de fêmeas doadoras e receptoras de embriões

Doadoras

A sincronização do estro foi obtida com implantes vaginais de esponjas impregnadas com 20 mg de acetato de fluorogestona (Chronogest®, Intervet, Angers, França) durante 14 dias. A estimulação ovariana foi realizada como descrito por COGNIE et al., (1986) utilizando 20 mg de FSH suína (Universidade de Liège - Bélgica) divididas em 6 aplicações decrescente (5-5-3-3-2-2 mg) em intervalos de 12 horas nos últimos três dias do tratamento progestágeno. Foram adicionadas as duas ultimas aplicações de FSH suína, 67 e 90 µg de LH suína (Universidade de Liège - Bélgica) respectivamente.

A inseminação intra-uterina foi realizada por laparoscopia 54 a 56 horas após a retirada da esponja vaginal, com sêmen congelado (200×10^6 espermatozoides/doadora) proveniente de sete reprodutores da raça Black Belly que inseminaram de três a cinco fêmeas cada um.

As fêmeas doadoras de embriões não receberam tratamento luteolítico após a coleta, com o objetivo de maximizar o número de nascimentos.

Receptoras

Foi utilizado o mesmo tratamento progestágeno que o realizado nas doadoras e a estimulação ovariana foi realizada através de uma aplicação de eCG (Chronogest®, Intervet, Angers, França) no momento da retirada da esponja. A dose aplicada foi de e 350 UI para as fêmeas Romane e 500 UI para as Suffolk.

Coleta e transferência de embriões

A coleta de embriões foi realizada por laparotomia segundo BARIL et al. (1993), seis dias após inseminação intra-uterina. Após a coleta os embriões foram selecionados morfológicamente e mantidos em meio de conservação embrionária (Embryo Holding Medium®, IMV Technologies, L'Aigle - França) até o momento da transferência ou da criopreservação por vitrificação em palhetas segundo GUIGNOT et al. (2006).

A transferência de embriões foi realizada por laparoscopia no máximo 30 minutos após a coleta. Foram transferidos 2 ($n=97$) e em alguns casos 1 ($n=2$) ou 3 ($n=12$), embriões por receptora ao estado de mórula jovem a blastocisto expandido no corno uterino ipsilateral ao ovário que apresentou ao menos 1 corpo lúteo funcional.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as doadoras apresentaram resposta ao tratamento superovulatório, com uma variabilidade de 4 a 21 ovulações e média de $13,9 \pm 4,9$. A taxa de ovos coletados e clivados foi respectivamente de 75,1% (335/446) e 80,9% (271/335). A taxa de ovos clivados em função do reprodutor utilizado no momento da inseminação intra-uterina variou significativamente de 58,7 % a 100% ($p<0,001$).

Obteve-se média de embriões transferíveis de $8,2 \pm 6,0$ (264) por doadora, 232 foram transferidos imediatamente após a coleta, sendo que 46 em 23 receptoras Suffolk e 186 em 88 receptoras Romana, 24 foram vitrificados e 8 não foram utilizados.

Dentre as 115 fêmeas receptoras, em 4 não foi possível realizar a transferência (2 não ovularam e 2 apresentaram aderência de cornos uterinos no momento da laparoscopia).

O número de ovulações de receptoras múltiparas Romane ($2,25 \pm 0,69$) foi significativamente mais elevado que o observado nas receptoras nulíparas Suffolk ($1,26 \pm 0,45$), $p < 0,001$. O resultado da transferência embrionária não é conhecido para uma receptora da raça Romane que veio a óbito durante a gestação.

Dentre as 110 receptoras, 92 pariram, produzindo 145 cordeiros (80 fêmeas e 65 machos), ou seja, uma taxa de parição¹ de 83,6% e taxa de sobrevivência embrionária² de 63%. A taxa de parição foi significativamente superior nas receptoras múltiparas Romane (88,5%) que nas nulíparas Suffolk (65,2%), $p = 0,007$. Uma tendência similar foi observada na taxa de sobrevivência embrionária com valores de 65,8% e 52,2% para Romane e Suffolk ($p = 0,088$).

A média de cordeiros produzidos foi de $4,67 \pm 3,7$ cordeiros/doadora Black Belly, sendo que 145 nasceram de receptoras e 4 de doadoras de embriões. Os 149 cordeiros foram obtidos de 28/32 doadoras superovuladas e dos 7 carneiros utilizados na inseminação.

O peso ao nascer dos cordeiros nascidos de múltiparas Romane foi significativamente superior ao dos cordeiros nascidos de nulíparas Suffolk, $3,5 \pm 0,5$ kg e $2,3 \pm 0,6$ kg respectivamente ($p < 0,001$).

Análise dos resultados do presente experimento mostrou que as taxas de parição e sobrevivência embrionária foram significativamente ($p < 0,05$) mais elevadas nas receptoras que apresentaram mais de 2 ovulações ($n=26$; taxa de parição 100% e sobrevivência embrionária 76,4%) que nas fêmeas que apresentaram 2 ovulações ($n=59$; taxa de parição 84,7% e sobrevivência embrionária 61,3%) e nas fêmeas com 1 ovulação ($n=25$; taxa de parição 64% e sobrevivência embrionária 52,9%). Este efeito foi observado tanto nas receptoras múltiparas Romane que nas receptoras nulíparas Suffolk.

As fêmeas que receberam 2 embriões ($n=96$) apresentaram taxa de sobrevivência embrionária significativamente superior que as fêmeas que receberam 3 embriões ($n=12$) respectivamente 66,1% e 47,2% ($p < 0,05$).

Considerando o estado de desenvolvimento dos embriões transferidos, observamos que as fêmeas que receberam unicamente blastocisto ($n=35$) apresentaram sobrevivência embrionária significativamente mais elevada que as fêmeas que receberam unicamente mórula ou mórula jovem e mórula ($n=36$), 76,8% contra 52,1% ($p < 0,01$).

Os melhores resultados foram obtidos em receptoras que apresentaram ao menos duas ovulações e que receberam somente 2 embriões no estado de blastocisto (n=21), a taxa de parição foi de 100% e a taxa de sobrevivência embrionária foi de 83,3%.

1. Taxa de parição = receptoras que pariram/ receptoras transferidas $\times$ 100

2. Taxa de sobrevivência embrionária = cordeiros nascidos/ embriões transferidos $\times$ 100

Os resultados obtidos nesse experimento são semelhantes aos já descritos por outros autores em ovinos (ARMSTRONG & EVANS, 1983; BREBION et al., 1992; BARI et al., 2003).

Os efeitos do número e do estado de desenvolvimento dos embriões transferidos, observados são coerentes com resultados reportados anteriormente em outros trabalhos (Mc MILLAN & HALL, 1994; BARI et al., 2003). O efeito no número de ovulações apresentado pela receptora é reportado no caso de transferência de 2 embriões por fêmea (SZELL & HUDSON, 1991; ALABART et al., 1995). No entanto, no caso de transferência de apenas 1 embrião é relatado que a taxa de sobrevivência embrionária é elevada e não há variação da mesma em relação ao numero de ovulações apresentado pela receptora (SZELL & HUDSON, 1991; BARI et al., 2003).

Considerando essas observações, é provável que entre as receptoras nulíparas desse estudo, onde a maioria apresentou uma única ovulação (17/23), a taxa de sobrevivência embrionária teria sido maior se apenas um embrião fosse transferido por fêmea. Foi relatado que a taxa de sobrevivência embrionária obtida em receptoras nulíparas é mais elevada do que entre receptoras múltíparas quando apenas um embrião é transferido por receptora (BARI et al., 2003).

Além disso, o baixo peso ao nascer dos cordeiros paridos pelas receptoras nulíparas é outro argumento a favor da transferência de um único embrião em nulíparas. Pois 28% dos cordeiros nascidos de partos gemelares e paridos por fêmeas nulíparas apresentaram baixo peso ao nascer ($\leq 2,0$ kg) contra apenas 1% nos cordeiros nascidos de partos gemelares e paridos por receptoras múltíparas ($p < 0,01$).

No caso de receptoras nulíparas e transferência de um único embrião por fêmea, seria necessário preparar um maior número de receptoras que no caso da utilização de múltíparas e de transferência de 2 embriões. Além disso, ao considerar os excelente resultados obtidos nas fêmeas que apresentaram ao menos 2 ovulações (taxa de parição 89% e sobrevivência

embrionária 66%, n=85) a utilização de receptoras de raça prolífica como a raça Romane (INRA 401) (RICORDEAU et al., 1992) é recomendada.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse experimento foram satisfatórios e sua análise mostra que é importante considerar todos os fatores de variação que podem afetar o resultado final para com isso maximizar a eficiência da transferência de embriões, que é uma ferramenta eficaz para a rápida multiplicação de genótipos de planteis reduzidos.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi realizado com o apoio da região Centro da França para o financiamento do programa BTV-infect.

Os autores agradecem os técnicos da PFIE-INRA-Nouzilly-França e do Domaine La Sapinière INRA-Bourges-França pelos preparativos e cuidados com os animais desse estudo.

REFERÊNCIAS

- ALABART, J. L.; FOLCH, J.; FERNANDEZ-ARIAS A.; RAMON, J. P.; GARBAYO, A.; ARMSTRONG, D. T.; EVANS, G. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. **Theriogenology**, Stoneham, v. 39, p. 31-42, 1983.
- BARI, F.; KHALID, M.; HARESIGN, W.; MURRAY, A.; MERRELL, B. Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. **Theriogenology**, Stoneham, v. 59, p. 1265-1275, 2003.
- BARIL, G.; BREBION, P.; CHESNE, P. Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chèvre . **In**: Etude FAO: Production et Santé Animales (FAO), n. 115 / Rome (Italy), FAO, 1993, 196 p.
- BREBION, P.; BARIL, G.; COGNIE, Y.; VALLET, J. C. Transfert d'embryons chez les ovins et les caprins. **Annales de Zootechnie**, Versailles, v. 41, p. 331-339, 1992.
- COGNIE, Y.; CHUPIN, D.; SAUMANDE, J.; The effect of modifying the FSH/LH ratio during the superovulatory treatment in ewes. **Theriogenology**, Stoneham, v. 25, p. 148, 1986 (abstract).
- GUIGNOT, F.; BOUTTIER, A.; BARIL, G.; SALVETTI, P.; PIGNON, P.; BECKERS, J. F.; TOUZE, J. L.; COGNIE, J.; TRALDI, A. S.; COGNIE, Y.; MERMILLOD, P. Improved

vitrification method allowing direct transfer of goat embryos. **Theriogenology**, Stoneham, v. 66, p. 1004-1011, 2006.

McMILLAN, W. H.; HALL, D. R. H. Laparoscopic transfer of ovine and cervine embryos using the transpic technique. **Theriogenology**, Stoneham, v. 42, p. 137-146, 1994.

RICORDEAU, G.; TCHAMITCHIAN, L.; BRUNEL, J.C.; NGUYEN, T. C.; FRANÇOIS, D. La race ovine INRA 401- Un exemple de souche synthétique. **INRA Productions Animales, hors série "Éléments de génétique quantitative et application aux populations"**, p. 255-262, 1992.

SZELL, A.; HUDSON, R. H. H. Factors affecting the survival of bisected sheep embryos in vivo. **Theriogenology**, Stoneham, v. 36, p. 379-387, 1991.

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS SANTA INÊS APÓS SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E INDUÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTÁGENO E PROGESTERONA

Josemara Silva Santos¹; Jalily Bady Helou⁴; Maria Vitória F. L. Cavalcanti²; Jorge Luís Ferreira¹; Mabel Freitas Cordeiro³; Tânia Vasconcelos Cavalcante¹

1. Universidade Federal do Tocantins/EMVZ, Araguaína-TO
E-mail: cavalcante.tv@gmail.com (autor correspondente)
2. Central Genética Fazenda Santo Antônio, Campo Maior-PI
3. Universidade do Vale do São Francisco- UNIVASF
4. Acadêmica de Medicina Veterinária UFG/EV- Bolsista CNPQ

PALAVRAS-CHAVE: Estro, ovino, progesterona, sincronização

ABSTRACT

REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF SANTA INÊS EWES AFTER ESTRUS SYNCHRONIZATION AND OVULATION INDUCTION BY USE OF PROGESTAGEN/PROGESTERONE THERAPY

This study evaluates the effect of natural and synthetic progesterone on incidence of estrus in ewes. A total of 48 females were randomly divided into four experimental groups of 12 animals each: T1 – sponge impregnated with 60 mg of MAP during 14 days and application of 300UI of eCG on the last day (D14); T2 – same device used in T1 during 6 days and application of 0,5mL of PGF2 α and 300UI eCG (D5); T3 – CIDR (natural progesterone) during 14 days and application of 300UI eCG (D14); T4 – same device used in T3 during 6 days and application of 0,5mL of PGF2 α and 300UI eCG (D5). Estrus activity was assessed by vasectomized teasers and laparoscopic AI sixty hours after treatment, using a semen frozen sample from one male sheep. Response to estrus synchronization varied depending on progesterone source used ($p < 0,05$). Estrus response rates were better in animals treated with the CIDR (91,67% T3 and 100% T4) in comparison with MAP-impregnated sponges (50% T1 and 66,7% T2), regardless of duration of treatment.

KEYWORDS: Estrus, progesterone, sheep, synchronization

INTRODUÇÃO

A ovinocultura de corte é uma atividade que vem crescendo muito nos últimos anos, principalmente devido a grande procura pela carne ovina. Mesmo sendo um negócio economicamente rentável, a produção/oferta de carne ovina ainda não atende o mercado interno, dessa forma o Brasil continua importando carne de ovino, isso justifica a importância do agronegócio da ovinocultura como estratégia para o desenvolvimento rural (OLIVEIRA & OLIVEIRA, 2008).

Tem havido uma crescente demanda por biotécnicas da reprodução em pequenos ruminantes que visem o incremento da produtividade e da rentabilidade dos rebanhos e das unidades reprodutivas. Dentre estas biotécnicas, pode-se ressaltar a sincronização de estro e indução à ovulação e a inseminação artificial. Existem alguns protocolos de sincronização de estro em ovinos, variando na fonte de progesterona (natural ou sintética), ou na sua associação a outros hormônios como a $\text{PGF}_{2\alpha}$ e eCG (LUTHER et al., 2007).

Objetivou-se avaliar o efeito do tipo de fonte de progesterona (natural e sintética) sobre a incidência do estro em ovelhas da raça Santa Inês.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em janeiro e fevereiro de 2009, no município de Campo Maior - PI, com 48 ovelhas da raça Santa Inês. Dividiu-se em quatro grupos experimentais, com 12 animais cada, onde: T1, com tratamento padrão francês por 14 dias, inseriu-se na porção cranial da vagina (D0) esponja impregnada com 60mg com acetato medroxi-progesterona (MAP) (Progespon) e no dia retirada da esponja (D14) aplicou-se 300UI de eCG (Folligon, Intervet); T2, com o mesmo dispositivo do T1 sendo que no Dia 5 foi administrado 0,5mL de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Ciosin, Schering) e 300UI eCG por via IM e no D6 retirou-se as esponjas. O T3 e T4 consistiram na deposição vaginal de eazy breed CIDR (Pfizer) contendo 0,33g de progesterona natural, sendo T3 por período de 14 dias e T4 por 6 dias, demais procedimentos semelhantes aos T1 e T2 respectivamente. As manifestações de estro foram observadas 12 horas após a retirada dos pessários, utilizando rufiões vasectomizados, tendo um total de 48 horas de observação e com as inseminações artificiais por laparoscopia feitas 60h após o final do tratamento, com sêmen congelado/descongelado de único reprodutor (única partida) com concentração espermática de 150×10^6 espermatozóides viáveis/dose.

Para as inseminações laparoscópicas, realizou-se, à princípio, tricotomia e higienização no ventre dos animais, em seguida foi aplicado 1mL de anestésico/sedativo

endovenoso por animal (3mL de cloridrato de xilazina, 5mL de cloridrato de cetamina em 42mL de soro fisiológico). Ato contínuo fez-se a contenção das fêmeas em maca apropriada, em decúbito dorsal, numa angulação de 45° em relação ao solo. Introduziu-se o laparoscópio no abdômen através de trocaterização mediante o emprego de dois trocateres de 5 mm. Por meio de um dos trocateres procedeu-se à insuflação da cavidade abdominal com gás carbônico e penetração do endoscópio, e pelo outro trocater foi introduzido uma pinça de manipulação para localização do útero e, posteriormente, uma pipeta inseminante, adaptada a uma seringa de 1mL. A pipeta utilizada apresenta uma extremidade perfurante, permitindo a sua introdução na luz uterina, sendo depositada metade da dose de sêmen (0,5mL) em cada corno uterino.

Os grupos experimentais foram comparados através do teste não paramétrico Qui-quadrado (PROC FREQ), com aplicação do teste exato de Fisher. Todas as análises foram realizadas através do software computacional Statistical Analysis System 9.0 (SAS, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta da sincronização de estro variou dependendo da fonte de progesterona utilizada ($P < 0,05$). Verificou-se que os animais tratados com eazy breed CIDR (Pfizer) apresentaram melhor resposta ao estro 91,67% (T3) e 100% (T4), contra 50% (T1) e 66,7% (T4) dos animais tratados com esponja impregnada com MAP (Progespon), independentemente do período de tratamento. Os resultados T3 e T4 quanto ao percentual de fêmeas em estro foram semelhantes aos encontrados por ALVARES et al. (2009) quanto avaliou o desempenho reprodutivo na mesma raça com norgestomet e MAP, assim como ao intervalo da retirada do progestágeno e estro. GODFREY et al. (1999) obtiveram a ocorrência de estro de 100 e 94% para CIDR e esponjas, respectivamente, utilizando ovelhas lanadas criadas nos EUA. GUIMARÃES et al. (2008) encontraram maiores percentuais de fêmeas com comportamento de estro, obtiveram 95 e 78% em ovelhas da raça Santa Inês usando 150 e 200UI eCG.usando o mesmo tratamento deste experimento, o T1. Apesar dos tratamentos T3 e T4 apresentarem melhor resultados que T1 e T2, com relação ao percentual de ovelhas em estro, a taxa de prenhez foi baixa para todos os tratamentos, 33,33%, 25,00%, 36,36% e 41,67% para T1, T2, T3 e T4, respectivamente, não sendo evidenciada diferença estatística ($P > 0,05$) entre eles.

Quanto à observação do intervalo entre retirada do progestágeno e início do estro foi observada diferença estatística entre os quatro tratamentos ($P < 0,05$). Os tratamentos com CIDR apresentaram melhores resultados, quando comparados aos tratamentos com esponja.

Porém não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre os horários de estro, independente do tratamento, ou seja, 35,90%, 33,33% e 30,70% das fêmeas entraram em estro em às 24, 36 e 48 horas, respectivamente. Quanto aos intervalos do final do tratamento e início de comportamento estral, GUIMARÃES et al. (2008) apresentaram período em horas inferior aos deste trabalho, de 15,42 e 14,18 horas para tratamentos usados com 150UI e 200UI, respectivamente. GODFREY et al. (1999) comparando protocolos com CIDR, $\text{PGF}_2\alpha$ e esponjas reportaram a ocorrência de estro com intervalos de 12 a 36hs para CIDR, enquanto que para as esponjas impregnadas com MAP o intervalo médio de $25,4\pm 2,3$ hs verifica-se resultado com CIDR semelhante aos observado no T3 e T4 e inferior aos do T1 e T2 deste trabalho. Isto provavelmente deve-se ao fato da utilização de diferentes tipos de progesterona e progestágeno, *status* fisiológico e resposta individual do animal, além das diferenças entre raças. Essas diferenças devem-se ao fato da utilização de diferentes tipos de progesterona/progestágeno empregados.

CONCLUSÕES

Nas condições experimentais presentes, conclui-se que os protocolos utilizando progesterona natural (eazy breed CIDR) apresentam melhores resultados comparados àqueles que empregam esponjas impregnadas com o progestágeno MAP, no que diz respeito ao número de fêmeas que manifestam estro. Verificou-se ainda que, o tempo de duração dos tratamentos não interferiu no percentual de fêmeas em estro. Sendo assim, sugere-se a utilização de um tratamento mais curto com uma fonte de progesterona natural como o eazy breed CIDR por facilitar o manejo geral dos animais e reduzir o intervalo entre partos.

REFERÊNCIAS

- GODFREY, R. W; COLLINS, J. R; HENSLEY, E. L; WHEATON, J. E. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. **Theriogenology**, New York, v. 51, p. 985-997, 1999.
- GUIMARÃES, C. R. R; MARIANI, A. C. B; SANTOS, J. S; LIMA, R. S; SANTOS, F. P; DIAS, F. E. F; CAVALCANTE, T. V; FERREIRA, J. L. Sincronização de estro com diferentes doses de eCG em ovelhas da raça Santa Inês na região sul do Estado do Tocantins. In: CONGRESSO NACIONAL DE ZOOTECNIA, 18, 2008. João Pessoa. **Anais...** (CD-ROOM).

LUTHER, J. S.; GRAZUL-BILSKA, A. T.; KIRSCH, J. D.; WEIGL, R. M.; KRAFT, K. C.; NAVANUKRAW, C.; PANT, D.; REYNOLDS, L. P.; REDMER, D. A. The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewe. **Small Ruminant Research**, New York, v. 72, p. 227–231, 2007.

OLIVEIRA, R. P. M.; OLIVEIRA, F. F. Manipulação do ciclo estral em ovinos. **PUBVET**, Londrina, v. 2, n. 7, 2008.

SAS (2002) Statistical Analysis System. **User's guide**. Version 8.2. 8 ed. Cary: 956p.

DESEMPENHO DE BEZERROS ALIMENTADOS COM CONCENTRADO EXTRUSADO OU FARELADO

Amália Saturnino Chaves¹, Rafael Caputo Oliveira², Gil Pessoa Junior², Antônio de Azevedo Carvalho Viana³, Leandra Queiroz de Melo⁴; Suely de Fátima Costa⁵ e Marcos Neves Pereira⁶

1 – Mestranda do Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras – CEP: 37200-000, Lavras – MG, Brasil, Email: amalia71@yahoo.com.br (autor correspondente)

2 – Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras

3 – Acadêmico do Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa

4 – Doutoranda do Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras

5 – Médica Veterinária, doutora, professora do Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras

6 – Médico Veterinário, doutor, professor do Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras

PALAVRAS-CHAVE: Desmame, ração inicial, recria.

ABSTRACT

PERFORMANCE OF CALVES FED GROUND OR TEXTURED STARTER

Ruminal starch degradation in calf starters may determine the production of fatty acids in the rumen as well as its development. Therefore, this study evaluates feeding management of calves by varying the volume of milk and type of starter concentrate. Animals were fed textured starter (Ruter) or ground starter (control group). A total of 32 Holstein calves (16 male and 16 female) were housed in pairs, firstly according to sex, then date of birth. They were randomly allocated to one of the two treatment groups on their first day of life. After birth, all animals received 4 liters of milk, and weaning was performed when starter consumption reached 800g for two consecutive days. Birth weight was used as covariant in the model of statistical analysis, which also considered the effect of blocks and treatments. Mean values obtained from textured and ground starter groups were, respectively: body weight at birth – 38,3 and 38,4 kg ($P = 0,96$); weaning age – 47,5 and 48,7 days ($P = 0,66$); and weaning weight – 53,1 and 56,3 kg ($P = 0,07$). Calves fed Ruter diet showed higher weight gain rates until weaning.

KEYWORDS: Dairy calves, initial feed, weaning.

INTRODUÇÃO

O grande objetivo da etapa de criação de bezerros é fazer com que esses animais, fisiologicamente pré-ruminantes, passem a ruminantes funcionais a um custo compatível e sem prejuízos para o desempenho futuro, com alguma economia de leite em relação ao método de criação natural.

Recentemente vem sendo proposto o fornecimento de uma dieta sólida que possibilite acelerar o consumo e o desenvolvimento precoce do rúmen, sem prejuízos ao desempenho do animal. O desenvolvimento das papilas ruminais é auxiliado pela fermentação de carboidratos provenientes da dieta com conseqüente produção de ácidos graxos voláteis (ANDERSON et al., 1987), permitindo que os bezerros passem da forma de digestão monogástrica para uma característica de ruminantes adultos (WARNER, 1991). Quanto mais cedo os animais consomem alimentos concentrados, o grau de maturidade do rúmen ocorre em idade mais precoce em comparação a bezerros alimentados somente com dieta líquida. Este progresso de maturação do rúmen permite desmamar bezerros eficientemente por volta de quatro semanas de idade (ANDERSON et al., 1987).

Poucas pesquisas têm estudado o efeito do processamento de grãos para bezerros sobre o consumo, o desempenho e a idade de desmame. De acordo com WARNER et al. (1973) e WARNER (1991), dietas iniciais para bezerros não devem ser finamente moídas e, pelo menos, 50% das partículas devem ser maior que 1190 µm.

O processamento dos grãos é uma importante ferramenta de manipulação da fermentação ruminal e é utilizado visando incrementar a eficiência de utilização da dieta, aproveitando melhor o potencial do animal, provavelmente por aumentar a absorção de energia e proteína. Segundo SIMAS (1997), o amido representa cerca de 60% a 80% da matéria seca de grãos de cereais e é a principal fonte de energia em dietas para ruminantes. Com isso, a taxa e a extensão da digestão do amido no rúmen influenciam a produção de ácidos graxos voláteis, o pH do rúmen e a quantidade e a forma física do amido disponível para a digestão pós-ruminal.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de bezerros variando o volume de leite e o manejo alimentar convencional comparativamente ao uso de concentrado com amido extrusado.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido na Fazenda Registro, localizada no município de Lavras – MG. O período experimental de coleta de dados foi de setembro de 2008 a maio de 2009.

Foram utilizados trinta e dois bezerros da raça Holandesa, sendo dezesseis machos e dezesseis fêmeas provenientes da própria fazenda onde o trabalho foi realizado. Os nascimentos ocorreram em um intervalo de 169 dias.

Após o nascimento os animais foram pesados, alimentados com quatro litros de colostro e posteriormente foram alojados em bezerreiros individuais, onde permaneceram até o final do período experimental. Cada bezerreiro era equipado com dois dispositivos de fixação dos baldes de alumínio para o fornecimento de dietas líquidas e dos concentrados. Posteriormente à colostragem, os machos receberam quatro litros de leite bovino até o sétimo dia e quatro litros de sucedâneo lácteo (Nattimilk[®], Auster Nutrição Animal, Campinas, São Paulo) do oitavo dia de vida até o desaleitamento. As fêmeas receberam quatro litros de leite bovino até o desmame. Todos os animais receberam os quatro litros de leite (sucedâneo ou bovino) dividido em duas alimentações diárias, às 7 e 14 horas. O consumo dos concentrados foi mensurado diariamente, e os animais foram pesados a cada sete dias a partir da data de nascimento. Os animais não tiveram acesso a volumosos.

Os tratamentos foram concentrado extrusado (Ruter[®], ACA, Buenos Aires, Argentina) ou farelado (18,5% farelo de trigo, 18,5% farelo de soja, 57% milho, 6% minerais e palatabilizantes). Aos animais do tratamento controle foi fornecido quatro litros de leite até o 28º dia de vida, concentrado farelado e água à vontade. A partir do 29º dia de idade o consumo de leite foi reduzido para três litros de leite por dia, oferecido somente pela manhã. O desmame foi realizado quando o consumo do concentrado farelado atingiu 800 g por dois dias consecutivos. Aos animais do tratamento Ruter[®] o consumo de leite foi reduzido para dois litros de leite por dia quando o consumo atingiu 400 g por dois dias consecutivos. O desmame foi realizado quando o consumo foi 800 g de Ruter por dois dias consecutivos.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os animais foram blocados em pares, primariamente por sexo e secundariamente por data de nascimento, e foram aleatoriamente alocados aos tratamentos no primeiro dia de vida. O peso ao nascimento foi utilizado como covariável no modelo de análise estatística, também contendo o efeito de bloco e tratamento. Os dados foram analisados pelo procedimento GLM do SAS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença no peso médio ao nascimento comparando os dois tratamentos, que foi de 38,3 kg e 38,4 kg ($P=0,96$) no tratamento Controle e no tratamento Ruter[®], respectivamente. O peso ao desmame foi 53,1 kg no tratamento Controle e 56,3 kg no tratamento Ruter[®] ($P=0,07$). Resultados semelhantes foram encontrados por FRANKLIN et al. (2003), que observaram ganho total maior em bezerros alimentados com dieta extrusada comparado a bezerros alimentados com dieta farelada ou peletizada. Estes autores atribuem o

melhor desempenho obtido à maior ingestão de dieta extrusada devido à maior dimensão das partículas.

Geralmente bezerros são desmamados em média com 8,7 semanas de idade, no entanto, os animais podem ser seguramente e eficazmente desmamados com quatro semanas de idade (Anderson et al., 1987). No presente trabalho os bezerros foram desmamados por volta de sete semanas de idade, tanto no tratamento Controle com 47,5 dias de idade, quanto no tratamento com Ruter[®] com 48,7 dias de idade ($P=0,66$). FRANKLIN et al. (2003) observaram que bezerros alimentados com dieta extrusada ou farelada foram desmamados em torno de 4,5 semanas de idade. Desmame entre quatro a cinco semanas de idade, comparado com 8,7 semanas, pode resultar em redução de custos na produção de leite (HEINRICHS, 1993). Além disso, há redução na mão de obra necessária para alimentar bezerros com dietas sólidas em relação a dietas líquidas.

CONCLUSÃO

O processamento do concentrado afetou o desempenho dos bezerros. O tratamento Ruter[®] proporcionou maior ganho de peso total até a idade do desmame.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, K. L.; NAGARAJA, T. G.; MORRILL, J. L. Ruminal and metabolic development in calves weaned conventionally or early. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 70, p. 1000–1005, 1987.
- FRANKLIN, S. T.; JACKSON, J. A.; et al. Health and performance of Holstein calves that suckled or were hand-fed colostrum and were fed one of three physical forms of starter. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 2145-2153, 2003.
- HEINRICHS, A. J. Raising dairy replacements to meet the needs of the 21st century. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 3179–3187, 1993.
- SIMAS, J. M. Processamento de grãos para rações de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL, 1996, Piracicaba. **Confinamento de bovinos**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.7-32.
- WARNER, R. G. Nutritional factors affecting the development of a functional ruminant—A historical perspective. **Proc. Cornell Nutr. Conf.**, 1–12. Ithaca, NY: Cornell University. 1991.
- WARNER, R. G.; PROTER, J. C.; SLACK, S. T. Calf starter formulation for neonatal calves fed no hay. **Proc. Cornell Nutr. Conf.**, 116–122. Ithaca, NY: Cornell University. 1973.

DISTRIBUIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS LINEARES DE PERNAS E PÉS DOS TOUROS LEITEIROS TESTADOS DAS RAÇAS HOLANDÊS E JERSEY DISPONIBILIZADOS NO BRASIL

Gregori Alberto Rovadoscki¹, Marcio Pereira Soares², Leila de Genova Gaya³, Leandro Homrich Lorentz⁴, Fernanda Batistel⁵, Simone Fernanda Nedel Pértile⁵

1. Acadêmico do curso de Zootecnia, Grupo de Pesquisa em Estatística e Melhoramento Genético Aplicados à Produção Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), CEP 89802-200, Chapecó, Santa Catarina, Brasil - E-mail: gregori_ro@yahoo.com.br (autor correspondente)
2. Médico Veterinário, MSc, Professor do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina
3. Médica Veterinária, MSc, PhD, Professora do curso de Engenharia de Biosistemas, Universidade Federal de São João del-Rei
4. Engenheiro Agrônomo, MSc, PhD, Professor do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina
5. Acadêmica do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina

PALAVRAS-CHAVE: bovinos de leite, inseminação artificial, melhoramento genético, provas de touros, teste de progênie.

ABSTRACT

ANALYSIS OF FOOT AND LEG LINEAR TYPE TRAITS OF HOLSTEIN AND JERSEY DAIRY BULLS AVAILABLE IN BRAZIL

This study investigates the scoring distribution of foot and leg linear type traits, rear legs (side and rear view), and foot angle of Holstein and Jersey dairy bulls provided by semen companies in Brazil. Registers of 392 Holstein and 92 Jersey bulls were found in the websites of these companies, and their proofs were located in the summary Dairy Bulls, in the American April 2008 database. Descriptive statistics for all traits and the test of normality were carried out. Mean scores for foot and leg traits as well as rear legs - rear view measurements were biologically favorable, unlike those of rear legs - side view and foot angles. Therefore, caution is needed when selecting bulls for reproduction as regards these characteristics. The animals available during the research period fit the standard recommendations for foot and leg scores and rear legs - rear view, which would contribute to

longevity of daughters of progeny-tested bulls. This indicates that the monitoring of bull proofs is important in order to avoid the use of sperm with genetic defects.

KEYWORDS: Animal breeding, artificial insemination, bull proofs, dairy cattle, progeny test.

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial tem papel fundamental no melhoramento genético de bovinos leiteiros, pois com ela é possível um melhor aproveitamento dos reprodutores, tornando-se essencial, contudo, a avaliação da qualidade destes touros e das melhorias que eles podem proporcionar a um rebanho. Desta forma, faz-se necessária a utilização de touros testados (ou provados), que são aqueles submetidos a um teste de progênie (SANTOS & CORRÊA, 2000). Estas provas são realizadas pelo Comitê Internacional *Interbull*, o qual foi criado a partir da idéia de se ter provas unificadas dos touros oriundos de diversos países, disponíveis no *website Dairy Bulls* (DAIRY BULLS, 2008).

Entre as características presentes nestas provas estão as de classificação linear, que têm como objetivo selecionar animais que demonstrem através de seu fenótipo sua capacidade para produção e reprodução (CROCE, 2007). Dentre estas, destacam-se as relacionadas a pernas e pés, as quais estão fortemente relacionadas à qualidade óssea e à sustentação dos animais, tendo importante influência em sua longevidade (ESTEVES et al., 2004).

Assim, este estudo teve como objetivo a análise da distribuição das características lineares escore de pernas e pés, pernas vista lateral, pernas vista posterior e ângulo de cascos dos touros das raças Holandês e Jersey disponibilizados pelas empresas comercializadoras de sêmen no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Os registros dos touros com sêmen disponível no Brasil foram localizados nos *websites* das empresas comercializadoras de sêmen de bovinos leiteiros no país. No mês de abril de 2008, foram encontrados 484 touros, sendo 392 da raça Holandês e 92 da raça Jersey. As provas dos touros foram localizadas no *website Dairy Bulls* (DAIRY BULLS, 2008),

utilizando-se a base genética americana de abril de 2008, e tabuladas. As características lineares estudadas para bovinos leiteiros da raça Holandês foram escore de pernas e pés, pernas vista lateral, pernas vista posterior e ângulo de cascos. Para a raça Jersey, foram analisadas apenas as características pernas vista posterior e ângulo de cascos, pois as demais não são avaliadas para os touros desta raça.

Para a característica escore de pernas e pés (EPP), pontuações acima de zero representam pernas paralelas e jarretes limpos (CROCE, 2007). Para pernas vista lateral (PVL), pontuações acima de zero indicam pernas muito curvas e abaixo de zero, pernas retas, portanto, pontuações iguais a zero representam pernas que, na altura do jarrete, apresentam uma ligeira curvatura, não muito acentuada (SANTOS & CORRÊA, 2000; CROCE, 2007). Para pernas vista posterior (PVP), pontuações acima de zero indicam pernas paralelas (CROCE, 2007) e em relação à característica ângulo de casco (AC), os cascos com talões fortes e ângulo de 45° nas pinças possuem pontuação igual a zero (CROCE, 2007).

A estatística descritiva de número de observações, média e mediana, bem como o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($P\text{-valor} > 0,05$) para as características estudadas foram calculados por intermédio do pacote estatístico SAS® (SAS INSTITUTE, 1999), utilizando-se o procedimento PROC UNIVARIATE. Os registros de touros repetidos e sem informação para as características avaliadas foram removidos previamente às análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A característica EPP esteve presente somente nas provas de touros Holandês, cuja pontuação média encontrada foi de 0,98 ponto, indicando que os touros avaliados, em sua média, tendem a transmitir escores favoráveis para suas filhas, pois pontuações mais altas indicam que os animais possuem um andar suave, sem forçar, não comprometendo suas articulações (SANTOS & CORRÊA, 2000). Para esta característica foram utilizadas informações de 380 provas de touros Holandês.

Para PVL, outra característica presente somente na prova de touros Holandês, a média obtida foi de -0,49 ponto, tendendo os touros a terem filhas com pernas retas, o que não é favorável, pois este problema pode diminuir a vida útil dos animais. Tanto pernas muito curvas como muito retas tendem a ser prejudiciais aos animais (CROCE, 2007). Entretanto,

mais prejudiciais são as pernas curvas em demasia, ou seja, pontuações positivas, que desgastam o talão dos cascos rapidamente, causando muita dor nas articulações e fazendo com que as vacas produzam menos (SANTOS & CORRÊA, 2000). Para esta característica foram utilizados dados de 385 provas de touros Holandês.

Para os touros das raças Holandês e Jersey, PVP apresentou, em média, pontuação positiva. Esta pontuação, contudo, foi maior para a os touros Holandês (1,24 pontos), em comparação aos touros Jersey (0,01 pontos), os quais tiveram sua média muito próxima a zero. Ou seja, em média, os touros Holandês possuíram maior facilidade para incrementar esta característica em suas filhas em relação aos touros Jersey avaliados, uma vez que o ideal é que esta pontuação seja positiva, indicando que as pernas, em vista posterior, sejam abertas e paralelas, favoráveis ao desenvolvimento do úbere (SANTOS & CORRÊA, 2007). Foram utilizados para esta característica dados de 385 provas de touros Holandês e 85 provas de touros Jersey.

Para os touros Holandês e Jersey, a pontuação média para AC foi positiva, de 0,95 e 0,42 ponto respectivamente, acima da pontuação ideal, igual a zero, (CROCE, 2007). Ou seja, suas filhas tendem a apresentar, em média, maiores ângulos de cascos, consequentemente podendo causar prejuízos à longevidade dos animais do rebanho. Para esta características foram utilizadas informações de 384 provas de touros Holandês e 84 provas de touros Jersey.

As medianas para ECC, na raça Holandês (1,00 ponto) e PVP, para a raça Holandês (1,23 ponto) e a raça Jersey (0,10 ponto), foram positivas e favoráveis, indicando que ao menos metade dos touros possuíram pontuação desejável para estas características. Já em relação às medianas para PVL, nos touros da raça Holandês (-0,45 ponto), e para AC, nas raças Holandês (0,94 ponto) e Jersey (0,45 ponto), as medianas obtidas foram desfavoráveis, uma vez que ao menos metade dos animais apresentou pontuação inferior à desejável para pernas vista lateral e superior à desejável para ângulo de cascos e procuram-se animais com pontuações iguais ou muito próximas a zero para estas características (SANTOS & CORRÊA, 2000; CROCE, 2007).

Foram encontrados animais com pontuações indesejáveis para todas as características estudadas, devendo-se analisar com rigor as provas dos touros a serem utilizados, de acordo

com os objetivos de seleção pretendidos, evitando-se assim prejuízos para características importantes relacionadas à produção e à longevidade dos animais.

Todas as características avaliadas apresentaram distribuição normal em ambas as raças. Nos touros Holandês, para o teste de normalidade de Shapiro-Wilk os valores encontrados foram, para ECC, de 0,97, para PVL, de 0,46, para PVP, de 0,18 e para AC de 0,90, enquanto para touros Jersey obtiveram-se os valores para PVP de 0,26 e para AC de 0,32. Seus valores estiveram, portanto, simetricamente concentrados em torno da média, validando testes estatísticos baseados neste tipo de distribuição para estas características em ambas as raças.

CONCLUSÃO

Os touros disponibilizados no Brasil, da raça Jersey e Holandês, no período estudado, em sua média, foram capazes de atender aos padrões recomendados para as características lineares de escore de pernas e pés e pernas vista posterior, ou seja, através de sua utilização pode haver o incremento de produção e longevidade de suas filhas associado a estas características.

Deve-se ter cautela quanto à escolha do touro para as características pernas vista lateral e ângulo de cascos.

Faz-se necessário o monitoramento das provas dos touros leiteiros disponibilizados no Brasil para que se tenha a otimização do ganho genético do rebanho nacional, evitando-se que animais de valor genético desfavorável sejam utilizados, o que pode vir a prejudicar sua produtividade.

REFERÊNCIAS

CROCE, E. D. **A escolha do touro como ferramenta para lucratividade em rebanhos leiteiros.** 2008. Disponível em: <<http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do/cdnoticia=1540>>. Acesso em: nov. 2008.

DAIRY BULLS. **Dairy Bulls: the internet source for genetic information**. 2008. Disponível em: <<http://www.dairybulls.com/breeds.asp>>. Acesso em: jun. 2008.

ESTEVES, A. M. C.; BERGMANN, J. A. G.; DURÃES, M. C.; et al. Correlações genéticas e fenotípicas entre características de tipo e produção de leite em bovinos da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 4, p. 529-535, 2004.

SANTOS, R.; CORRÊA, A. B. Como são feitos os testes de progênie (provas de touros). In: III SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 2000, Belo Horizonte. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://www.lana.ufba.br/bovinos/melhoramentobovinos_arquivos/testprog.pdf>. Acesso em: set. 2008.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis systems user's guide**. Version 8. Cary: SAS Institute Inc., 1999. 1464p.

DISTRIBUIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS LINEARES DE ÚBERE EM TOUROS LEITEIROS TESTADOS DAS RAÇAS HOLANDÊS E JERSEY DISPONIBILIZADOS NO BRASIL

Gregori Alberto Rovadoscki¹, Marcio Pereira Soares², Leila de Genova Gaya³, Leandro
Homrich Lorentz⁴, Valdirene Zabot⁵, Fernanda Batistel⁵

1. Acadêmico do curso de Zootecnia, Grupo de Pesquisa em Estatística e Melhoramento Genético Aplicados à Produção Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), CEP 89802-200, Chapecó, Santa Catarina, Brasil - E-mail: gregori_ro@yahoo.com.br (autor correspondente)
2. Médico Veterinário, MSc, Professor do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina
3. Médica Veterinária, MSc, PhD, Professora do curso de Engenharia de Biosistemas, Universidade Federal de São João del-Rei
4. Engenheiro Agrônomo, MSc, PhD, Professor do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina
5. Acadêmica do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina

PALAVRAS-CHAVE: bovinos de leite, inseminação artificial, melhoramento genético, provas de touros, teste de progênie.

ABSTRACT

PARAMETERS OF LINEAR UDDER TRAITS OF HOLSTEIN AND JERSEY DAIRY BULLS AVAILABLE IN BRAZIL

This study investigates the distribution of linear traits, rear udder height, udder width, udder depth, udder cleft, and fore udder attachment of Holstein and Jersey dairy bulls provided by semen companies in Brazil. Registers of 392 Holstein and 92 Jersey bulls were found in the websites of these companies, and their proofs were located in the summary Dairy Bulls, in the American April 2008 database. Descriptive statistics for all traits and the test of normality were carried out. Mean scores for all linear udder traits were biologically favorable, except those for udder depth, which presented an average score above zero. Therefore, caution is needed when selecting bulls for reproduction as regards this characteristic. The animals available during the research period fit the standard recommendations for these traits, which

would contribute to the improvement of reproductive aspects related to them. This indicates that the monitoring of bull proofs is of great importance.

KEYWORDS: Animal breeding, artificial insemination, bull proofs, dairy cattle; progeny test.

INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta um dos maiores rebanhos de bovinos leiteiros do mundo, entretanto, possui baixa produtividade quando comparado a outros países. Desta forma, faz-se necessário um trabalho de melhoramento do nosso rebanho, sendo fundamental a utilização de touros testados (ou provados), que são aqueles submetidos a um teste de progênie (SANTOS & CORRÊA, 2000). Estas provas são realizadas pelo Comitê Internacional *Interbull*, o qual foi criado a partir da idéia de se ter uma prova unificada dos touros nos diversos países onde se tem esse processo e, para possibilitar a comparação das provas, as mesmas estão disponíveis no *website Dairy Bulls* (DAIRY BULLS, 2008).

Entre as características presentes nas provas estão as de classificação linear, cujo uso como critério de seleção tem como objetivo a escolha de animais que demonstrem através de seu fenótipo a capacidade para produção e reprodução. Dentre estas, as relacionadas ao úbere são fundamentais, pois tem grande importância para a sanidade do úbere, além de serem indicativas de produtividade e facilidade de ordenha (FREITAS et al., 2002).

Assim, este estudo teve como objetivo a análise da distribuição das características lineares altura de úbere posterior, largura de úbere posterior, ligamento de úbere anterior, profundidade de úbere e ligamento central dos touros leiteiros das raças Holandês e Jersey disponibilizados pelas empresas comercializadoras de sêmen no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Os registros dos touros com sêmen disponível no Brasil foram localizados nos *websites* das empresas comercializadoras de sêmen de bovinos leiteiros no país. No mês de abril de 2008, foram encontrados 392 touros da raça Holandês e 92 touros da raça Jersey. As provas destes touros foram localizadas no *website Dairy Bulls* (DAIRY BULLS, 2008), utilizando-se a base genética americana de abril de 2008, e tabuladas. As características estudadas foram

altura de úbere posterior, largura de úbere posterior, ligamento de úbere anterior, profundidade de úbere e ligamento central.

A altura de úbere posterior (AUP) é dada pela distância entre a vulva e o ponto onde termina o tecido secretor de leite. Para esta característica, pontuações acima de zero indicam úbere alto, com implantação mais próxima a vulva (SANTOS & CORRÊA, 2000). A observação da largura de úbere posterior (LUP) é realizada na região aonde termina o tecido secretor de leite, e pontuações acima de zero representam úbere largo (SANTOS & CORRÊA, 2000; CROCE, 2007). Para o ligamento de úbere anterior (LUA), valores acima de zero indicam ligamento firme e bem posicionado (CROCE, 2007). A profundidade de úbere (PU) é a distância entre o assoalho do úbere e o solo, e sua pontuação, se igual a zero, indica profundidade intermediária (SANTOS & CORRÊA, 2000; CROCE, 2007). Para o ligamento central (LC), a pontuação superior a zero representa ligamento forte e evidenciado (CROCE, 2007).

As estatísticas descritivas número de observações, média e mediana, bem como o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($P\text{-valor} > 0,05$) para as características estudadas foram calculados por intermédio do pacote estatístico SAS[®] (SAS INSTITUTE, 1999), utilizando-se o procedimento PROC UNIVARIATE. Os registros de touros repetidos e sem informação para as características avaliadas foram removidos previamente às análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para AUP havia registros de 385 touros Holandês e 90 touros Jersey nas provas avaliadas, e a pontuação média para ambas as raças foi positiva para esta característica (1,29 e 1,34 ponto, respectivamente), representando que, em média, os touros avaliados tendem a determinar úberes altos para suas filhas, o que é favorável, pois quanto mais alto o úbere posterior, maior tende a ser o potencial do animal para a produção de leite (SANTOS & CORRÊA, 2000). Para LUP, foram utilizados dados de 385 touros Holandês e 91 touros Jersey, também se obtendo médias positivas nas duas raças avaliadas (1,30 e 1,06 ponto, respectivamente), ou seja, os touros analisados, em sua média, tenderam a incrementar a largura do úbere de suas filhas. Esta condição foi favorável, pois a largura de úbere posterior indica o potencial da vaca para capacidade de produção e armazenagem de leite, preferindo-se

animais com úberes largos (CROCE, 2007). Para LUA foram utilizados dados de 383 touros Holandês e 90 touros Jersey. Para esta característica, ambas as raças apresentaram pontuação média positiva (1,04 e 0,84 ponto, respectivamente) o que indica ligamento de úbere mais firme e bem posicionado (CROCE, 2007), tendo os touros avaliados, portanto, pontuação favorável para esta característica.

Para PU nos touros das duas raças avaliadas, o valor médio foi positivo (0,77 ponto para touros Holandês e 0,62 ponto para touros Jersey), indicando que estes touros tendem a determinar um úbere mais raso em suas filhas. Para esta característica foram analisadas 385 provas de touros Holandês e 90 provas de touros Jersey. Este resultado é desfavorável, pois, para esta característica, espera-se valor igual ou muito próximo a zero, ou seja, intermediário, uma vez que a ocorrência de úberes mais rasos pode representar menor potencial para a produção de leite (CROCE, 2007). Para LC, as médias de pontuação para os touros das raças Holandês e Jersey foram positivas e favoráveis (0,98 e 0,48 ponto, respectivamente), uma vez que pontuação superior a zero representa ligamento forte e bem evidenciado, suportando bem o sistema mamário e auxiliando o úbere a manter-se acima do jarrete (SANTOS & CORRÊA, 2000). Para esta característica foram utilizados registros de 383 provas de touros Holandês e 89 provas de touros Jersey.

As medianas para todas as características estudadas, em ambas as raças, foram positivas, indicando que ao menos metade dos touros avaliados possuiu pontuação positiva para todas estas características. Os valores, em pontos, encontrados para as medianas dos touros da raça Holandês e Jersey foram, respectivamente, para AUP 1,36 e 1,30, LUP 1,31 e 1,10, LUA 0,99 e 0,75, PU 0,83 e 0,70 e para LC 1,07 e 0,50. Esta condição é favorável, exceto para a PU, o que indica que ao menos metade dos touros foi considerada inadequada em relação a esta característica, uma vez que para a mesma se deseja valor igual ou muito próximo a zero (CROCE, 2007).

Quanto ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para as características lineares de úbere foram encontrados os seguintes valores para os touros Holandês e Jersey, respectivamente: para AUP, de 0,34 e 0,63, para LUP, de 0,34 e 0,33, para LUA de 0,22 e 0,14, para PU, de 0,73 e 0,62 e para LC, de 0,06 e 0,12. Nas duas raças estudadas o teste de normalidade de Shapiro-Wilk para todas as características avaliadas apresentou distribuição

normal, ou seja, os valores estiveram simetricamente concentrados em torno da média, validando testes estatísticos baseados neste tipo de distribuição.

Embora a média de pontuação dos touros para a maior parte das características estudadas tenha sido favorável, ressalta-se que foi identificada a presença de touros com pontuação desfavorável para todas elas, exceto para o ligamento de úbere anterior na raça Jersey. Assim, torna-se necessária uma análise criteriosa da prova do touro no momento de sua escolha, de acordo com os objetivos de seleção desejados, além de um constante monitoramento da qualidade genética dos touros disponibilizados no país.

CONCLUSÃO

Os touros disponibilizados no Brasil no período estudado, em sua média, foram capazes de atender aos padrões recomendados para as características lineares altura de úbere posterior, largura de úbere posterior, ligamento de úbere anterior e ligamento central, podendo, assim, com sua utilização, haver o favorecimento dos aspectos produtivos com os quais são relacionadas.

Deve-se ter cautela quanto à escolha dos touros para a característica profundidade de úbere.

Faz-se necessário um monitoramento das provas dos touros disponibilizados no país, evitando-se a utilização de sêmen de animais que não condigam com os padrões preconizados para as características avaliadas, sob pena de haver impactos desfavoráveis na produtividade do rebanho nacional.

REFERÊNCIAS

CROCE, E. D. [2007]. **A escolha do touro como ferramenta para lucratividade em rebanhos leiteiros**. Disponível em: <<http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1540>>. Acesso em: nov. 2008.

DAIRY BULLS. **Dairy Bulls: the internet source for genetic information.** 2008.

Disponível em: <<http://www.dairybulls.com/breeds.asp>>. Acesso em: jun. 2008.

FREITAS, A. F.; TEIXEIRA, N. M.; DURÃES, M. C.; et al. Parâmetros genéticos para características lineares de úbere, escore final de tipo, produção de leite e produção de gordura na raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 5, p. 485-491, 2002.

SANTOS, R.; CORRÊA, A. B. Como são feitos os testes de progênie (provas de touros). In: III SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 2000, Belo Horizonte. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://www.lana.ufba.br/bovinos/melhoramentobovinos_arquivos/testprog.pdf>. Acesso em: set. 2008.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis systems user's guide.** Version 8. Cary: SAS Institute Inc., 1464p, 1999.

EFEITOS DA DIETA DE TRANSIÇÃO COM DIFERENTES PADRÕES ENERGÉTICOS NA SUPERFÍCIE ABSORTIVA RUMINAL DE VACAS LEITEIRAS PERIPARTURIENTES

Tiago da Silva Teófilo¹, Matheus Balduino Moreira², João Chysostomo de Resende Júnior³, Ronaldo Francisco de Lima¹, Gustavo Prado Lenzi², Pedro Paulo Bueno², Thiago Melo França², Tiago Antônio Del Valle², Danilo de Oliveira Rocha Bhering Santoro¹, e João Luiz Pratti Daniel⁴

1. Médico Veterinário, Mestrando em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras

2. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras

3. Médico Veterinário, MSc, DSc, Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras
E-mail: jcrj@ufla.br (autor correspondente)

4. Médico Veterinário, MSc, Doutorando em Ciência Animal e Pastagens, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo

PALAVRAS-CHAVE: Ácidos graxos voláteis, período de transição, ruminante.

ABSTRACT

RUMINAL FERMENTATION CHARACTERISTICS IN PERIPARTURIENT DAIRY COWS FED WITH DIFFERENT ENERGY DENSITIES DURING THE TRANSITION PERIOD

After parturition, dairy cows are fed diets rich in readily fermentable carbohydrates that lead to rapid production of volatile fatty acids (VFA), possibly resulting in ruminal acidosis (RA). This study investigates the effects of transition diet during the last few weeks of pregnancy as regards RA control in dairy cows. Therefore, a total of 4 Holstein cows were randomly allotted to two treatment groups: standard diet (6 weeks prepartum); and low or high nonfiber carbohydrate (NFC) diet (2 weeks postpartum). After parturition, all cows were fed the same diet formulated to withstand the demands of early lactation. Diet with high levels of NFC provided a larger ($p<0,01$) rumen surface area ($10,7\text{m}^2$) for VFA absorption than the low NFC diet (7m^2). Furthermore, ruminal VFA absorption was higher ($p<0,01$) during the postpartum period than in the prepartum period, which is probably related to the high energy density diet. This result indicates that nutritional manipulation of the rumen wall absorption capacity is an important strategy to control RA.

KEYWORDS: Ruminants, transition period, volatile fatty acids

INTRODUÇÃO

O período de transição de uma vaca compreende as três semanas antes do parto e as três semanas após o parto. Esse período é caracterizado por ajustes metabólicos e endócrinos para viabilizar a adaptação orgânica ao parto e à lactação. Distúrbios metabólicos são comuns nesse período e podem dificultar a expressão do potencial produtivo do animal durante a lactação (GRUMMER, 1995).

Vacas leiteiras de alta produção recebem dietas altamente energéticas após o parto. Essas dietas, ricas em carboidratos rapidamente fermentáveis no ruminorretículo, levam à produção de ácidos graxos voláteis em alta velocidade. Se a taxa de produção excede a taxa de remoção (*clearance*) dos AGV no ambiente ruminal, haverá acúmulo desses ácidos na fase fluida, levando a um quadro conhecido como acidose ruminal (BARKER et al., 1995), um dos principais distúrbios metabólicos que ocorre no início da lactação.

A acidose ruminal pode ter efeitos negativos sobre o desempenho e a saúde dos animais, provocando efeitos deletérios sobre a ingestão de alimentos (ELLIOT et al., 1995), a degradação ruminal da fibra (GRANT & MERTENS, 1992), a motilidade do rúmen (CRICHLLOW & CHAPLIN, 1985) e a morfologia da parede ruminal (GABEL et al., 2002).

Uma vez que o maior determinante da extensão da superfície absorptiva ruminal é o tamanho das papilas ruminais (BEHARKA et al., 1998; DANIEL et al., 2006) que pode ser diretamente influenciado pela dieta (SUTTON et al., 1963), este trabalho teve o objetivo de definir se a dieta de transição, fornecida nas últimas semanas de gestação, contribui efetivamente para o controle da acidose ruminal em vacas leiteiras, através da extensão da superfície absorptiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas quatro vacas Holandesas, de alta produção, com cânula no saco dorsal do rúmen, alocadas em dois tratamentos em um delineamento em blocos casualizados. Foram dois blocos de duas vacas, definidos por data prevista de parto. Seis semanas antes do parto esperado, as vacas tiveram sua lactação anterior encerrada, foram alojadas em um *Tie Stall* com cama de areia e submetidas a uma dieta de padronização, de acordo com as necessidades previstas pelo NRC (2001), que foi composta por silagem de milho, uréia e premix mineral-vitamínico e água, *ad libitum*. Quatro semanas antes do parto esperado foram submetidas aos tratamentos que consistiram de variação da proporção FDN:CNF da dieta. Após o parto, todas as vacas receberam a mesma dieta formulada conforme preconização do NRC (2001), para suportar alta lactação.

Foram realizadas biópsias nas semanas seis, quatro, duas e uma antes do parto e aos dois dias, duas, quatro, seis e oito semanas pós-parto. O fragmento de aproximadamente 3cm² foi coletado, do saco ventral do rúmen destinado às mensurações macroscópicas, preservado em solução tampão fosfato até as mensurações, segundo metodologia descrita por DANIEL et al. (2006) e RESENDE JÚNIOR et al. (2006). Foi realizada a contagem do número de papilas ruminais presentes no fragmento. Posteriormente, as papilas ruminais foram seccionadas na base por meio de uma lâmina de bisturi e suas imagens foram digitalizadas através de um scanner, sendo suas áreas estimadas por meio do programa de análise de imagens UTHSCSA Image Tool (software livre). A área da superfície do fragmento foi determinada, conforme metodologia descrita por DANIEL et al. (2006) e a superfície total do ruminorretículo foi estimada pelas equações de regressão propostas pelos mesmos autores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dieta com alto teor de CNF propiciou maior ($P<0,01$) extensão da superfície absorptiva do rúmen (10,7m²) do que a dieta com baixo teor de CNF (7m²), demonstrando que dieta de transição tem efeito na capacidade de absorção de AGV, a qual tem alta correlação com a superfície absorptiva do rúmen (DIRKSEN, 1984; MELO, 2007), sendo importante no controle da acidose ruminal.

A extensão da superfície absorptiva antes do parto (7,6m²) foi menor ($P<0,01$) do que após o parto (10,2m²), provavelmente refletindo o efeito da dieta lactacional altamente energética, uma vez que, a extensão da superfície absorptiva do ruminorretículo é determinada pela quantidade de energia da dieta, portanto dietas diferentes podem induzir diferentes taxas de produção e *clearance* de AGV, podendo então ter potencial diferenciado para a indução da ARSA (RESENDE JÚNIOR et al., 2006). Isso pode ser explicado devido a um aumento na disponibilização de AGV para as papilas, uma vez que esse é o responsável pela indução do crescimento papilar (SAKATA & TAMATE, 1979).

CONCLUSÃO

O fornecimento de uma dieta com elevado teor de CNF no pré-parto pode ser uma alternativa no controle da acidose ruminal pós-parto em vacas leiteiras de alta produção, por promover um maior desenvolvimento da superfície absorptiva do rúmen evitando o acúmulo de AGV neste compartimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- BARKER, I. K., VAN DREUMEL, A. A.; PALMER. The alimentary system. In: JUBB, K. V. F., KENNEDY P. C. **Pathology of domestic animals**. 4.ed. San Diego: Palmer Academic, v.2, 1995.
- BEHARKA, A. A.; et. Effects of form of the diet on anatomical, microbial, and fermentative development of the rumen of neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 1946-1955, 1998.
- CRICHLOW, E. C.; CHAPLIN, R. K. Ruminal lact acidosis: Relationship of forestomach motility to nondissociated volatile fatty acids levels. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 46, p. 1908-1911, 1985.
- DANIEL, J. L. P.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; CRUZ, F. J. Participação do ruminoretículo e omaso na superfície absorptiva total do proventrículo de bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 688-694, 2006.
- DIRKSEN, G.; LIEBICH, H.G.; BROSI, G.; HAGEMMEISTER, H.; MAYER, E. Morphologie der pansenschleimhaut und fettsäureresorption beim rind-bedeutende faktoren für gesunkheit und leistung. **Zentralblatt für Veterinar Medizin**, Berlin, v. 31, p. 414-430, 1984.
- ELLIOT, J. P.; DRACKLEY, J. K.; FAHEY, G. C.; SHANKS, R. D. Utilization of supplemental fat by dairy cows fed diets varying in content of nonstructural carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, p. 1512-1525, 1995.
- GABEL G.; ASCHENBACH J. R.; MULLER, F. Transfer of energy substrates across the ruminal epithelium: implications and limitations. **Animal Health Research Reviews**, Wallingford, v.3, n. 1, p. 15-30, 2002.
- GRANT, R. J.; MERTENS, D. R. Influence of buffer pH and raw cornstarch addition on *in vitro* fiber digestion kinetics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 2762-2768, 1992.
- GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 2820–2833, 1995.
- MELO, L. Q. **Morfometria ruminal e o efeito do pH e do volume da digesta sobre a absorção de ácidos graxos voláteis**. 2007. 58p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academy of Science, 408 p, 2001.

RESENDE JÚNIOR, J. C.; ALONSO, L. S.; PEREIRA, M. N.; ROCA, M. G.; DUBOC, M. V.; OLIVEIRA, E. C.; MELO, L. Q. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 526-536, 2006b.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Rumen epithelium cell proliferation accelerated by propionate and acetate. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, p. 49-52, 1979.

SUTTON, J. D.; MCGILLIARD, A. D.; JACOBSON, N. L. Functional development of rumen mucosa. I. Absorptive ability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.46, p.426-436, 1963.

POTENCIALIDADES NUTRICIONAIS DE RESÍDUOS DE COURO WET BLUE PARA A ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

Rodrigo Carvalho da Silva¹, João Chrysostomo de Resende Júnior², Ronaldo Francisco de Lima³, Luiz Carlos Alves de Oliveira⁴, João Luiz Pratti. Daniel⁵, Mary Suzan Varaschin²,
Raimundo Vicente de Souza²

1-Médico Veterinário, Mestre em Ciências Veterinária, Universidade Federal de Lavras.

2- Médico Veterinário, doutor, Professor do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras.

3- Medico Veterinário, mestrando em Ciências Veterinária, DMV - Universidade Federal de Lavras (Ufla).

E – mail: ronaldofranciscolima@yahoo.com.br (autor correspondente)

4- Químico, doutor, professor do Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras.

5- Medico veterinário, doutorando Ciências Animal e Pastagem, Esalq.

PALVRAS-CHAVE: Alimento de origem animal, degradabilidade, digestibilidade, meio ambiente.

ABSTRACT

NUTRITIONAL POTENTIALS OF WET BLUE LEATHER RESIDUES IN THE FEEDING OF RUMINANTS

The process of leather tanning produces enormous amount of residues contaminated with chromium, which constitute a serious environmental problem. Although technologies have been developed to remove chromium from these rejects, it is necessary to have an adequate destination for the resultant material with low chromium contents. Brazilian legislation still allow the feeding of ruminants with collagen derived from the leather and skin. Therefore, this study investigates an alternative strategy to minimize environmental contamination by leather residues. The ones found in nature (WB) and those that had the chromium extracted (CE) were compared. Both materials presented 99,7% of DM, but CE CP levels (90,4%) were higher than WB (74,3%). *In situ* ruminal degradability was 63% for CE DM and 65% for CE CP, and WB did not suffer ruminal degradation. Abomasal digestibility of CE DM was 98%, which may indicate that CE is potentially useful in the feeding of non-ruminants. Animal feeding could be a viable alternative for the destination of leather residues generated by tanneries and treated by extraction method, aiming to minimize environmental contamination.

KEYWORDS: Alternative food, chromium, degradability, digestibility, environmental contamination

INTRODUÇÃO

A destinação adequada para os resíduos gerados pelos curtumes tem sido fator de preocupação entre as autoridades ambientais (COPAM, 2003; CONSEMA, 2004). Dentre todas as fases da cadeia produtiva do couro, a etapa de curtimento é a que gera maior quantidade de efluentes e resíduos sólidos. No Brasil, mais de 90% das peles curtidas, são feitas ao cromo (TEIXEIRA et al., 1999; PACHECO, 2005). O couro curtido ao cromo, conhecido como couro *wet blue*, é considerado resíduo classe I, de acordo com a norma NBR 10004. Isso significa que é perigoso ao meio ambiente e aos animais, incluindo o homem. Esses resíduos são constituídos por raspas e aparas, as quais estão contaminadas com cromo, o que o impede um descarte em aterros convencionais e outro tipo de utilização, como na alimentação animal. Foi desenvolvida uma tecnologia (OLIVEIRA, 2004) que recupera o cromo contido nas raspas e aparas, possibilitando a sua reutilização no próprio processo de curtimento e obtém como produto final, um material, composto predominantemente por colágeno, com baixos níveis de cromo. Entretanto, alternativas para aproveitamento desse resíduo devem ser pesquisadas, contribuindo para diminuição do descarte ambiental das indústrias curtidoras.

Devido à particularidade de seu sistema digestório, com câmaras de fermentação microbiana localizadas antes do sítio de digestão química e enzimática e também de absorção de nutrientes, os ruminantes são animais capazes de aproveitar alimentos muitas vezes pobres nutricionalmente para espécies não ruminantes (VAN SOEST, 1994). Em adição, a despeito da proibição do uso de alimentos de origem animal para alimentação de ruminantes no Brasil, o colágeno, derivado exclusivamente de couro e peles, constitui um dos únicos produtos de origem animal permitidos para a alimentação de ruminantes pela instrução normativa Nº 8, de 25 de março de 2004, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Pretendeu-se, com esse trabalho, apontar uma alternativa para a utilização dos resíduos de couro *wet blue*, após extração de cromo, por meio do seu uso na alimentação de ruminantes, caracterizando suas potencialidades nutricionais para essas espécies animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação das características químicas do produto

Essas avaliações, em duplicata, foram efetuadas nas amostras compostas dos resíduos *wet blue* (material curtido ao cromo) e nos resíduos tratados pelo método desenvolvido por OLIVEIRA (2004), para minimização do teor de cromo. A determinação do teor de matéria seca (MS) foi realizada utilizando-se estufa ventilada a 60 °C por 72 horas e

posteriormente estufa a 100 °C por 24 horas. O teor de proteína bruta (PB), a porcentagem de extrato etéreo (EE) e a porcentagem de cinzas foram determinados de acordo com o método da AOAC (1970). A quantidade de carboidratos não fibrosos (CNF) foi estimada por diferença, de acordo com a equação $CNF = 1 - (PB + EE + Cinzas)$, assumindo-se que a quantidade de carboidratos fibrosos fosse desprezível, por se tratar de alimento de origem animal. Para a determinação do perfil de minerais dos materiais foi utilizado espectrofotometria de absorção atômica.

Avaliação da degradabilidade ruminal efetiva

As análises de degradabilidade *in situ* foram realizadas segundo a metodologia descrita por PEREIRA (1997), nas amostras dos resíduos *wet blue*, *in natura*, e dos resíduos tratados, pelo método desenvolvido por OLIVEIRA (2004), para minimização do teor de cromo. Foi utilizada uma amostra composta de cada material, constituída por três subamostras. Os tempos de incubação das sacolas no rúmen do animal foram 0, 12, 24 e 96 horas. Em cada saquinho (failete “poliéster” 9 x 15 cm) foram colocados cinco gramas de amostra seca a 55° C, correspondendo a uma relação de 18,5 mg/cm². Foram utilizadas quatro vacas com cânula no saco dorsal do rúmen. A degradabilidade efetiva (DEF) da matéria seca foi calculada utilizando o modelo matemático: $DEF = A + B * kd / (kd + kp)$, sendo: A: fração A (instantaneamente degradável) assumida como sendo o desaparecimento da amostra nos sacos de poliéster no tempo 0; B: fração B (lentamente degradável) obtida pela equação $B = 100 - (A + C)$; C: fração C (indigestível) obtida do resíduo dos sacos incubados por 96 horas; kd: taxa fracional de degradabilidade da fração B, determinada por regressão linear ao longo dos tempos 0, 12 e 24 horas do logaritmo natural dos resíduos de cada saco após a subtração da fração C; kp: taxa fracional de passagem ruminal, assumida como 4% por hora.

Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SAS (1999), utilizando o seguinte modelo: $Y_{ijk} = \mu + R_i + V_j + e_{ij} + T_k + R * Tik + e_{ijk}$, em que: μ = média geral; R_i = o efeito do material incubado (i = resíduo *in natura*, resíduo tratado); V_j = o efeito do bloco (j = vacas 1, 2, 3 e 4); e_{ij} = erro experimental da parcela ($e_i \sim N(0, \sigma^2)$); T_k = o efeito do tempo de incubação ($k = 0, 12, 24, 96$ h); $R * Tik$ = o efeito da interação; e_{ijk} = o erro experimental da subparcela ($e_i \sim N(0, \sigma^2)$).

Avaliação da digestibilidade abomasal “in vitro”

Foram reproduzidas, *in vitro*, as condições do abomaso, simulando-se o suco gástrico com uma solução de ácido clorídrico (HCl) e pepsina. Incubou-se as amostras por 48 horas a 40°C com 6ml de HCl a 20% e 10 ml de pepsina a 5%. A digestibilidade abomasal foi

calculada pela diferença de peso entre o material incubado e o resíduo ao final da incubação (AOAC, 1970).

Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SAS (1999), utilizando o seguinte modelo: $Y_{ij} = \mu + R_i + e_i$, em que: μ = média geral; R_i = o efeito do material incubado (i = resíduo *in natura*, resíduo tratado); e_i = o erro experimental ($e_i \sim N(0, \sigma^2)$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de MS dos dois tipos de resíduo foi 99,7%. Como era de se esperar, o material *in natura* (WB) apresentou um teor elevado de matéria mineral (10,4% com base na matéria seca (MS)) em comparação ao resíduo de couro com cromo extraído (CE) (0,4% com base na MS), determinado prioritariamente pelo alto teor de cromo.

O processo de extração de cromo (OLIVEIRA et al., 2004) é eficiente uma vez que extrai 99,6% desse elemento do resíduo de couro. O menor porcentual de matéria mineral no resíduo que teve o cromo extraído refletiu em maior porcentual de proteína bruta, indicando ser esse alimento um concentrado protéico com potencial de utilização como tal. O tratamento para a retirada do cromo aumenta o teor de PB e ao mesmo tempo torna o material mais degradável no rúmen e mais digestível no abomaso (98%). A degradabilidade ruminal efetiva (Def) da MS dos materiais testados e da PB diferiu grandemente entre os materiais (0% WB vs 63% CE, $P < 0,001$).

O material WB possui uma estabilidade conferida pelo processo de curtimento, a qual não permite qualquer ação de degradação no ambiente ruminal e esta estabilidade é perdida quando o material passa pelo processo de extração de cromo, como demonstrado por OLIVEIRA (2007). Essa perda de estabilidade é que supostamente aumenta a Def ruminal e a digestibilidade abomasal do CE. Possuindo um alto teor de proteína com alta Def e alta digestibilidade abomasal o material se mostra com potencial para nutrição de ruminantes tendo em vista a capacidade dos mesmos de aproveitar proteína dietética para a síntese de proteína microbiana no rúmen (ARGYLE & BALDWIN, 1989) e também de usarem a própria proteína dietética como fonte de aminoácidos quando esta chega ao abomaso e intestino delgado e possui potencial para sofrer digestão química e enzimática (SATTER, 1986; ROBINSON et al., 1995), como é o caso do subproduto CE. O Material CE possui alto teor de PB com 65% de degradabilidade ruminal e 35% de PND com alta digestibilidade. Quando se compara o material CE com outros subprodutos de origem animal como farinha de penas e farinha de sangue, por exemplo, notamos que todos possuem alto teor protéico (PB), no entanto esses outros subprodutos possuem maior porcentagem de PND, proteína esta com digestibilidade pós-ruminal inferior ao CE.

Mesmo assim, a despeito da sua alta digestibilidade abomasal, o CE provavelmente não seja efetivo na indução do perfil de aminoácidos desejável para vacas de alta lactação uma vez que a proteína é altamente degradável no rúmen, a não ser que sejam desenvolvidas tecnologias que o preserve da degradação ruminal. Nesse caso, a potencialidade de degradação abomasal que foi de 55% para WB e 98% para CE ($p < 0,001$) tornar-se-ia importante. Esse potencial de digestibilidade, superior aos dos outros alimentos de origem animal disponíveis, indica inclusive a possibilidade do aproveitamento desse resíduo, com baixo teor de cromo, na alimentação de animais não ruminantes, como suínos e carnívoros.

Tendo em vista o potencial do material CE para nutrição, tanto de ruminantes quanto de não ruminantes, a utilização do mesmo para a alimentação animal se torna interessante uma vez que se apresenta como uma alternativa para minimização de custos de produção e, ao mesmo tempo, diminui a contaminação ambiental pelos resíduos provenientes das indústrias curtidoras.

CONCLUSÕES

A técnica de extração de cromo do material WB com conseqüente obtenção do material CE torna esse resíduo altamente degradável no rúmen e altamente digestível no abomaso, conferindo-lhe grande potencial nutricional.

O alto teor de PB do material CE indica que o mesmo possa ser utilizado como suplemento protéico na alimentação animal.

A alta digestibilidade abomasal do material CE, aponta um ótimo potencial de utilização deste material na alimentação de animais não ruminantes.

REFERÊNCIAS

ARGYLE, J. L.; BALDWIN, R. L. Effects of amino acids and peptides on rumen microbial growth yields. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, p. 2017-2027, 1989.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - A.O.A.C.. 1970. **Official Methods of Analysis**. 13.ed., Washington, D.C.1094p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. NBR 10004. **Classificação de resíduos sólidos**. Disponível em: <<http://www.abnt.org.br/>>. Acesso em 14 de abril de 2005.

CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE - COMSEMA **Resolução nº 073**. Rio Grande do Sul, 20 de agosto de 2004.

CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL - COPAM. **Deliberação normativa nº. 68**. Minas Gerais, 10 de dezembro, 2003. Disponível

em:<www.faeng.org.br/Content.aspx?Code=31&ParentPath=None;5> Acesso em: 10/02/2007.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA, **instrução normativa Nº 8, 25 de março de 2004**. Disponível em: <http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=6476>, acessado em 14 de abril de 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA, **instrução normativa Nº 25, 06 de abril de 2004**. Disponível em: <http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei?op=viewTextual&codigo=6817>, Acessado em 14 de abril de 2005.

OLIVEIRA, L. C. A.; DALLAGO, R. M.; FILHO, I. N. **Processo de reciclagem dos resíduos sólidos de curtumes por extração do cromo e recuperação do couro descontaminado**. Br PI 001538, 2004.

OLIVEIRA, D. Q. L. **Tratamento de rejeitos sólidos contendo cromo da indústria de couro: Uso em processos de adsorção e como fonte de nitrogênio na agricultura**. 2007. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PACHECO, J. W. F. **Curtumes** / José Wagner Faria Pacheco, São Paulo: CETESB, 2005. 76 p. (Série P + L) Disponível em:<<http://www.cetesb.sp.gov.br>>.ISBN. Acessado em 25/05/2007.

PEREIRA, M. N. **Responses of lacting cows to dietary fiber from alfafa or cereal by products**. 1997. 186p. PhD Thesis - University of Wisconsin, Madison.

ROBINSON P. H.; FREDEEN A. H.; CHALUPA W.; JULIEN W. E.; SATO H.; FUJIEDA; SUZUKI H. Ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 3, p. 582-594, 1995.

SAS User'S guide: statistics, Version 8 (SAS Intitute Inc., Cary, USA, 1999).

SATTER, L. D. Protein supply from undegraded dietary protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, p. 2734-2749, 1986.

TEIXEIRA, R. C.; BASEGIO, T. M.; BERGHMANN, C. P. **Caracterização química de resíduos sólidos de curtume (serragem de couro ao cromo) e sua aplicação como carga em materiais cerâmicos**. In: ENCONTRO NACIONAL DOS QUÍMICOS E TÉCNICOS DA INDÚSTRIA DO COURO, 14., 1999, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 1999. Não paginado.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**, 2.ed. Cornell University Press. 1994.

DISTRIBUIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS DE TOUROS LEITEIROS TESTADOS DAS RAÇAS HOLANDÊS E JERSEY DISPONIBILIZADOS NO BRASIL

Valdirene Zabet¹, Marcio Pereira Soares², Leila de Genova Gaya³, Leandro Homrich
Lorentz⁴, Quêti Di Domenico⁵, Simone Fernanda Nedel Pértile⁵

1. Acadêmica do curso de Zootecnia, Grupo de Pesquisa em Estatística e Melhoramento Genético Aplicados à Produção Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), CEP 89802-200, Chapecó, Santa Catarina, Brasil - E-mail: valdirene@zootecnista.com.br (autor correspondente)
2. Médico Veterinário, MSc, Professor do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina
3. Médica Veterinária, MSc, PhD, Professora do curso de Engenharia de Biossistemas, Universidade Federal de São João del-Rei
4. Engenheiro Agrônomo, MSc, PhD, Professor do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina
5. Acadêmica do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos de leite, inseminação artificial, melhoramento genético, provas de touros, teste de progênie

ABSTRACT

PRODUCTIVE TRAITS OF HOLSTEIN AND JERSEY PROGENY TEST BULLS AVAILABLE IN BRAZIL

This study investigates the distribution of milk, fat and protein production, and somatic cell scores of Holstein and Jersey dairy bulls provided by semen companies in Brazil. Data from the animals were located in the websites of these companies, and their proofs were found in the American April 2008 database. A test of normality and descriptive statistics for all traits were performed. Average values were favorable for all traits, except for fat levels of Holstein bulls, and protein levels in both breeds. Therefore, caution is needed when selecting bulls for reproduction as regards these traits, especially if an increase of solid contents of milk is desired. The bulls available during the research period generally attended the improved requirements for cattle milk production in Brazil. However, monitoring of bull proofs is necessary and the use of bulls lacking genetic superiority for the desired traits should be avoided.

KEYWORDS: Animal breeding, artificial insemination, bull proofs, dairy cattle, progeny test

INTRODUÇÃO

O melhoramento genético é um instrumento indispensável para a obtenção de animais geneticamente superiores em um rebanho. Em bovinos leiteiros, programas de seleção eficientes alicerçam-se na utilização de sêmen de touros provados, que são aqueles submetidos a um teste de progênie (SANTOS & CORRÊA, 2000). Estas provas são realizadas pelo Comitê Internacional *Interbull* e são disponibilizadas no *site Dairy Bulls* (DAIRY BULLS, 2008).

Dentre as características que compõem estas provas, estão as relacionadas ao leite, que têm como objetivo fornecer subsídios para a seleção de animais com capacidade de elevar a produção de leite e sólidos (BOBE et al., 2007), bem como reduzir o escore de células somáticas de suas filhas. A seleção para estas características torna-se essencial para diminuir significativamente os riscos relacionados à seleção pelo aspecto morfológico e possibilita a previsão de ganhos produtivos.

Assim, este estudo teve como objetivo a análise da distribuição das características produção de leite, produção de gordura e de proteína, em libras, porcentagem de gordura, porcentagem de proteína e escore de células somáticas dos touros leiteiros das raças Holandês e Jersey disponibilizados pelas empresas comercializadoras de sêmen no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Os touros com sêmen disponível no Brasil foram localizados nos *sites* das empresas comercializadoras de sêmen de touros leiteiros no país. Foram encontrados 484 touros, sendo 392 da raça Holandês e 92 da raça Jersey, no mês de abril de 2008. As provas destes touros foram localizadas no *site Dairy Bulls* (DAIRY BULLS, 2008), usando como padrão a base genética americana de abril de 2008, e tabuladas. As características avaliadas foram produção de leite, de gordura e de proteína, em libras, porcentagem de gordura, porcentagem de proteína e escore de células somáticas.

Os valores atribuídos para produção de leite, produção de gordura e de proteína, em libras, porcentagem de gordura e porcentagem de proteína aos touros avaliados correspondem às suas PTAs para estas características, cujo termo vem das iniciais das palavras da língua inglesa *Predicted Transmitting Ability*, que significam habilidade predita de transmissão e representa o mérito genético de suas filhas em relação à média de todo o rebanho (BOBE *et al.*, 2007).

Para o escore de células somáticas, atribuem-se valores aos touros de acordo com o número de células somáticas por microlitro de leite de suas filhas. Em uma contagem de 50 células por microlitro, por exemplo, o escore será convertido para 2, enquanto que para uma contagem de 200 células por microlitro, o escore será convertido para 4 (SANTOS & CORRÊA, 2000). Valores de escore de células somáticas inferiores a 3,1 representam pouca contagem de células somáticas (ALTA GENETICS, 2008).

As estatísticas descritivas número de observações, média, mediana, desvio-padrão, valores mínimo e máximo e assimetria, bem como o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($P\text{-valor} > 0,05$) para as características estudadas foram calculados por intermédio do pacote estatístico SAS[®] (SAS INSTITUTE, 1999), utilizando-se o procedimento PROC UNIVARIATE.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os touros das raças Holandês e Jersey estudados, os valores médios das PTAs para a produção de leite (976,0 e 650,87 libras, respectivamente), gordura (28,07 e 30,54 libras, respectivamente) e proteína (28,00 e 22,00 libras, respectivamente), foram positivos, indicando que os touros avaliados foram capazes de determinar aumento na produção destas características em suas filhas. Em relação à porcentagem de gordura, os touros da raça Jersey avaliados apresentaram PTA média de 0,01%, sendo, portanto, capazes de incrementar esta característica. Contudo, os touros da raça Holandês tenderam a reduzir a porcentagem de gordura do leite de suas filhas, uma vez que a média de PTA para esta característica nesta raça foi de -0,02%. Em ambas as raças, os touros avaliados apresentaram média de suas PTAs igual a zero para porcentagem de proteína do leite, não sendo, portanto, em média, capazes de interferir nesta característica. Uma vez que o mercado brasileiro tende a valorizar o volume de

leite produzido, o resultado obtido foi favorável para o aumento da produção de leite do rebanho e, conseqüentemente, da sua produção, em libras, de gordura e proteína. No entanto, caso os objetivos de seleção sejam o acréscimo simultâneo da produção de leite e de seus sólidos, deve-se estar atento quanto à escolha de touros para as porcentagens de gordura e de proteína. Quanto maior o volume de leite produzido, menor tende a ser seu teor de sólidos, em porcentagem (BOBE et al., 2007) e, em média, os resultados obtidos para os touros avaliados foram desfavoráveis para o incremento destas porcentagens, à exceção da porcentagem de gordura para os touros da raça Jersey. Neste caso, touros com PTAs positivas para todas as características desejadas devem ser selecionados.

A média das PTAs dos touros Holandês e Jersey para o escore de células somáticas (ambas com valor de 2,98) esteve abaixo do valor máximo preconizado, de 3,1 (ALTA GENETICS, 2008), sendo, portanto, favorável para a qualidade do leite e a sanidade das filhas dos touros avaliados, uma vez que, quanto menor o valor de um touro para este escore, menores são as chances de suas filhas serem susceptíveis à mastite (SANTOS & CORRÊA, 2000).

As medianas para as PTAs nas raças Holandês e Jersey para produção de leite (952,00 e 625,00 libras, respectivamente), gordura (28,00 e 33,00 libras, respectivamente) e proteína (28,00 e 24,50 libras, respectivamente) foram positivas, indicando que ao menos metade dos touros possuiu valores positivos para estas características, da mesma forma que para a porcentagem de gordura na raça Jersey, cuja mediana foi de 0,02%. As medianas obtidas para as PTAs de porcentagem de gordura na raça Holandês (-0,04%) e porcentagem de proteína (-0,01%) em ambas as raças foram negativas, ou seja, ao menos metade dos touros apresentou valores negativos para estas características.

As características avaliadas que apresentaram distribuição normal, segundo o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, foram escore de células somáticas, para ambas as raças estudadas, produção de gordura em libras para a raça Holandês, e porcentagem de gordura para a raça Jersey, ou seja, seus valores foram simetricamente distribuídos em torno da média. As demais características estudadas não apresentaram distribuição normal, procedendo-se a análise de sua assimetria.

Para a porcentagem de gordura na raça Holandês, e para a porcentagem de proteína na raça Jersey, a assimetria foi positiva, indicando que os registros dos touros para estas características foram, em sua maioria, menores do que suas médias. Já para as características produção de leite e de proteína, em libras, e porcentagem de proteína, na raça Holandês, a assimetria obtida foi negativa, indicando que os registros dos touros foram, em sua maioria, maiores do que suas médias, assim como para produção de leite, gordura e proteína, em libras, na raça Jersey.

Foram encontrados animais com valores indesejáveis para todas as características estudadas, devendo-se analisar com rigor as provas dos touros a serem utilizados, de acordo com os objetivos de seleção pretendidos, evitando-se assim prejuízos para características importantes relacionadas à produção dos animais.

CONCLUSÕES

Os touros das raças Holandês e Jersey disponibilizados no Brasil, no período estudado, foram capazes, em sua média, de incrementar a produção de leite, proteína e gordura, em libras, de suas filhas, assim como os touros da raça Jersey para a característica porcentagem de gordura, favorecendo, portanto a produção do rebanho nacional. Da mesma forma, em ambas as raças avaliadas, os touros apresentaram, em média, escores de células somáticas favoráveis à produção e à sanidade do rebanho.

É necessário cautela na escolha dos touros Holandês quanto à porcentagem de gordura, bem como quanto à porcentagem de proteína, em ambas as raças, caso se deseje aumentar o teor de sólidos do leite.

Um monitoramento constante das provas dos touros disponíveis no mercado é essencial para o alcance dos objetivos de seleção nos programas de melhoramento de bovinos leiteiros, devendo-se evitar a utilização de touros com mérito genético desfavorável para as características desejadas.

REFERÊNCIAS

ALTA GENETICS. [2008]. **Interpretando provas americanas**. Disponível em: <<http://www.altagenetics.com.br/catalogos/CatalogoLeiteImportadoAgo2008.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2008.

BOBE, G.; LINDBERG, G.L.; FREEMAN, A.E. Composition of milk and Milk fatty acids is stable for cows differing in genetic merit for milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 8, p. 3955-3960, 2007.

DAIRY BULLS. **Dairy Bulls: the internet source for genetic information**. Disponível em: <<http://www.dairybulls.com/breeds.asp>>. Acesso em: 20 mar. 2009.

SANTOS, R.; CORRÊA, A. B. [2000]. Como são feitos os testes de progênie. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 3., 2000, Belo Horizonte. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://www.lana.ufba.br/bovinos/melhoramentobovinos_arquivos/testprog.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2009.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis systems user's guide**. Version 8. Cary: SAS Institute Inc., 1999. 1464p.

DISTRIBUIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS DE MANEJO DOS TOUROS LEITEIROS TESTADOS DAS RAÇAS HOLANDÊS E JERSEY DISPONIBILIZADOS NO BRASIL

Valdirene Zabet¹, Quêti Di Domenico², Marcio Pereira Soares³, Leila de Genova Gaya⁴,
Leandro Homrich Lorentz⁵, Gregori Alberto Rovadoscki²

1. Acadêmica do curso de Zootecnia, Grupo de Pesquisa em Estatística e Melhoramento Genético Aplicados à Produção Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), CEP 89802-200, Chapecó, Santa Catarina, Brasil - E-mail: valdirene@zootecnista.com.br (Autor correspondente)

2. Acadêmico do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina

3. Médico Veterinário, MSc, Professor do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina

4. Médica Veterinária, MSc, PhD, Professora do curso de Engenharia de Biosistemas, Universidade Federal de São João del-Rei

5. Engenheiro Agrônomo, MSc, PhD, Professor do curso de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina

PALAVRAS-CHAVE: Bovinos de leite, inseminação artificial, melhoramento genético, provas de touros, teste de progênie

ABSTRACT

MANAGEMENT TRAITS OF HOLSTEIN AND JERSEY PROGENY TEST BULLS AVAILABLE IN BRAZIL

This study investigates the distribution of management traits, such as calving ease, maternal calving ease, productive life, and daughter pregnancy rate of Holstein and Jersey dairy bulls provided by semen companies in Brazil. Data from 392 Holstein and 92 Jersey bulls were located in the websites of these companies, and their proofs were found in the American April 2008 database. A test of normality and descriptive statistics for all traits were performed. Average values were favorable for all traits. Therefore, the bulls available during the research period fit standard recommendations for these traits. However, the monitoring of bull proofs is necessary and the use of bulls that lack such standards should be avoided in order to prevent unfavorable effects on the productivity of dairy cattle.

KEYWORDS: Animal breeding, artificial insemination, bull proofs, dairy cattle, progeny test

INTRODUÇÃO

A produtividade dos bovinos leiteiros no Brasil pode ser aumentada por intermédio de vários fatores, entre eles o melhoramento genético. A inseminação artificial é uma das estratégias indicadas para a realização do melhoramento de um rebanho, sendo, para isto, fundamental a utilização de sêmen de touros testados (ou provados), que são aqueles submetidos a um teste de progênie (SANTOS & CORRÊA, 2000).

As centrais de sêmen têm seus touros registrados no Comitê Internacional *Interbull* (*International Bull Evaluation Service*), o qual avalia o material genético de touros de diferentes países, para diversas características. As provas dos touros testados são disponibilizadas no *website Dairy Bulls* (DAIRY BULLS, 2008). Dentre as características presentes nestas provas, as referentes ao manejo são de fundamental importância para o melhoramento do rebanho, podendo otimizar o sistema de criação e favorecer os aspectos reprodutivos e produtivos dos animais (LEITE et al., 2001).

Desta forma, este trabalho teve como objetivo a análise da distribuição das características de manejo facilidade de parto, facilidade de parto materna, vida produtiva e índice de prenhez das filhas dos touros leiteiros das raças Holandês e Jersey disponibilizados pelas empresas comercializadoras de sêmen no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Os registros dos touros utilizados para inseminação artificial no Brasil foram localizados nos *websites* das empresas comercializadoras de sêmen no país. No mês de abril de 2008, foram encontrados no total 484 touros, dos quais 392 da raça Holandês e 92 da raça Jersey. Posteriormente, realizou-se a busca pelas provas destes touros no *website Dairy Bulls* (DAIRY BULLS, 2008), utilizando-se a base de dados americana disponibilizada pelo *Interbull* em abril de 2008. As provas foram então tabuladas para a montagem de um banco de dados. Para os touros da raça Holandês, as características de manejo estudadas foram facilidade de parto, facilidade de parto materna, vida produtiva e índice de prenhez das filhas.

Para a raça Jersey, foram analisadas apenas as características vida produtiva e índice de prenhez das filhas, pois as demais não são avaliadas para os touros desta raça.

A facilidade de parto indica qual a porcentagem de partos difíceis, ou assistidos, estimados para as novilhas filhas de um touro (ALTA GENETICS, 2008). Já a facilidade de parto materna corresponde à porcentagem de novilhas que tiveram partos difíceis ou assistidos quando pariram filhos do touro avaliado. Para ambas, segundo o mesmo autor, valores menores que 8% representam pouca possibilidade de ocorrência de partos difíceis ou assistidos.

A vida produtiva corresponde à quantidade, em meses, a mais ou a menos, que as filhas de um touro permanecem produzindo leite, nos sete anos iniciais, em comparação ao valor médio de longevidade dos touros avaliados, com limite de 10 meses para cada lactação De acordo com (SANTOS & CORRÊA, 2000; ALTA GENETICS, 2008). Quanto maior a pontuação para esta característica, segundo os mesmos autores, maior a vida produtiva das filhas do touro.

O índice de prenhez das filhas do touro corresponde ao percentual de vacas não prenhes inseminadas durante cada período de 21 dias, referindo-se, portanto, à eficiência reprodutiva do rebanho (SEMEIA GENÉTICA, 2005). Neste sentido, índices de prenhez mais baixos representam um menor número de vacas não prenhes.

As estatísticas descritivas número de observações, média, mediana, desvio-padrão, assimetria e valores mínimo e máximo, bem como o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($P\text{-valor} > 0,05$), para as características estudadas, foram calculadas por intermédio do pacote estatístico SAS[®] (SAS INSTITUTE, 1999), utilizando-se o procedimento PROC UNIVARIATE. Os registros de touros repetidos e sem informação para as características avaliadas foram removidos previamente às análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de animais com registro da raça Holandês, avaliados para as características facilidade de parto e facilidade de parto materna foi de 392. Já para as características vida produtiva e índice de prenhez das filhas foram avaliados 376 animais desta raça. Para a raça

Jersey foram avaliados 88 animais com registro para a característica vida produtiva e 86 animais para a característica índice de prenhez das filhas.

Para as características facilidade de parto e facilidade de parto materna, as médias encontradas para os touros da raça Holandês foram de 7,83% e de 7,61%, respectivamente, abaixo do valor preconizado, de 8% (ALTA GENETICS, 2008). Isso caracteriza, em média, touros que não produzirão grandes bezerros ao nascimento, diminuindo a probabilidade de dificuldade de parto das vacas e de suas filhas.

Os touros das raças Holandês e Jersey utilizados para inseminação artificial no Brasil apresentaram, em média, valor positivo para a característica vida produtiva (0,35 meses para Holandês e 1,14 meses para Jersey). Quanto maior a pontuação para esta característica, maior a permanência das filhas dos touros no rebanho (SANTOS & CORRÊA, 2000), ou seja, este resultado foi favorável para o incremento desta característica, especialmente para os touros da raça Jersey.

Em média, os touros das raças Holandês e Jersey apresentaram índice de prenhez das filhas com valor negativo (-0,92% e de -0,52%, respectivamente), sendo capazes, portanto, de trazer incremento à eficiência reprodutiva do rebanho no que diz respeito a esta característica, pois quanto mais baixo este valor, melhor o índice de prenhez das filhas do touro (SEMEIA GENÉTICA, 2005).

Com base nas medianas obtidas para as características facilidade de parto e facilidade de parto materna na raça Holandês, ambas de 8,0%, observou-se que ao menos metade dos touros desta raça estudados apresentou valores favoráveis para estas características. Todavia, metade dos touros apresentou valor acima do recomendado, de 8%, devendo-se assim estar atento à escolha do touro quanto a esta característica. Para a vida produtiva, tendo em vista as medianas de 0,40 meses para a raça Holandês e de 1,15 meses para a raça Jersey obtidas para esta característica, ao menos metade dos touros analisados apresentou valores positivos e, portanto, favoráveis, para ambas as raças. Em relação ao índice de prenhez das filhas, ao menos metade dos touros possuíam valor negativo, em ambas as raças, tendo em vista suas medianas (-1,0% e -0,50% para Holandês e Jersey, respectivamente), o que é favorável para esta característica.

De acordo com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, a característica vida produtiva apresentou distribuição normal para ambas as raças, o que significa que seus valores foram simetricamente distribuídos em torno da média, validando testes estatísticos baseados neste tipo de distribuição. Em relação às demais características, ainda de acordo com este teste, houve um desvio da curva normal, partindo-se para o estudo de sua assimetria.

Para os touros da raça Holandês, as características facilidade de parto, facilidade de parto materna índice de prenhez das filhas apresentaram assimetria positiva, indicando que os registros dos touros, para estas características, foram, em sua maioria, menores do que a média destas características. Para a característica índice de prenhez das filhas para os touros Jersey, a assimetria encontrada foi negativa, indicando que os registros dos touros foram, em sua maioria, maiores do que a média encontrada para esta característica.

Para todas as características estudadas, foram encontrados animais com pontuações indesejáveis, devendo-se analisar com rigor as provas dos touros a serem utilizados, de acordo com os objetivos de seleção pretendidos, evitando-se assim prejuízos para características importantes relacionadas à produção e à longevidade dos animais.

CONCLUSÃO

Os touros disponibilizados pelas empresas comercializadoras de sêmen no Brasil, em sua média, na base de dados analisada, foram capazes de atender aos padrões recomendados para todas as características de manejo avaliadas, podendo, assim, com sua utilização, otimizar os aspectos produtivos dos animais relacionados a estas características.

No sentido de se evitar efeitos desfavoráveis na produtividade do rebanho nacional, faz-se necessária a avaliação criteriosa dos touros a serem utilizados, bem como um monitoramento de suas provas, evitando-se a utilização de sêmen de animais que não estejam dentro dos padrões preconizados.

REFERÊNCIAS

ALTA GENETICS. [2008]. **Interpretando provas americanas**. Disponível em: <<http://www.altagenetics.com.br/catalogos/CatalogoLeiteImportadoAgo2008.pdf>>. Acesso em: mar. 2008.

DAIRY BULLS. [2008]. **Dairy Bulls: the internet source for genetic information**. Disponível em: <<http://www.dairybulls.com/breeds.asp>>. Acesso em: jun. 2008.

LEITE, T. E.; MORAES, J. C. F.; PIMENTEL, C. A. Eficiência produtiva e reprodutiva em vacas leiteiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 467-472, 2001.

SANTOS, R.; CORRÊA, A. B. [2000]. Como são feitos os testes de progênie (provas de touros). In: SIMPÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL, 3., 2000, Belo Horizonte. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://www.lana.ufba.br/bovinos/melhoramentobovinos_arquivos/testprog.pdf>. Acesso em: set. 2008.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis systems user's guide**. Version 8. Cary: SAS Institute Inc., 1999. 1464p.

SEMEIA GENÉTICA. [2005]. **Mudanças na base genética 2005**. Disponível em: <http://www.semeia.com.br/treinamento/artigos/mudancas%20na%20base%20genetica_2005.htm>. Acesso em: mar. 2008.

POTENCIAL ALCALINIZANTE DA SOLUÇÃO DE RINGER COM LACTATO EM OVELHAS SADIAS

Júlio Augusto Naylor Lisboa¹, Fernanda Tamara N. M. A. Romão², Ronaldo de Sousa e Silva², Renata Caminha Gomes², Karina Keller M. C. Flaiban³, Décio Sabbatini Barbosa⁴, Mara Regina Stipp Balarin⁵

1. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Clínicas Veterinárias (DCV), Universidade Estadual de Londrina (UEL) - E-mail: janlisboa@uel.br (autor para correspondência)
2. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, bolsista de Iniciação Científica, Universidade Estadual de Londrina
3. Médico Veterinário, mestre, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina
4. Farmacêutico, doutor, professor do Curso de Medicina, Universidade Estadual de Londrina
5. Médico Veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina

PALAVRAS-CHAVE: Ovino, equilíbrio ácido-básico, lactato de sódio, solução intravenosa.

ABSTRACT

ALKALINIZING POWER OF LACTATED RINGER'S SOLUTION IN HEALTHY EWES

The alkalinizing power of Lactated Ringer's Solution (LRS) was searched in this work. Six crossbred healthy ewes, nonpregnant and nonlactating, weighting approximately 40 kg, received 4 L of LRS by 4 hours continuous intravenous infusion at a rate of 25 mL/kg/h. The venous blood samples were obtained before the infusion (0 hours), during the infusion (2 hours), at the end of the infusion (4 hours), and 2 hours after the end of the infusion (6 hours). Values of pH, pCO₂, HCO₃⁻, TCO₂, BE, Na⁺, K⁺, Cl⁻ and lactate L were determined. The LRS induced mild increase in the alkali reserve confirming its low magnitude alkalinizing power, as a result of the small sodium lactate concentration present in the solution.

KEY WORDS: Sheep, acid-base balance, sodium lactate, intravenous solution.

INTRODUÇÃO

A solução de Ringer com lactato (RL) é, seguramente, o fluido mais empregado por via parenteral tanto na medicina humana quanto na veterinária. É a única solução poliiônica balanceada disponível no Brasil com capacidade alcalinizante, ou seja, indicada para o tratamento dos estados de acidose metabólica. Possui em sua composição o lactato de sódio, um precursor de bases que pode ser metabolizado por reações oxidativas ou pela via neoglicogênica, processos que acabam por remover íons hidrogênio (H^+) do fluido extracelular causando elevação do pH (KASARI, 1999). Veicula também uma maior variedade de eletrólitos quando comparada a outras soluções como o sódio, cloreto, potássio e o cálcio, sendo por isso empregada no tratamento dos desequilíbrios hídrico e eletrolítico que se apresentam em diferentes enfermidades (CONSTABLE, 2003).

Apesar da utilização rotineira no tratamento de várias doenças em animais de grande porte, o potencial alcalinizante da solução de RL não foi consistentemente estudado nessas espécies. Em garrotes portadores de acidose láctica ruminal aguda, pode-se comprovar que a correção da acidose metabólica foi insuficiente (MENDES NETTO & ORTOLANI, 2000). A elevação da reserva alcalina observada em bezerros sadios foi igualmente muito reduzida (LISBÔA et al., 2007a). Tais evidências reafirmam a necessidade da realização de estudos que investiguem a capacidade verdadeira de alcalinização da solução de RL nas diferentes espécies animais e em condições distintas de equilíbrio ou de desequilíbrio ácido-básico. O presente estudo teve como objetivo pesquisar os efeitos da solução de RL sobre os equilíbrios eletrolítico e ácido-básico de ovinos adultos sadios.

MATERIAL E MÉTODOS

A solução de RL empregada era composta por: 130 mEq/L de sódio, 109 mEq/L de cloreto, 4 mEq/L de potássio, 3 mEq/L de cálcio e 28 mEq/L de lactato, com osmolaridade de 275 mOsm/L. Foram utilizadas 6 ovelhas mestiças aparentemente sadias, não gestantes e não lactantes, com aproximadamente 40 kg de peso vivo, pertencentes ao rebanho do Hospital Veterinário da UEL. As ovelhas eram alimentadas regularmente com feno de capim Coast-cross e silagem de sorgo. A solução de RL foi infundida por via intravenosa em cada uma das ovelhas a uma velocidade de 25mL/kg/h totalizando 4L em 4 horas de administração contínua.

Amostras de sangue venoso foram colhidas, imediatamente antes de iniciar a infusão e após 2h (metade do volume), 4h (término da infusão) e 6h (2 horas após o término da infusão). A amostra destinada ao exame hemogasométrico foi colhida utilizando-se seringa de 3mL contendo aproximadamente 400 UI de heparina sódica. As outras duas amostras foram colhidas empregando-se frascos a vácuo contendo fluoreto de sódio para a obtenção do plasma; e frascos a vácuo sem anticoagulante para a obtenção do soro.

As determinações de pH, $p\text{CO}_2$, HCO_3^- , $t\text{CO}_2$ e BE no sangue foram realizadas em analisador de gases sanguíneos (Omni C; Roche). As concentrações séricas de Na^+ , K^+ e Cl^- foram determinadas pelo método de eletrodo íon seletivo (Dimension Clinical Chemistry System; Dade Behring). Para a mensuração da concentração do lactato L no plasma, empregou-se o método enzimático utilizando reagente comercial (Bioclin) e espectrofotometria (Bioplus 2000).

A análise de variância de medidas repetidas foi empregada para testar o efeito da solução sobre os equilíbrios eletrolítico e ácido-básico, admitindo-se uma probabilidade de erro de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A solução de Ringer com lactato (RL) não provocou modificações muito consistentes no equilíbrio ácido-básico das ovelhas sadias. Mesmo tendo sido administrada em um volume correspondente a 10% do peso vivo, causou um incremento leve na reserva alcalina, o que pode ser demonstrado pela pequena elevação unicamente dos valores de HCO_3^- ($21,93 \pm 3,81$ mmol/L no início e $25,01 \pm 2,15$ mmol/L ao término da infusão) e de $t\text{CO}_2$ ($23,10 \pm 3,93$ mmol/L no início e $26,26 \pm 2,19$ mmol/L ao término da infusão). As elevações aparentes dos valores do pH sanguíneo ($7,381 \pm 0,03$ no início e $7,403 \pm 0,02$ ao término da infusão) e do BE ($-2,81 \pm 3,87$ mmol/L no início e $0,23^a \pm 2,29$ mmol/L ao término da infusão) não foram significativas.

O incremento da reserva alcalina comprova que a solução de RL possui realmente potencial alcalinizante, porém de pequena magnitude na espécie estudada. Esse fato reforça evidências anteriores em bezerros sadios (LISBÔA et al., 2007a). E mesmo em situação de desequilíbrio, a solução de RL não produziu efeito alcalinizante muito intenso, seja em garrotes portadores de acidose láctica (MENDES NETTO & ORTOLANI, 2000), seja em cães desidratados (RIBEIRO FILHO et al., 2008).

O volume infundido correspondente a 10% do peso vivo foi escolhido imaginando-se a possibilidade de correção de um estado de desidratação moderada a grave. A velocidade de

infusão foi compatível com a indicada para a administração de todo o volume de reposição necessário de forma rápida em um tratamento. As ovelhas estudadas receberam, portanto, um volume total da solução de RL maior do que aqueles infundidos em bovinos (MENDES NETTO & ORTOLANI, 2000) e em cães (RIBEIRO FILHO et al., 2008). E mesmo assim, a alcalinização observada por esses autores foi ligeiramente superior à obtida no presente trabalho.

O lactato de sódio utilizado como matéria prima na solução de RL pode ter duas origens: fermentação bacteriana em que há um predomínio do isômero L do lactato ou origem sintética considerada mistura racêmica, com quantidades equivalentes dos isômeros D e L do lactato (BRASIL, 1997). Na América do Norte, o lactato é provavelmente de origem sintética, pois as soluções de RL são misturas racêmicas (KASARI, 1999; CONSTABLE, 2003). Isso se traduz num potencial alcalinizante reduzido, porque no organismo dos mamíferos enquanto os sistemas enzimáticos metabolizam os isômeros L com facilidade e rapidez, o lactato D não é metabolizado ou é muito lentamente (NAYLOR & FORSYTH, 1986). Essa limitação da eficiência terapêutica da solução de RL não pode ser admitida como verdadeira no Brasil e não serve de explicação para os resultados observados no presente trabalho. As soluções de RL produzidas no país apresentam em sua composição cerca de 90% do isômero L (LISBÔA et al., 2007b).

O que determina o efeito alcalinizante baixo da solução de RL é, de fato, a concentração reduzida do lactato na solução (28 mEq/L). Soluções com concentrações maiores de lactato de sódio (150 mEq/L) são capazes de produzir efeitos alcalinizantes muito maiores e equivalentes aos de uma solução contendo bicarbonato de sódio, em bezerros sadios e diarreicos com acidose metabólica (NAYLOR & FORSYTH, 1986), e em garrotes sadios (LEAL et al., 2007a) ou portadores de acidose láctica (LEAL et al., 2007b).

Os 112 mEq/L de lactato infundidos produziram um acréscimo de 3,04 mmol/L no BE e 3,08 mmol/L na concentração de HCO_3^- , o que significa que 1 litro da solução de RL produziu aumento de somente 0,76 mmol/L no BE e 0,77 mmol/L na concentração de HCO_3^- . Considerando-se que o volume de distribuição para o bicarbonato seja de aproximadamente 50% do peso vivo em ovelhas, e considerando o peso vivo médio das ovelhas estudadas (42 kg), pode-se calcular uma projeção teórica de que 1 litro dessa solução deveria elevar o HCO_3^- em 1,33 mmol/L. A alcalinização observada ficou abaixo da teoricamente esperada, o que pode indicar que nem todo o lactato infundido tenha sido completamente metabolizado.

Supondo-se uma situação de acidose metabólica de grau moderado (BE de -10 mmol/L), e utilizando-se os resultados obtidos, seria necessário infundir aproximadamente 13 L da solução de RL para corrigir esse grau de acidose, volume que corresponde a aproximadamente a 31% do peso vivo da ovelha. Sendo 5,0 L o volume necessário para a correção de uma desidratação grave (12% do peso vivo), e 2,1 L o volume de manutenção em 24 horas (50ml/kg/dia), o valor apontado de 13 L excede a soma dos volumes de manutenção e de reposição necessário para corrigir uma desidratação grave. A solução de RL não é eficiente, portanto, para a correção rápida da acidose metabólica.

Os eletrólitos estudados e o lactato L também não se modificaram, indicando que a solução de RL não produziu efeitos sobre o equilíbrio eletrolítico. De fato, a proporção existente nessa solução entre os eletrólitos Na^+ , K^+ e Cl^- não é muito diferente da encontrada no plasma (CONSTABLE, 2003). Por se tratarem de ovelhas sadias não seria esperado que os eletrólitos sofressem modificações apreciáveis.

CONCLUSÃO

A solução de Ringer com lactato possui efeito alcalinizante reduzido em ovinos sadios.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UEL (CEEa/UEL) sob o número de registro 40/07, e conduzido respeitando-se os princípios éticos postulados pelo COBEA.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da saúde. Agência nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Soluções Parenterais de Grande Volume**. Brasília, 1997. 150p. (Manual SPGV).

CONSTABLE, P.D. Fluid and electrolyte therapy in ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.19, n.3, p.557-597, 2003.

KASARI, T.R. Metabolic acidosis in calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.15, n.3, p.473-486, 1999.

LEAL, M.L.R.; MORI, C.S.; ORTOLANI, E.L. Estudo da capacidade alcalinizante de tampões metabolizáveis em bovinos sadios. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.4, p.965-970, 2007a.

LEAL, M.L.R.; MARUTA, C.A.; ORTOLANI, E.L. Uso de bicarbonato e lactato-L para correção da acidose metabólica sistêmica em bovinos com acidose láctica ruminal aguda. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.4, p.971-976, 2007b.

LISBÔA, J.A.N.; FLAIBAN, K.K.M.C.; LANDMAN, M.L.L.; ZECHETTO, L.S.; VETTORATO, E.D.; BALARIN, M.R.S.; BARBOSA, D.S. Potencial alcalinizante da solução de Ringer com lactato em bezerros sadios. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba v.12, Suplemento, p.90-91, 2007a.

LISBÔA, J.A.N.; LANDMAN, M.L.L.; MORI, C.S.; ORTOLANI, E.L. Concentração de lactato L em soluções comerciais brasileiras de Ringer com lactato. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.12, Suplemento, p.189-190, 2007b.

MENDES NETTO, D.; ORTOLANI, E.L. Evaluation of sodium bicarbonate or lactated Ringer's solution for the treatment of rumen lactic acidosis in steers. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.6, p.31-39, 2000.

NAYLOR, J.M.; FORSYTH, G.M. The alkalizing effects os metabolizable bases in the healthy calf. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v.50, n.4, p.509-516, 1986.

RIBEIRO FILHO, J.D.; BALBINOT, P.Z.; VIANA, J.A.; DANTAS, W.M.F.; MONTEIRO, B.S. Hemogasometria em cães com desidratação experimental tratados com soluções eletrolíticas comerciais administradas por via intravenosa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1914-1919, 2008.

FISIOLOGIA DO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Euler Rabelo¹, Ph.D e Betânia G. Campos²

¹ Médico Veterinário - ReHAgro

² Médica Veterinária - Doutoranda em Zootecnia - UFMG

Importância do período de transição

O período de transição, três semanas antes até três semanas após o parto, é um período extremamente importante para a saúde, produção e rentabilidade da vaca leiteira. Grandes mudanças adaptativas ocorrem durante a fase final da gestação e o início da lactação. Nesta fase, o principal desafio enfrentado pelas vacas é o aumento expressivo na demanda de nutrientes para produção de leite associado ao baixo consumo de matéria seca (CMS) e, portanto insuficiente aporte de nutrientes. Como demonstrado na tabela 1, as exigências de energia líquida para lactação (ELI) praticamente dobram no período final do parto para início da lactação.

Tabela 1. Exigências de energia líquida de lactação (ELI) (MJ/d) para vacas leiteiras e novilhas dois dias antes versus dois dias após o parto.

Função	Multípara 725 kg		Primípara 570 kg	
	-2 d	+2 d	-2 d	+2 d
Mantença	46,9	42,2	38,9	35,6
Prenhez	13,8	-	11,7	-
Crescimento	-	-	7,9	7,1
Produção de Leite	-	78,2	-	62,3
Total	60,7	120,4	58,5	105,0

Calculado pelo NRC (2001), assumindo uma produção de leite corrigido para 4% de gordura de 25 kg/d para vacas multíparas e 20 kg/d para vacas primíparas. Adaptado de Drackley et al., (2005).

Overton (1998) demonstrou que a demanda estimada de glicose de uma vaca da raça holandesa é de 1000 a 1100 g/d durante os últimos dias de gestação, mas aumenta rapidamente após o parto para aproximadamente 2500 g/d aos 21 dias pós-parto. A maior parte das exigências de glicose deve ser suprida pela gliconeogênese hepática. O fato de que muitas vacas são capazes de passar por esse desafio sem dificuldades sugerem que as adaptações metabólicas necessárias para suportar a alta produção de leite são componentes genéticos que acompanham a seleção para alta produção de leite.

No entanto, em rebanhos de alta produção uma em cada duas a três vacas sucumbe a algum tipo de problema de saúde durante o período de transição, o que poderia demonstrar a fragilidade do sistema (Jordan & Fourdraine, 1993; Duffield et al., 2002; Drackley et al. 2005). Desta forma, os problemas de saúde relacionados ao período de transição sinalizam a necessidade de melhoria no manejo, permitindo que as vacas atinjam o seu potencial genético para a produção de leite sem prejuízo a sua saúde e a rentabilidade da atividade leiteira. Um melhor conhecimento das mudanças fisiológicas e patológicas durante o período de transição pode levar ao desenvolvimento de melhores práticas de manejo e alimentação durante esta fase.

Mudanças fisiológicas e patológicas associadas ao balanço energético são importantes fatores relacionados o desenvolvimento de cetose, deslocamento de abomaso e retenção de placenta (Duffield et al. 2002), e podem causar impacto negativo no sistema imune levando ao aumento da ocorrência de doenças infecciosas como mastite e metrite (Dohoo & Martin, 1984; Kremmer et al. 1993). O objetivo desse artigo é descrever os potenciais mecanismos fisiológicos que podem causar ou predispor vacas a doenças no período periparto.

Status metabólico da vaca no período de transição

Bauman & Currie (1980) definiram homeorrese como “mudanças coordenadas ou orquestradas no metabolismo de tecidos corporais necessárias para dar suporte a um determinado status fisiológico”. De acordo com os autores, as principais características da relação homeorrética são a sua natureza crônica, influência simultânea em tecidos múltiplos muitas vezes não relacionados e sua mediação através de respostas alteradas a sinais homeostáticos. A transição metabólica do final da gestação para o início da lactação é um exemplo típico dessas características.

Mudanças hormonais

As concentrações de insulina plasmática diminuem no período final da gestação e o início da lactação em vacas leiteiras, com picos agudos no dia do parto (Kunz et al., 1985). A resistência a insulina previamente observada em humanos e animais de laboratório durante o final da gestação também ocorre em ruminantes (Patterson et al, 1993; Patterson et al. 1994). Este evento é manifestado através da sensibilidade diminuída a insulina por várias vias metabólicas associadas com a utilização de glicose

por todo o organismo, e diminuição da resposta a insulina em relação à lipólise e mobilização de AGNE (ácidos graxos não esterificados) (Patterson et al., 1994). A mobilização de gordura durante o final da gestação é facilitada em parte pela diminuição da habilidade da insulina em promover a lipogênese e de se opor a lipólise (Bell, 1995).

No início da lactação ocorre quase total supressão da lipogênese, devido aos baixos níveis de insulina plasmática e a diminuição da utilização de glicose ou acetato em razão da baixa resposta do tecido adiposo a insulina (Vernon e Taylor, 1988). Estes estudos demonstraram que o início da lactação é caracterizado por um moderado grau de resistência a insulina no tecido adiposo e muscular, portanto, promovendo a mobilização de AGNE e aminoácidos e evitando o uso de glicose. As concentrações plasmáticas de glicose permanecem estáveis ou diminuem um pouco durante o período de transição pré-parto, aumentam muito durante o parto e diminuem imediatamente no pós-parto. (Kunz et al. 1985; Vasquez-Anon et al., 1994). O aumento das concentrações de glicose ao parto pode ser devido ao aumento das concentrações de glucagon e glicocorticóides que promovem a depleção dos estoques de glicogênio hepático (Grummer, 1995).

As concentrações de estrógeno no plasma aumentam durante o final da gestação, com concentrações altas na primeira e segunda semana antes do parto (Chew et al. 1979). Este evento tem sido relacionado à inapetência dos ruminantes durante os últimos dias de gestação (Forbes, 1986). O aumento do estrógeno pode também influenciar maior mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo durante dos últimos dias de gestação e, portanto estaria implicado na etiologia do fígado gorduroso em vacas leiteiras (Grummer et al., 1990; Grummer, 2008). As concentrações de progesterona durante o período seco são elevadas objetivando a manutenção da prenhez, no entanto diminuem rapidamente aproximadamente dois dias antes do parto (Chew et al. 1979).

As concentrações plasmáticas do hormônio do crescimento aumentam durante o final da gestação, apresentam um pico durante a parição, e se mantêm moderadamente elevadas durante o início da lactação (Tucker, 1985). Muitas mudanças no metabolismo em tecidos de vacas leiteiras tratadas com somatotropina parecem ser mediadas pela resposta alterada dos tecidos à insulina e catecolaminas. Essas mudanças são muito similares àquelas observadas no período periparto (Bauman & Vernon, 1993; Bell, 1995). A somatotropina diminui a taxas de lipogênese e a atividade de enzimas

lipogênicas importantes no tecido adiposo aparentemente por se opor a resposta dos tecidos à insulina (Bauman & Vernon, 1993).

Consumo de matéria seca e metabolismo lipídico

Durante as últimas três semanas de gestação a demanda por nutrientes pelo feto e placenta atinge o nível máximo (Bell, 1995), no entanto o CMS diminui em 10 a 30% (Hayirli et al. 2002). A queda do consumo próximo ao parto é uma característica de várias espécies de mamíferos (Friggens, 2003).

Após o parto, com o início da síntese do leite e o aumento rápido na produção de leite, há grande aumento na demanda de glicose para a síntese da lactose do leite, em um período em que ainda não há o máximo CMS. Em razão da maioria dos carboidratos provenientes da dieta ser fermentados no rúmen, pouca glicose é absorvida diretamente do trato digestivo. As vacas leiteiras, portanto dependem muito da gliconeogênese hepática para atender as grandes demandas sistêmica de glicose. A produção de propionato, devido ao baixo consumo, é insuficiente para atender as demandas sistêmicas de glicose (Drackley et al. 2001). Os aminoácidos da dieta e oriundos da mobilização de músculos esqueléticos, e o glicerol oriundo da mobilização de gordura corporal fornecem o restante da glicose necessária (Reynolds et al. 2003).

O consumo total de energia por vaca após o parto é geralmente menor que as exigências de energia mesmo em vacas sadias (Bell, 1995). A alta relação de hormônio do crescimento/ insulina no sangue de vacas no pós-parto permite a mobilização de ácidos graxos de cadeia longa de triglicérides (TG) provenientes do tecido adiposo, com o objetivo de suprir o déficit entre o consumo de energia e as exigências (balanço energético negativo). Ácidos graxos liberados do tecido adiposo circulam como AGNE, sendo a principal fonte de energia para a vaca durante esse período. A concentração de AGNE no sangue reflete a magnitude da mobilização do tecido adiposo (Pullen et al. 1989), portanto com o aumento do balanço energético negativo, mais AGNE é liberado do tecido adiposo, aumentando a sua concentração no sangue.

Com o aumento da concentração de AGNE no sangue ao redor do parto ou no início de lactação, mais AGNE é absorvido pelo fígado (Emery et al., 1992; Reynolds et al., 2003). No fígado, os AGNE podem ser: 1) completamente oxidados a dióxido de carbono para fornecimento de energia para o fígado, 2) parcialmente oxidados para produção de corpos cetônicos que são liberados no sangue e servem com fontes de energia para outros tecidos ou 3) reconvertidos para TG (**Figura 1**).

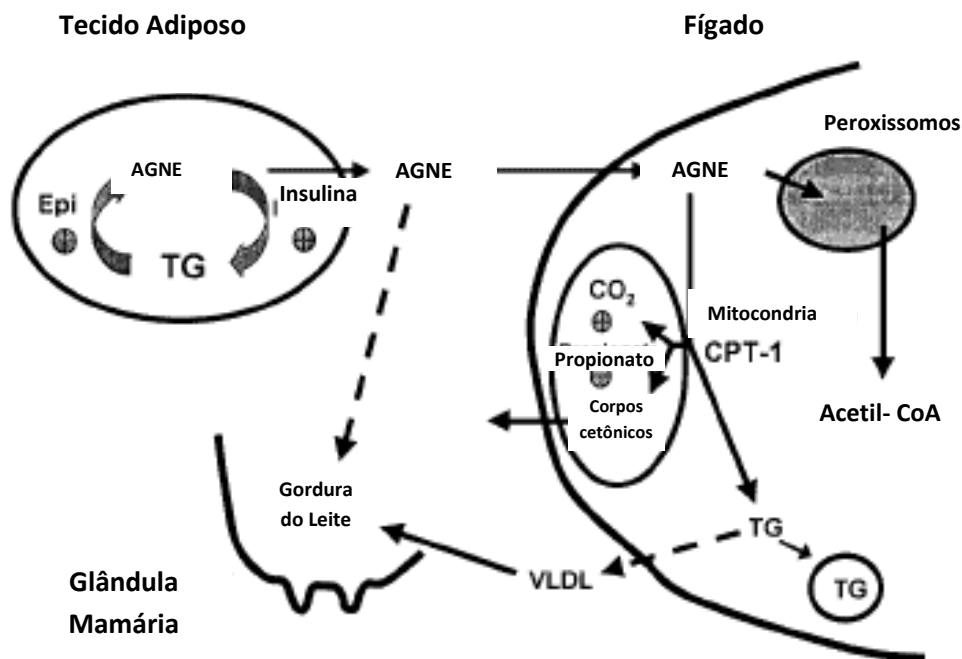


Figura 1. Esquema do metabolismo de ácidos graxos não esterificados em gado de leite. Adaptado de Drackley (1999).

Os ruminantes possuem baixa capacidade para síntese e secreção de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) para exportação de TG do fígado (Kleppe et al., 1998; Pullen et al., 1989), no entanto capacidade semelhante a outros mamíferos em recuperar AGNE em TG (Kleppe et al., 1998; Graulet et al., 1989). A capacidade do tecido hepático em esterificar AGNE em TG é aumentada com a aproximação do parto (Grum et al. 1996; Litherland et al., 2003). Conseqüentemente, vacas alimentadas com dietas típicas durante o período seco e período periparto possuem um aumento nas concentrações de TG no fígado no primeiro dia após o parto (Skaar et al., 1989; Grum et al. 1996). Este acúmulo parece não começar de maneira muito significativa antes do parto e geralmente atinge o máximo entre o 7º e 14º dias após o parto (Vasquez-Anon et al., 1994; Van den Top et al., 1996; Rukkwamsuk et al. 1999) (**figura 2**).

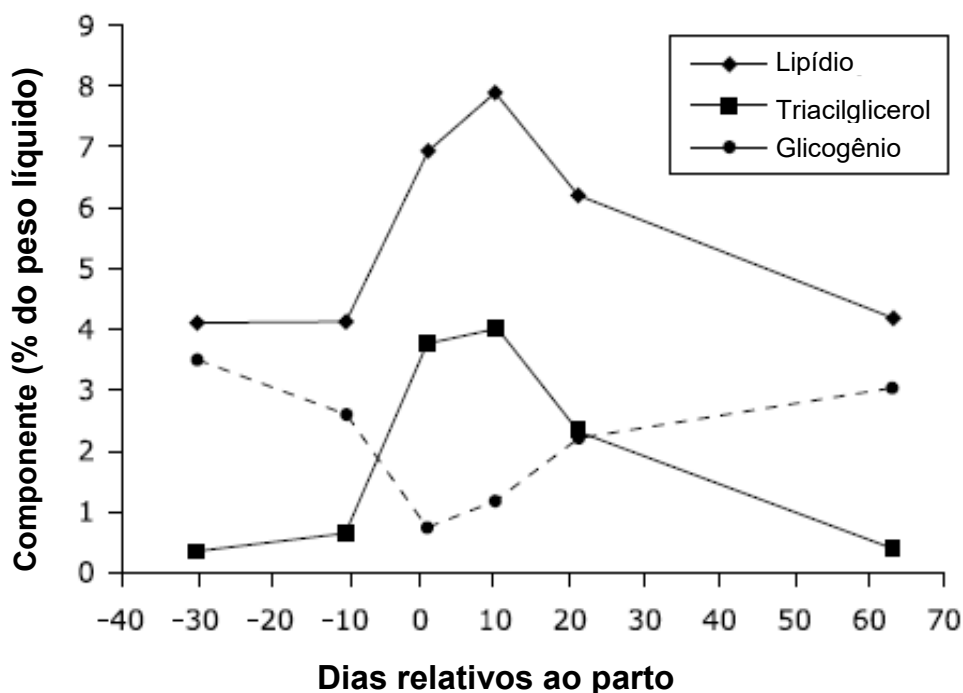


Figura 2. Concentrações de lipídios totais, triacilglicerol e glicogênio no tecido hepático obtidos por biopsia em vacas leiteiras (n = 60) durante o período de transição. Adaptado de Underwood (2003).

Tabela 2. Importantes associações entre AGNE e BHBA com saúde e desempenho em vacas no período de transição

Altas concentrações de AGNE (>0,4 mmol/L) nas duas semanas antes do parto são associadas a:	Cetose sub-clínica (BHBA > 1200 – 1400 µmol/L) no início da lactação é associada a:
Aumento de 2 a 4 vezes no risco de deslocamento de abomaso para a esquerda (LeBlanc et al., 2005).	Aumento de 3 a 8 vezes no risco de deslocamento de abomaso (LeBlanc et al. 2005; Duffield et al. 2009).
Aumento de 1,8 vezes no risco de retenção de placenta (LeBlanc et al. 2004).	Diminuição da probabilidade de prenhez a primeira IA (Walsh et al. 2007).
Aumento de 2 vezes no risco de descarte antes dos 60 dias de lactação e 1,5 vezes no risco de descarte durante toda a lactação (Duffield et al. 2005).	Diminuição da produção de leite (Duffield et al. 2009).
Perda de 1,2 kg/dia de produção de leite nos primeiros 120 dias de lactação (Carson, 2008).	Aumento da duração e severidade dos casos de mastite.

Se a absorção de AGNE pelo fígado é excessiva, poderá predispor a ocorrência do fígado gorduroso (Bobe et al., 2004). O balanço energético negativo e a insuficiência de carboidratos no fígado após o parto pode levar ao aumento da produção de corpos cetônicos resultando em cetose clínica ou sub-clínica (Duffield, 2000; Herdt, 2000; Drackley et al., 2001). O balanço energético negativo, mobilização intensa de TG do tecido adiposo e cetogenese são altamente associados a desordens no periparto (Herdt, 2000; Jorritsma et al., 2003; Bobe et al., 2004; Duffield & LeBlanc, 2009).

Competência imune

A competência do sistema imune é deprimida durante o período de transição (Kehrli et al., 1989a,b). Uma diminuição da habilidade do sistema imune em responder a desafios infecciosos provavelmente é responsável pela alta incidência de mastite ambiental ao redor do parto, como também alta incidência de metrite (Mallard et al., 1998). As causas para a redução da função imune não são bem conhecidas. Existe alguma evidência sugerindo que o balanço energético negativo e ou balanço protéico podem ser fatores que contribuem para esse fenômeno (Kremer et al., 1993; Goff, 1999). Muitos componentes do sistema imune parecem afetados negativamente por concentrações elevadas de corpos cetônicos (Suriyasathaporn et al., 2000). Um estudo demonstrou ligação entre retenção de placenta e diminuição da competência imune (Kimura et al., 2002), sugerindo que a nutrição protéica pode também influenciar a incidência de retenção de placenta.

O fígado gorduroso pode também diminuir a competência do sistema imune (Breukink & Wensing, 1997). A incidência de fígado gorduroso é muito associada com a ocorrência de doenças infecciosas (Bobe et al., 2004). O acúmulo de TG no fígado é associado a diferenças marcantes nas propriedades funcionais e fenotípicas dos neutrófilos (Zerbe et al., 2000).

Metabolismo de cálcio

O início repentino da síntese do leite na glândula mamária resulta em aumento bastante expressivo na demanda de cálcio. Como consequência, as concentrações de cálcio podem cair muito durante o parto levando a hipocalcemia clínica. Já a hipocalcemia sub-clínica é resultado de quedas menores nas concentrações de cálcio do sangue, sendo considerada fator de risco para desordens como o deslocamento de

abomaso e cetose, pela diminuição das contrações da musculatura lisa sendo essa vital para a função normal do trato digestivo (Goff & Horst, 1997). A hipocalcemia leva também a um aumento da secreção de cortisol, que é considerado um fator de risco envolvendo o aumento da incidência de retenção de placenta (Goff, 1999). Até que o sistema digestivo tenha a capacidade de absorver cálcio, este deve ser obtido pela reabsorção óssea. A acidose metabólica promovida pela diferença dietética cátion-aniónica (DCAD) negativa favorece a mobilização de cálcio do osso, enquanto altas concentrações na dieta de potássio e DCAD positiva inibem o processo de reabsorção óssea (Horst et al., 1997).

Referências bibliográficas

1. BAUMAN, D. E., AND R. G. VERNON. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. **Annu. Rev. Nutr.** 13:437-461. 1993.
2. BAUMAN, D. E., AND W. B. CURRIE. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **J. Dairy Sci.** 63:1514-1529. 1980.
3. BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **J. Anim. Sci.** 73:2804-2819. 1995.
4. BOBE, G., YOUNG, J.W., BEITZ, D.C. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 87:3105-3124. 2004.
5. BREUKINK, H.J, WENSING, T., Pathophysiology of the liver in high yielding dairy cows and its consequences for health and production. **Isr. J. Vet. Med.** 52:66-72. 1997.
6. CARSON, M. **The association of selected metabolites in peripartum dairy cattle with health and production.** MSc dissertation. University of Guelph. 2008.
7. CHEW, B. P., R. E. ERB, J. F. FESSLER, C. J. CALLAHAN, AND P. V. MALVEN. Effects of ovariectomy during pregnancy and of prematurely induced parturition on progesterone, estrogens, and calving traits. **J. Dairy Sci.** 62:557-566. 1979.

8. DOHOO, I.R., MARTIN, S.W., Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. **Can. J. Comp. Med.** 48:1-5. 1984.
9. DRACKLEY, J. K, T. R. OVERTON, AND G. N. DOUGLAS. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **J. Dairy Sci.** 84(E. Suppl.): E100-E112. 2001.
10. DRACKLEY, J. K., DANN, H. M., DOUGLAS, G. N., JANOVICK GURETZKY, N. A., LITHERLAND, N. B. et al. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Ital. J. Anim. Sci.** 4: 323-344. 2005.
11. DRACKLEY, J.K., Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **J. Dairy Sci.** 82:2259-2273. 1999.
12. DUFFIELD, T. F., LEBLANC. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. **Proc. Southwest Nutrition and Management Conference.** p. 106-114. 2009.
13. DUFFIELD, T. F., LISSEMORE, K. D., MCBRIDE, B. W., LESLIE, K.E. Impact of Hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **J. Dairy Sci.** 92:571-580. 2009.
14. DUFFIELD, T., Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Vet. Clin. N Am-Food A.** 16:231-253. 2000.
15. DUFFIELD, T., BAGG, R., DESCOTEAUX, L., BOUCHARD, E., BRODEUR, M., DUTREMBLAY, D., KEEFE, G., LEBLANC, S., DICK, P., 2002. Prepartum monensin for the reduction of energy associated disease in postpartum dairy cows. **J. Dairy Sci.** 85:397-405.
16. EMERY, R. S., J. S. LIESMAN, AND T. H. HERDT. Metabolism of long chain fatty acids by ruminant liver. **J. Nutr.** 122:832-837. 1992.
17. FORBES, J. M. The effects of sex hormones, pregnancy, and lactation on digestion, metabolism, and voluntary food intake. Page 420 in L. P. MILLIGAN, W.L. GROVUM

and A. DOBSON (Ed.) **Control of digestion and metabolism in ruminants**. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. 1986.

18. FRIGGENS, N.C., Body lipid reserves and the reproductive cycle: towards a better understanding. **Livest. Prod. Sci.** 83:219-236. 2003.

19. GOFF, J. P., AND R. L. HORST. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **J. Dairy Sci.** 80:1260-1268. 1997.

20. GOFF, J.P., Mastitis and retained placenta – relationship to bovine immunology and nutrition. **Adv. Dairy Technol.** 11:185-192. 1999.

21. GRAULET, B., GRUFFAT, D., DURAND, D., BAUCHART, D. Fatty acid metabolism and very low density lipoprotein secretion in liver slices from rats and preruminant calves. **J. Biochem.** 124:1212-1219. 1998.

22. GRUM, D. E., J. K. DRACKLEY, R. S. YOUNKER, D. W. LACOUNT, AND J. J. VEENHUIZEN. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.** 79:1850-1864. 1996.

23. GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **J. Anim. Sci.** 73:2820-2833. 1995.

24. GRUMMER, R. R. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. **Vet. Jour.** 176: 10-20. 2008.

25. GRUMMER, R. R., S. J. BERTICS, D. W. LACOUNT, J. A. SNOW, M. R. DENTINE, AND R. H. STAUFFACHER. Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 73:1537-1543. 1990.

26. HAYIRLI, A.R., GRUMMER, R.R., NORDHEIM, E.V., CRUMP, P.M., Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. **Journal of Dairy Science** 85, 3430–3443. 2002.

27. HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 16:215-230. 2000.

28. HORST, R.L., GOFF, J.P., REINHARDT, T.A., BUXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 80:1269-1280. 1997.
29. JORDAN, E. R., AND R. H. FOURDRAINE. Management for herds to produce 30,000 pounds of milk: characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. **J. Dairy Sci.** 76:3247-3258. 1993.
30. KEHRLI, M.E. JR., NONNECKE, B.J., ROTH, J.A., Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. **Am. J. Vet. Res.** 50:215-220. 1989a.
31. KEHRLI, M.E. JR., NONNECKE, B.J., ROTH, J.A., Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period. **Am. J. Vet. Res.** 50:207-214. 1989b
32. KLEPPE, B. B., R. J. AIELLO, R. R. GRUMMER, AND L. E. ARMENTANO. Triglyceride accumulation and very low-density lipoprotein secretion by rat and goat hepatocytes in vitro. **J. Dairy Sci.** 71:1813-1822. 1988.
33. KUNZ, P. L., J. W. BLUM, I. C. HART, H. BICKEL, AND J. LANDIS. Effects of different energy intakes before and after calving on food-intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. **Anim. Prod.** 40:219-231. 1985.
34. LEBLANC, S. J., K.E. LESLIE, AND T.F. DUFFIELD. Metabolic Predictors of Displaced Abomasum in Dairy Cattle. **J. Dairy Sci.** 88: 159-170. 2005.
35. LITHERLAND, N.B., DANN, H.M., HANSEN, A.S., DRACKLEY, J.K., Parturient nutrient intake alters metabolism by liver slices from periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.** 86(Suppl. 1):105-106 (abstr.). 2003.
36. MALLARD, B.A., DEKKERS, J.C., IRELAND, M.J., LESLIE, K.E., SHARIF, S., VANKAMPEN, C.L., WAGTER, L., WILKIE, B.N., Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. **J. Dairy Sci.** 81:585-595. 1998.

37. OVERTON, T. R. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis in the transition dairy cow. Pages 237-246 in **Proc. Cornell Nutr. Conf. for Feed Manufacturers**, Cornell Univ., Ithaca, NY. 1998.
38. PETTERSON, J. A., F. R. DUNSHEA, R. A. EHRHARDT, AND A. W. BELL. Pregnancy and undernutrition alter glucose metabolic responses to insulin in sheep. **J. Nutr.** 123:1286-1295. 1993.
39. PETTERSON, J. A., R. SLEPETIS, R. A. EHRHARDT, F. R. DUNSHEA, AND A. W. BELL. Pregnancy but not moderate undernutrition attenuates insulin suppression of fat mobilization in sheep. **J. Nutr.** 124:2431-2442. 1994.
40. PULLEN, D. L., D. L. PALMQUIST, AND R. S. EMERY. Effect of days of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. **J. Dairy Sci.** 72:49-58. 1989.
41. REYNOLDS, C.K., AIKMAN, P.C., LUPOLI, B., HUMPHRIES, D.J., BEEVER, D.E., Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. **J. Dairy Sci.** 86:1201-1217. 2003.
42. RUKKWAMSUK, T., T. WENSING, AND M. J. H. GEELEN. Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient period. **J. Dairy Sci.** 82:500-505. 1999a.
43. RUKKWAMSUK, T., T. WENSING, AND M. J. H. GEELEN. Effect of overfeeding during the dry period on the rate of esterification in adipose tissue of dairy cows during the periparturient period. **J. Dairy Sci.** 82:1164-1169. 1999b.
44. SKAAR, T. C., R. R. GRUMMER, M. R. DENTINE, AND R. H. STAUFFACHER. Seasonal effects of prepartum and postpartum fat and niacin feeding on lactation performance and lipid metabolism. **J. Dairy Sci.** 72:2028-2038. 1989.
45. SURIYASATHAPORN, W., HEUR, C., NORDHUIZEN-STASSEN, E.N., SCHUKKEN, Y.H., Hyperketonemia and the impairment of udder defense: A review. **Vet. Res.** 31:397-412. 2000.
46. UNDERWOOD, J.P. **Protein nutrition of dairy cows during the transition period.** PhD Diss., University of Illinois, Urbana, IL, USA. 2003.

47. VAN DEN TOP, A.M., GEELEN, M.J.H., WENSING, T., WENTINK, G.H., VAN'T KLOOSTER, A.T., BEYNEN, A.C., Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyltransferase. **J. Nutr.** 126:76-85 1996.
48. VAZQUEZ-ANON, M., S. J. BERTICS, M. LUCK, AND R. R. GRUMMER. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites. **J. Dairy Sci.** 77:1521-1528. 1994.
49. VERNON, R. G., AND E. TAYLOR. Insulin, dexamethasone and their interactions in the control of glucose metabolism in adipose tissue from lactating and nonlactating sheep. **Biochem. J.** 256:509-519. 1988.
50. ZERBE, H., SCHNEIDER, N., LEIBOLD, W., WENSING, T., KRUIP, T.A., SCHUBERTH, H.J., Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. **Theriogenology** 54:771-786. 2000.

ENFERMIDADES DO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Enrico Lippi Ortolani

Universidade de São Paulo - USP

Prof. Titular do Departamento de Clínica Médica da FMVZ

Pesquisador do CNPq; ortolani@usp.br

Consultor Veterinário do Globo Rural; Colunista do DBO Rural

Introdução

O período de transição de vacas leiteiras esta compreendido entre a 3ª semana pré-parto até a 4ª semana pós-parto. Este aparentemente curto espaço de tempo no “ano da vaca leiteira” é considerado como estratégico, pois cerca de até 70 % das enfermidades ocorrem, ou têm seu início, no decorrer deste período. Várias são as condições que favorecem a vaca a apresentar múltiplas enfermidades. Dentre essas se enfatiza a menor resposta imunitária, dificuldade para manter a homeostase de uma série de processos metabólicos, alterações hormonais relacionadas com o final de gestação, parto e início de lactação, mudanças imperiosas de manejo nutricional, entre outras. Tais causas foram discutidas com detalhes no capítulo anterior. Assim, um manejo inadequado da vaca nestas fases pode significar um aumento na freqüência de enfermidades e queda na produtividade momentânea e no decorrer da lactação.

Várias são as enfermidades descritas e relativamente freqüentes nesta fase do puerpério, mas uma ênfase especial será dada neste capítulo àquelas de origem metabólicas. A maioria das enfermidades se manifesta clinicamente nas primeiras semanas do pós-parto, mesmo assim algumas delas surgem no pré-parto ou até no dia do parto. Dentre as citadas no pré-parto duas merecem ser mencionadas: edema mamário e hipocalcemia.

O **edema mamário** ocorre mais frequentemente em novilhas, com uma incidência muito variável de 0,5 a 5,0 %, se reduzindo sensivelmente em múltiparas. Porém, novilhas que apresentaram esse quadro têm 20 % de chance de voltar a manifestar a enfermidade. Sua patogenia é pouco conhecida, porém argumenta-se que seria um fator predisponente a presença de certas alterações vasculares na veia mamária de novilhas, o que de certa forma diminuiria o fluxo do sangue de retorno da glândula mamária. Tais alterações vasculares basicamente desaparecem numa segunda gestação. Dietas ricas em potássio (> 1,5 % M.S.) e sódio (> 15 g /d) assim como em grãos

ricos em energia oferecidas durante o período pré-parto podem favorecer o surgimento do edema. Novilhas que parem machos parecem ser um pouco mais predispostas que as que parem fêmeas (MELENDEZ et al., 2006). O tratamento deve ser feito apenas em quadros considerados severos com o uso parenteral de furosemida (1 mg/kg P.V) e ordenhas freqüentes.

Embora a **hipocalcemia da vaca parturiente** possa acometer fêmeas nos últimos três dias de gestação ela ocorre mais tipicamente nos primeiros 2 dias pós-parto. No primeiro levantamento epidemiológico nacional sobre o assunto não foram descritos quadros de hipocalcemia no pré-parto, apenas nos quatro dias em seguida ao parto (ORTOLANI, 1995). Geralmente, quando as manifestações clínicas de hipocalcemia ocorrem no período pré-parto o quadro é grave e o prognóstico mau. Nos rebanhos leiteiros brasileiros a incidência dessa enfermidade varia de 0,5 % a 5 % dependendo do manejo e da manutenção de vacas velhas no rebanho. Além da hipocalcemia provocar alta letalidade, atingindo até 75% nos animais não tratados, o surgimento desta enfermidade pode aumentar o fator de risco (FR) de outras doenças como a retenção de membranas fetais (FR=4,33 x), mamite (FR= 5,4 x); deslocamento do abomaso (FR= 6,0 x); e a cetose (FR= 23,4 x) (DUFFIELD, 2000 e CORASSIN, 2004).

A hipocalcemia da parturiente é oriunda de uma dificuldade de manutenção do metabolismo do cálcio logo em seguida ao parto e parece estar ligada com uma disfunção no paratormônio, o que leva a uma menor produção de dihidroxicalciferol (Vit. D3) provocando uma queda nos teores séricos de cálcio inorgânico. Quanto mais velha e maior o número de lactações maior será a dificuldade da vaca manter a homeostase da calcemia. Dietas excessivamente ricas em cátions (potássio e sódio) ingeridas no período pré-parto favorecem essa dificuldade de homeostasia do metabolismo do cálcio. Em caso de rebanhos-problema (incidência anual superior a 1 %) sugere-se a prevenção com o uso de sais aniônicos, ricos em cloro e enxofre, durante o período seco.

O quadro clínico se desenvolve rapidamente e se manifesta em três fases. Na primeira delas o animal mantém a consciência, mas apresenta excitação, tetania com hipersensibilidade, ataxia, rigidez dos membros posteriores, aspecto de cavalete, queda e hipertermia. Esta fase dura entre 40 minutos e oito horas. Num levantamento de campo denotou-se que a maioria dos casos detectados na fazenda (84,5 %) geralmente se encontra na fase 2 (ORTOLANI, 1995). Nessa fase o animal tem depressão na

consciência, se torna sonolento e tem diminuição dos seus reflexos e de sensibilidade cutânea. Muitas vezes assume a atitude de auto-auscultação. Passa a ter taquicardia com hipofonese, hipotermia, diminuição dos movimentos do rúmen ou mesmo atonia ruminal, constipação e esfriamento das extremidades cutâneas. Caso o animal permaneça por longo período em decúbito esternal (posterior a 6 horas) poderá evoluir para um quadro de síndrome da vaca caída. Na terceira fase da hipocalcemia a vaca perde completamente a consciência, pode se apresentar em decúbito lateral, aumenta muito a frequência cardíaca e apresenta atonia ruminal podendo morrer de insuficiência cárdio-respiratório ou mesmo meteorismo gasoso. O tratamento parenteral com medicamentos a base de cálcio é altamente eficaz na fase 1, de boa resolução na fase 2 e com resultados pobres na fase derradeira. Vacas com discreta hipocalcemia necessitam ser tratadas com cerca de 2 a 4 g de cálcio, porém a maioria dos casos exige no mínimo entre 6 a 9 g de cálcio (ORTOLANI, 1995).

A maioria dos casos da **síndrome da vaca caída** surge no período pós-parto oriundos de quadros de hipocalcemia (61%), seguido do parto distócico (11%). O fator de risco se eleva significativamente quando vacas desenvolvem previamente hipocalcemia (6 x), distocia (6 x) e retenção das membranas fetais (5,8x). Levantamentos populacionais indicam que essa complicação acomete ao redor de 0,5 a 3 % das vacas paridas e destas cerca de 75 % sucumbem, mesmo após o estabelecimento de terapia. O decúbito prolongado pode resultar em compressão e menor irrigação de estruturas levando a uma necrose isquêmica dos músculos pélvicos e dos membros posteriores e edema dos nervos ciático e peroneal. Nessa condição o animal apresenta decúbito esternal, falta de esforço ou vontade para se levantar, se mantendo em posição de “perna de rã”, paralisia dos membros posteriores e falta de resposta aos estímulos nervosos na musculatura local. O apetite pode estar normal. A morte pode sobrevir dentro de 2 a 20 dias de decúbito. O prognóstico pode ser feito baseado no tempo em que a vaca permanece em decúbito e com auxílio de exames laboratoriais realizados no 1º dia de decúbito. Geralmente, o prognóstico é menos favorável quanto mais tempo a vaca permanece em decúbito e quanto maior for a atividade da enzima AST sérica obtida no primeiro dia de decúbito (RADOSTITS et al., 2007). O tratamento baseado em polifarmácia, a base de cálcio, fósforo, corticosteróides, tônicos, vitamina E e selênio, nem sempre apresenta bons resultados. Procurar manter os animais em pé, por meio de aparelhos suspensórios, cuidados com

enfermagem (trocas de posição de apoio contínua, exercício e massagens dos músculos afetados etc.) e atenção com a alimentação, hidratação e com a cama com que o animal permanece são fundamentais para a recuperação.

A **retenção das membranas fetais** também é freqüente em nosso meio, sendo encontrada num levantamento em 16 % das vacas parturientes (CORASSIN, 2004). A retenção é definida em casos que as membranas fetais deixam de ser eliminadas dentro de 12 horas após o parto. A etiologia da retenção é multifatorial. Ela surge em condições que favoreçam a menor força de contração uterina, para expulsão das membranas fetais, ou a maior aderência da carúncula ao cotilédone no período pós-parto (certos problemas infecciosos, abortamentos e quadros carenciais- vitamina E e A, selênio). Recentemente, sugeriram que os neutrófilos têm um papel fundamental no descolamento do epitélio que adere a carúncula ao cotilédone. Situações que levem a uma menor atividade fagocitária dos neutrófilos em seguida ao parto favorecem o surgimento de retenção das membranas fetais (KIMURA et al., 2004). A presença de retenção é muito maior em vacas que enfrentaram partos distócicos (FR= 2,2 x) e hipocalcemia (FR= 4,33 x), assim como carência de energia acompanhada de esteatose hepático no período do pré-parto (FR = 4,0 x). Como as membranas fetais após o parto deixam de ser irrigadas e se decompõem podem se tornar meio de cultura para microorganismo favorecendo grandemente (FR = 4, 74 x) o surgimento de **metrites e endometrites**. Essas enfermidades podem acometer um grande número de vacas alcançando num levantamento nacional 20, 7 % do rebanho..

Tradicionalmente, as vacas leiteiras recebem no final da lactação dieta contendo diferentes quantidades de concentrados e volumosos. Mas no período seco, que antecede o parto, o manejo nutricional da vaca passa por uma modificação brusca deixando, por motivos econômicos, de incluir alimentos concentrados ricos em energia, os quais são substituídos exclusivamente por volumosos (silagem, capins ou até mesmo feno). Porém, com o intuito de aumentar a produção de leite os concentrados passam a ser reintroduzidos em seguida ao parto. Caso a quantidade de concentrados seja relativamente alta e oferecida bruscamente sem uma devida adaptação gradual, acompanhada de uma dieta pobre em fibra bruta, as vacas recém-paridas podem se tornar susceptíveis à **acidose ruminal**, quer seja ela causada por ácidos graxos voláteis (AGVs), também chamada de acidose ruminal subaguda, ou por ácido láctico (AL), conhecida como acidose láctica ruminal aguda.

Em ambos os casos ocorre uma fermentação exacerbada dos carboidratos solúveis presentes nos concentrados. A acidose por AGVs é mais branda e faz com que o pH ruminal se mantenha entre os valores 5,6 a 5,2 causada por excesso de produção de ácidos graxos voláteis, em especial o ácido propiônico. Já no caso do acúmulo de AL, que é um ácido mais forte que o propiônico, o pH é sempre inferior a 5,2, na maioria dos casos por volta de 4,0 a 4,6, o que gera um quadro clínico mais severo. Na acidose por AGVs o sintoma mais evidente é a diminuição na ingestão de alimentos ou a anorexia, com posterior quebra na produção leiteira e discreta diarreia. Tal quadro dura geralmente um dia e o animal aparentemente se recupera em seguida. Porém, pode apresentar recorrência do quadro algum tempo após. Muitos destes casos são acompanhados de laminite e perda de condição corporal embora o animal esteja bem alimentado. Nessas situações deve-se suspeitar de formação de abscessos hepáticos.

Nos casos de acidose por AL a anorexia é marcante, acompanhada de depressão no estado geral e ataxia; a atonia ruminal é evidente em bovinos zebuínos e algum movimento ruminal pode ser constatado em taurinos, a diarreia é notória, diferentes estágios de desidratação acometem ao redor de 70 % dos animais, existe uma correlação positiva entre o grau de desidratação e o grau de taquicardia e da oligúria. A anorexia pode perdurar até 30 horas após a instalação do quadro (ORTOLANI, MARUTA; MINERVINO, 2009). Quanto maior a absorção de ácido láctico do rúmen maior será o grau de acidose metabólica e o grau de depressão no estado geral. O tratamento se baseia nas correções da acidose metabólica, com uso parenteral de bicarbonato ou certos tampões metabolizáveis, e da desidratação por meio de solução salina hipertônica e isotônica (LEAL, MARUTA, ORTOLANI, 2007; RODRIGUES, 2009).

A **laminite** é um quadro muitas vezes decorrente da acidose ruminal, em especial da por AGVs. Numa série de 126 induções de acidose ruminal em bovinos adultos, por meio de administração de sacarose por via intra-ruminal, 106 deles manifestaram quadro clínico e laboratorial de acidose por AL e os demais acidose por AGVs. Dentre os primeiros apenas um deles apresentou quadro posterior de laminite (0,94%), enquanto que nove em 20 (45 %) com acidose por AGVs desenvolveram esta enfermidade podal (ORTOLANI, 2009). A acidose quadro provoca a morte de bactérias ruminais gram negativas e certos fragmentos destas são absorvidos provocando resposta inflamatória nas laminae sensitiva e coriônica dos cascos. A partir desta injúria, mais marcante nas estruturas da linha branca do órgão, se originam outras

lesões nos cascos. Ferreira et al. (2004) realizaram levantamento em rebanho leiteiro nacional criado em sistema freestall e encontraram uma incidência de 78,3 % dos animais com problemas decorrentes de laminite, estando entre as complicações mais destacadas os abscessos de sola (31,3%), as lesões da linha branca (25,5 %) e úlceras de sola (16%).

Uma das enfermidades menos diagnosticadas no período pós-parto é a **cetose**. Ortolani (2009) realizou levantamento com 20 veterinários que atuam na clínica de gado leiteiro e verificou que apenas metade deles sabia e realizava diagnósticos clínicos corriqueiros de cetose em vacas no pós-parto. Alguns levantamentos nacionais revelaram que pelo menos 17,5 % das vacas de alta produção no primeiro mês de lactação apresentam o problema. Essa enfermidade é cosmopolita e tem aumentado sua frequência quanto maior for a produção leiteira das vacas. Ela é decorrente da falta de ingestão de energia no período pós-parto, excesso de energia e proteína no pré-parto ou decorrente do surgimento de outras enfermidades no pós-parto que provocam diminuição no consumo de alimentos. Numa propriedade com alta frequência de pneumonia detectou-se que esta enfermidade aumentava o fator de risco de surgimento de cetose na ordem de 4,75 vezes (ORTOLANI, 2009).

A cetose é caracterizada por aumento da lipólise, excesso de ácidos graxos livres e corpos cetônicos e baixos teores de glicose na corrente circulatória. Vacas que pariram com condição corporal superior a 3,5 têm grande chance de também desenvolver **esteatose hepática**, além de cetose. O quadro clínico da cetose é muito variável e nem sempre fácil de ser reconhecido. Cerca de 90 % das vacas manifestam uma redução na ingestão de alimentos (10 -50 %), diminuição discreta ou razoável da produção leiteira (10 a 40 %) e alguns sintomas nervosos que vão de uma discreta depressão do estado geral e sonolência. Os outros 10 % dos casos podem externar sintomas mais evidentes como excitabilidade, cambaleios, pressão de cabeça em obstáculos, amaurose etc. Em ambos os quadros é possível se detectar a presença de corpos cetônicos no ar exalado em cerca de 50 % dos animais acometidos. O tratamento é realizado utilizando-se glicose, corticosteróides e substâncias precursoras de glicose, tais como glicerina e propileno glicol.

Finalmente, cita-se entre as enfermidades mais frequentes no puerpério o **deslocamento do abomaso à esquerda** (DAE). Levantamento nacional detectou a presença dessa afecção em 1,8% das vacas paridas (CORASSIN, 2004). O quadro

ocorre principalmente em vacas até a 3ª lactação e que manifestem outras doenças anteriores ou concorrentes tais como hipocalcemia (FR= 4,0 x), cetose (FR= 6,17 x), retenção membranas fetais (FR= 5,4 x) etc. Para a ocorrência de DAE são necessários alguns eventos tais como menor preenchimento e leve deslocamento medial do rúmen no período pós-parto, menor motilidade ou atonia do abomaso e acúmulo de gás neste órgão. Doenças que interfiram com o consumo de alimentos no pós-parto e dietas pobres em fibra bruta tornam o rúmen menos preenchido e aumentam a passagem de fluido ruminal para o abomaso. Nestas condições maiores quantidades de AGVs adentram o abomaso e aumentam o risco de provocar atonia do órgão, dificultando a eliminação oral e aboral de gases aí produzidos. Dietas pobres em grãos no período pré-parto diminuem o tamanho das papilas ruminais dificultando a absorção de AGVs pelo órgão e provocando maior saída destes ácidos para o abomaso (VAN WINDEN; KUIPER, 2003). O tratamento do DAE é cirúrgico.

Referências

1. CORASSIN, C.H. Determinação e avaliação de fatores que afetam a produtividade de vacas leiteiras: aspectos sanitários e produtivos. **Tese** apresentada à ESALQ-USP, Piracicaba, Janeiro de 2004. 101 p.
2. DUFFIELD, T.F. Subclinical ketosis in lactating dairy cows: metabolic disorders of ruminants. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice.** v. 16, p 231-256, 2000.
3. FERREIRA, P.M.; LEITE, R.C.; CARVALHO, A.V.; FACURY FILHO, E.J.; SOUZA, R.C. Custo e resultados do tratamento de seqüelas de laminite bovina: relato de 112 casos de vacas em lactação no sistema free-stall. **Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária e Zootecnia.** v. 56, p. 589-594, 2004.
4. KIMURA, K.; GOFF, J.P.; KEHRLI, E.; REINHARDT, T. J. Decreased neutrophils function as a cause of retained placenta in dairy cattle. **Journal Dairy Science.** v.85, p. 544-550, 2004.
5. LEAL, M.; MARUTA, C.A.; ORTOLANI, E.L. Uso de bicarbonato e lactato-L para correção de acidose metabólica sistêmica em bovinos com acidose láctica ruminal

aguda. **Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 59, p.971-976, 2007.

6. MELENDÉZ,P. HOFER,C.C.; DONAVAM, G.A. Risk factors for udder edema and its association with lactation performance on primiparous holstein cows in large Florida herd- USA. **Journal Dairy Science**. v.87, p. 211-221, 2006.

7. ORTOLANI, E.L. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da hipocalcemia de vacas leiteiras. **Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 47, p. 799-808, 1995.

8. ORTOLANI, E.L. Comunicação pessoal, São Paulo, S.P., 7 de setembro de 2009.

9. ORTOLANI, E.L.; MARUTA, C.A.; MINERVINO, A.H.H. Sintomatologia clínica da acidose láctica ruminal, induzida por sacarose, em zebuínos e taurinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 46, 2009. (no prelo)

10. RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C; BLOOD, D.C.; CONSTABLE, J.H.**Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep pigs and horses**. Elsevier Science Health Division, 10th edition, Edinburgh, 2007. 1877 p.

11. VAN WINDEN, S.C.L.; KUIPER, R. Left displacement of abomasum in dairy cattle: recent developments in epidemiological and etiological aspects. **Veterinary Research**. V.34. p. 47-56, 2003.

CIRURGIAS FREQUENTES EM VACAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

José Augusto Bastos Afonso

Universidade Federal Rural do Pernambuco - UFRPE

Médico Veterinário, Dr.

Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns

O período de transição da vaca de leite constitui como um dos mais complexos no manejo da vida produtiva do animal. É descrito que entre três semanas antes da parição e até três semanas após este é caracterizado por marcantes mudanças no perfil endócrino do animal que são muito mais expressivos do que qualquer outro durante a fase da lactação e gestação, onde há principalmente uma modificação na ingestão de alimentos, quanto ao volume e tipo de dieta, e quando a demanda por nutrientes está elevada. O início da lactação tem um efeito direto no aumento da produção pelas vacas de componentes considerados essenciais (ex. minerais, energia), que não são atendidos na dieta a contento num curto espaço de tempo. Neste período de transição as vacas leiteiras apresentam uma fase de imunossupressão associada a estas mudanças abruptas da dieta. Além dos transtornos metabólico, endócrino e imunológico podem-se incluir os fatores relacionados ao estresse do ambiente em que as vacas são modificadas entre o período seco e a lactação. Quando estes efeitos são combinados não é de surpreender que o período de maior risco para o surgimento de doenças relacionadas à produção seja o imediatamente após a parição.

É relatada uma maior incidência de doenças da produção como hipocalcemia, cetose, distúrbios digestivos, laminite, partos distórcicos e retenção de placenta no período a partir do dia da parição até o 10º dia da lactação. Tais manifestações não são consideradas fatores isolados, e surgem quando alterações na nutrição e no manejo das vacas de leite ocorrem durante o período da transição, e conseqüentes alterações na condição clínica, na fertilidade e na produção do rebanho de leite ocorrem. Tais fatores são considerados determinantes para o bem estar animal e a produtividade do criador.

Entre as doenças da produção que ocorrem em nosso meio com maior frequência em rebanhos leiteiros, durante o período de transição, em que a medida terapêutica a ser empregada é a conduta cirúrgica, inclui-se com maior destaque os distúrbios digestivos, e entre eles pode-se citar a acidose láctica, o timpanismo espumoso, o deslocamento do abomaso e a dilatação do ceco. A realização da cesariana devido ao surgimento de distorcia em vacas também tem a sua importância na rotina clínica.

Acidose láctica ruminal

A acidose láctica ruminal é um somatório da ingestão excessiva de carboidratos, que são rapidamente fermentáveis, por animais não adaptados, resultando em uma rápida e elevada produção de ácido láctico e o aumento nas concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV), que alteram o perfil da população microbiana no rúmen. Podendo provocar anorexia, redução do pH, atonia ruminal, distensão abdominal, aumento da osmolaridade ruminal acarretando desidratação, e dependendo dos níveis de absorção de ácido láctico, pode ocorrer acidose metabólica.

O tipo de tratamento depende acima de tudo da severidade do caso clínico. Este consiste na correção da acidose ruminal e remoção da fonte de carboidrato produtora de ácido láctico do rúmen. As formas brandas podem ser tratadas clinicamente, corrigindo a alimentação por alguns dias têm-se bons resultados. Nos casos agudos e graves, o importante é a remoção do conteúdo alimentar nocivo do rúmen, e a rumenotomia é um dos métodos mais indicado, pois facilita uma melhor exposição do rúmen que ao ser esvaziado e lavado, no que permite a observação de alguma lesão, e a administração de fluido ruminal normal.

O objetivo terapêutico após a rumenotomia inclui o restabelecimento do volume normal circulante, corrigir a desidratação e o equilíbrio ácido-básico, por meio da fluidoterapia (IV), que deverá ser balanceada com soluções eletrolíticas (solução de Ringer, soro fisiológico, sol. bicarbonato 1,3%). As aplicações de solução de cálcio são realizadas para corrigir a hipocalcemia. A dieta deverá ser à base de forragem/feno de boa qualidade, durante toda a fase de recuperação, que perdura por uma semana. A reposição de fluido ruminal diária é importante para o restabelecimento da dinâmica digestiva. A utilização de vitaminas do complexo B também deve ser instituída, pois enquanto não há recuperação da flora ruminal estas precisam ser fornecidas. O uso de anti-inflamatórios não esteroíde são úteis na redução da dor, da inflamação e da endotoxemia associada ao processo, sendo os antibióticos necessários durante o pós-operatório. Acredita-se que o prognóstico deva ser estabelecido em função da gravidade do quadro clínico. Por exemplo, nos casos graves em que há sinais clínicos com decúbito e depressão do animal, este é considerado ruim.

Timpanismo espumoso

O timpanismo ruminal é uma condição clínica caracterizada pelo excessivo acúmulo de gás, de forma livre (timpanismo gasoso) ou associado com o fluido ruminal

tornando-se espumoso (timpanismo espumoso), resultando com isto vários graus de distensão abdominal. É um dos problemas digestivos em bovinos nas propriedades onde adotam o sistema de produção intensivo e semi-intensivo e a sua maior ocorrência é verificada nos primeiros meses da lactação.

O timpanismo espumoso pode desenvolver em áreas de pastagem, onde componentes presentes nas plantas aparentemente são primariamente responsáveis pela formação da espuma (ex.: trevo, alfafa), e também ocorre em animais submetidos a dietas ricas em grãos (> 50% da dieta). Esta última forma é a mais comum e de maior interesse em nosso meio, no Estado de Pernambuco.

Acredita-se que a espuma presente no timpanismo espumoso causada pela ingestão de grãos seja de origem microbiana. A maior fonte do agente espumante é considerada por ser um mucopolissacarídeo bacteriano que se origina a partir da cápsula da bactéria intacta ou do seu conteúdo citoplasmático. Evidências mostram que esse componente e o número de bactérias, tais como o *Streptococcus bovis* se encontram elevados no rúmen de animais timpânicos. O aumento da produção deste componente torna o fluido ruminal espesso e viscoso, acarretando desta forma, uma lenta diminuição na separação do gás no conteúdo ruminal, a apreensão deste resulta na formação da espuma. A viscosidade do fluido ruminal tem sido relacionada com o início e a severidade da doença.

No timpanismo observa-se distensão na parte superior do flanco esquerdo podendo todo o abdômen estar aumentado. Há intranquilidade, o animal pode levantar-se e deitar-se freqüentemente, escoicear o ventre e rolar. A dispnéia é acentuada e acompanhada por respiração pela boca, protusão da língua, salivação e extensão da cabeça. A freqüência respiratória aumenta para até 60 por minuto. Ocasionalmente, ocorre vômito em jato e eliminação de fezes amolecidas também em jatos. Os movimentos ruminais se encontram aumentados nos estágios iniciais, podendo ser quase contínuos, porém o volume dos sons está diminuído devido à natureza espumosa da ingesta. Posteriormente, quando a distensão é extrema, os movimentos estão diminuídos, podendo estar completamente ausentes. Presença de som timpânico à percussão. O colapso e a morte ocorrem rapidamente, sem haver resistência do animal. Animais apresentando uma distensão leve à moderada do abdômen ficam inquietos, pastam por curtos períodos e sofrem considerável queda na produção de leite.

A ruminotomia é empregada quando o tratamento conservador, que foi realizado com a administração oral de antiespumantes como o éster tributílico na dose de 100

ml/animal ou uma suspensão de silicone e metilcelulose, não é mais eficaz ou quando a condição clínica representava risco de morte para o animal, como inapetência, extensão da cabeça, frequências cardíacas e respiratórias elevadas, dispnéia, distensão ruminal acentuada, motilidade do órgão comprometida. O procedimento consiste na retirada do conteúdo espumoso do rúmen, o qual é substituído por fluido ruminal fresco obtido de animais sadios, e por forragem (folhas de capim de qualidade). No transoperatório é administrada oxitetraciclina solução³ (10mg/kg PV) na cavidade abdominal e, posteriormente, oxitetraciclina de longa ação (10mg/kg) a cada 72 horas, por via intramuscular, totalizando três aplicações, e fenilbutazona (7mg/kg), por via intramuscular, durante três dias, com intervalo de 24 horas. A terapia de suporte deve ser feita, inclui a fluidoterapia, aplicações de soluções de cálcio e administração de fluido ruminal (dez a vinte litros) obtido de animais saudáveis, associado com soluções de cobalto e vitaminas do complexo B, durante as primeiras 48 horas após a realização da cirurgia. Os animais devem ser mantidos em piquetes e receberam alimento de boa qualidade composto de forragem e água *ad libitum*.

Deslocamentos do abomaso

O deslocamento do abomaso para a esquerda (DAE) e a sua dilatação para a direita (DAD) são enfermidades comuns em bovinos de leite adultos em lactação. Estas são importantes doenças relacionadas à produção e representam um problema ao rebanho e estão relacionadas com a nutrição. Representam algo em torno de 3-4% na ocorrência dos casos dos distúrbios digestivos atendidos na clínica de bovinos.

O deslocamento e a dilatação do abomaso (DA's) ocorrem primariamente em bovinos adultos leiteiros e em vacas, são poucos os casos relatados em touros e em bezerros alimentados com leite. A maioria dos casos (80%) ocorre durante os primeiros meses após o parto, com uma variação entre duas semanas antes do parto e dois meses após o mesmo. Entretanto, no Estado de Pernambuco relata-se uma maior ocorrência para o lado direito, algo em torno de 80% dos casos desta afecção. Os principais fatores nutricionais relacionados são rações com inadequado conteúdo de fibra efetiva e/ou excesso de carboidratos não estruturais, rações para vacas secas com diferença cátion-ânion positiva. Algumas vacas com DA tem uma história de outras doenças concomitantes, aproximadamente 40% das vacas com DA's têm retenção de placenta, metrite ou mastite e algumas apresentam úlcera de abomaso. Além de apresentarem em algumas situações um déficit energético na dieta e hipocalcemia.

Vacas com DA's diminuem o apetite e a produção de leite progressivamente, as fezes podem está firmes e pastosas ou amolecidas, de cor marrom e mal digeridas. No DAE o abomaso está entre o rúmen e a parede esquerda do corpo aproximadamente entre a 10⁰ e 13⁰ costela, o mesmo é verificado quando o órgão desloca-se para o lado direito (DAD). No DA's se a grande curvatura do abomaso estende-se além da 13⁰ costela, devido ao preenchimento com gás, o órgão pode ser visualizado e/ou palpado na fossa paralombar. Na palpação retal o abomaso usualmente não é palpável no DAE, devido ao fato do rúmen está empurrando-o; entretanto, nos casos de DAD a grande curvatura do abomaso pode ser palpada em torno de 20% a 30% dos casos. Ocasionalmente sinais de cólica podem ser observados. Há hipomotilidade ou atonia do rúmen. Sobre a área de gás do abomaso dilatado, um típico “tilintar” pode ser auscultado com auxílio da percussão, este ruído pode ser tipicamente encontrado em uma área oval localizada entre a 9⁰ e 13⁰ costela, em determinadas ocasiões ele pode estender-se para o meio da fossa paralombar.

A princípio os DA's não representam preocupação quanto à vida do animal; entretanto, nos DAD existe um risco maior de torção, quadro clínico este que há necessidade de uma emergência cirúrgica. A terapia nos casos da doença consiste em algumas situações, só nos casos de DAE, a rolagem do animal sobre o seu corpo, entretanto a prática mais utilizada é a correção cirúrgica do órgão (abomasopexia, omentopexia e piloro-mentopexia). Além disso, uma terapia de suporte deve ser realizada como o fornecimento de cálcio, glicose, fluidoterapia, reposição da microbiota com fluido ruminal, antibioticoterapia, dieta a base de forragem e tratar doenças concomitantes (metrite e mastite).

Dilatação do ceco

A dilatação do ceco (DC) embora seja uma desordem digestiva pouco freqüente em relação aos outros tipos de afecção do trato gastrointestinal em bovinos, constitui uma causa comum de disfunção digestiva, principalmente em gado de leite.

Fatores adicionais como a hipocalcemia, a endotoxemia secundária a metrite ou mastite podem predispor a DC. Este tipo de desordem tende a ocorrer com maior freqüência em bovinos adultos, no início da lactação, embora ele tenha sido relatado em outras fases da lactação. A DC também foi observada em bezerros e bois. A maior ocorrência dos casos é verificada em animais mantidos em regime intensivo.

Na DC o clínico deverá decidir se o tratamento médico será suficiente ou se haverá a necessidade de uma exploração cirúrgica. Em nossa experiência na clínica de bovinos, na maioria dos casos a terapia cirúrgica é a empregada. O tratamento cirúrgico consiste de uma laparotomia na região do flanco direito, que permite a exposição do ceco e a correção usualmente envolve uma tiflotomia. Em casos graves em que há necrose da parede do ceco uma parcial tiflectomia pode ser necessária.

Uma vez a DC é corrigida, no pós-operatório uma terapia de suporte é indicada por alguns dias, para corrigir a hidratação e o déficit eletrolítico por meio da fluidoterapia oral ou intravenosa, antiinflamatórios não esteroídes e laxativos. Soluções de cálcio são importantes e também são empregadas. O tratamento de algumas doenças concomitantes como a cetose, metrite e mastite deve ser realizado. Caso o conteúdo ruminal esteja comprometido (secundariamente) a reposição de fluido ruminal fresco é uma boa terapia auxiliar. A palpação retal deverá ser realizada 24 horas após a cirurgia, para avaliar o grau de distensão (regresso) do órgão. A antibioticoterapia é indicada por sete dias. o paciente deverá receber alimento de boa qualidade, feno e/ou forragem e água a vontade. Em casos não complicados, os bovinos retornam o apetite e a defecar grande quantidade de fezes amolecidas dentro de 24 horas pós-cirurgia. As fezes retornam a consistência normal após alguns dias.

O prognóstico é bom para os pacientes com DC, e as principais complicações que podem surgir incluem a reincidência em aproximadamente 10% dos casos e a possibilidade de peritonite naqueles casos com procedimentos cirúrgicos complicados.

De uma maneira geral, em relação às enfermidades digestivas comentadas é importante ressaltar que haja a necessidade dos animais serem mantidos em baias ou piquetes limpos com água e comida adequada e fresca. A observação quanto à evolução do quadro clínico do animal em termos de recuperação é importante que sejam diárias e por no mínimo uma semana, os exames laboratoriais (hemograma, provas de função ruminal, etc.) são bastante auxiliares neste período.

Distocia/cesarianas

A distocia definida como uma situação de nascimento difícil, na qual sempre a necessidade de um auxílio para que o parto aconteça, está associada como um fator de dor aguda e é considerada como uma dos mais importantes problemas de bem estar para a produção do gado leiteiro. Tradicionalmente são divididas como de origem fetal e/ou materna. Para as primíparas a desproporção feto-pélvica é o fator de risco mais

predominante, enquanto para as vacas multíparas a má posição do feto é o mais importante.

A sua causa é multifatorial, entretanto fatores de ordem nutricionais têm sido relacionados com a ocorrência da distorcia em vacas, tanto a deficiência (balanço energético negativo, hipocalcemia) como o excesso nutricional (escore corporal elevado) podem gerar problemas de parto.

A ocorrência de distocia em rebanhos leiteiros pode variar de 3 a 25%, o índice de mortalidade de bezerros pode alcançar os 50%. Há relatos de sua ocorrência em atendimento clínico representar entre 15% a 20% do total de casos de bovinos atendidos, e que em 50% dos casos de distorcia os animais são submetidos à cesariana.

A cesariana é indicada nos diferentes tipos de distocia, sendo realizada por alguns métodos, entretanto na nossa rotina é realizada na região do flanco esquerdo empregando-se padrões cirúrgicos de rotina.

Referências

1. AFONSO J.A.B., COSTA N.A., MENDONÇA C.L., SOUZA M.I., CALADO A.C., MIRANDA NETO E.G., LIMA M.Z.P.R., PIRES JR J.B., SIMÃO L.C.V., CAVALCANTE A.E.L. Estudo retrospectivo do timpanismo espumoso em bovinos no Estado de Pernambuco. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, v. 4, n. 2/3, p. 249-255, 2001.
2. AFONSO J.A.B., COSTA N. A, MENDONÇA C.L., SOUSA M.I., SIMÃO L.C.V., DANTAS F.R. Alterações clínicas e laboratoriais na dilatação do ceco em bovinos. Análise de 10 casos. *Revista Educação Continuada, CRMV-SP*, v.5, n.3, p. 313-320, 2002.
3. AFONSO J.A.B., MOTA I.O., COSTA N.A., MENDONÇA C.L., SOUZA M.I. Terapia e evolução clínica em bovinos com dilatação do ceco. Análise de 14 casos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.28, n.4, p.172-176, 2006.
4. AFONSO J. A. B., MENDONÇA C. L. Acidose láctica ruminal. In: Riet-Correa, F. et al. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. v. 2, p. 313-319.
5. CÂMARA A. C. L., DANTAS, A. C., GUIMARAES, J. A., AFONSO J.A.B., MENDONÇA C.L., COSTA N.A., SOUZA M.I. . Achados clínicos e laboratoriais de

- 10 casos de dilatação abomasal à direita em bovinos leiteiros Resultados preliminares. In: VII Congresso Brasileiro de Buiatria, 2007, Curitiba. *Archives of Veterinary Science* (suplemento). Curitiba : Universidade Federal do Paraná, 2007. v. 12. p. 114-116.
6. CÂMARA A. C. L., AFONSO J.A.B., MENDONÇA C.L., COSTA N.A., SOUZA M.I . Eficácia da piloro-omentopexia no tratamento cirúrgico do tratamento cirúrgico em bovinos leiteiros no Estado de Pernambuco. In: VIII Congresso Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, 2008, Recife. *Ciência Veterinária nos Trópicos* (suplemento), 2008. v. 11. p. 119.
7. COSTA N. A., AFONSO, J.A.B., SOUZA M. I. MENDONÇA C. L., PEREIRA A.L.L., ROCHA FILHO J. S., SIMÃO L. C. V., DANTAS F. R. Ocorrência de cesarianas na clínica de bovinos. In: V Congresso Brasileiro de Buiatria, 2003, Salvador. **Anais Congresso Brasileiro de Buiatria 2003**. Salvador: Sociedade Baiana de Buiatria, 2003. v.5. p.41 - 41
8. CHENG K. J., MCALLISTER T. A., POP J. D., HRISTOV A. N., MIR Z., SHIN H. T. A review of bloat in feedlot cattle. *Journal Animal Science*, v. 76. p. 299-308. 1998.
9. COUTINHO L.T., AFONSO J.A.B., COSTA N.A., MENDONÇA C.L., FARIA P.A.R., SOARES P.C. Avaliação da conduta terapêutica em casos de timpanismo espumoso em bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.1, p.288-293, 2009.
10. DALTO A.G.C., BANDARRA P.M., PEDROSO P.M., GUAGNINI F.S., LEAL J.S., RAYMUNDO D.L., DRIEMEIER D. Timpanismo espumoso em bovinos leiteiros em pastagens de *Trifolium* spp. (Leg.Caesalpinoideae). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n.5, p. 401-403, 2009.
11. DRACKLEY J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier. *Journal of Dairy Science*, v.82, p. 2259-2273, 1999.
12. FUBINI S.L., ERB H.E., REBHUN W.C., HORNE, D. Cecal dilatation and volvulus in dairy cows: 84 cases (1977-1983). *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 189, n. 1, p. 96-99, 1986.
13. FUBINI S.L., DUCHARME N.G. **Farm animal surgery**. St. Luis: W.B. Saunders, 2004. 607p.
14. GARY, F.B. Indigestion in ruminants. In: Smith B.P. **Large animal internal medicine**. 3 ed. St. Louis: Mosby, 2002. p. 722-747.
15. GRUMMER R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition cow. *Journal of animal Science*, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

16. INGVAARTSEN K.L., DEWHURST R.J., FRIGGENS N.C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalances that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science*, v.83, p. 277-308, 2003.
17. MARUTA C. A., ORTOLANI E. L. Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal: I – Variáveis ruminais e fecais. *Ciência Rural*, v. 32, p. 55-59, 2002.
18. MEE J.F. Prevalence and risk factors for dystocia in dairy cattle. A review. *The Veterinary Journal*, v.176,n.1, p. 93-101, 2008.
19. MULLIGAN F.J., GRADY L.O., RICE D.A., DOHERTY M.L. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal reproduction Science*, v. 96, p. 331-353, 2006.
20. MULLIGAN F.J., DOHERTY M.L. Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, v. 176, p. 3-9, 2008.
21. NAGARAJA T. G., GALYEAN M. L., COLE N. A. Nutrition and disease. In: *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. v. 14, n. 2. p. 257-277. 1998.
22. NAGARAJA T. G., LECHTENBERG K. Acidosis in feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 23, n. 2, p. 333-350, 2007.
23. NOCEK, J.E. Bovine acidosis: implication on laminitis. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p.1005-28, 1997.
24. RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10^a ed. Edinburg: Saunders, 2007. 2156p.
25. REBHUN, W.C. **Disease of dairy cattle**. Baltimore: Lea & Febiger, 1995, 530 p.
26. WHITLOCK, R. B. Bovine stomach disease. In: ANDERSON, N. **Veterinary gastroenterology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1980, p. 396-433.

FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DAS DOENÇAS METABÓLICAS

Félix H. D. González

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Professor de bioquímica clínica

Faculdade de Veterinária

Porto Alegre, RS, Brasil

www.ufrgs.br/bioquimica

Introdução

Os transtornos metabólicos em bovinos atacam principalmente animais que são submetidos a desafios extremos. É o caso das vacas leiteiras de alta produção, que são acometidas por doenças relacionadas com excessiva despesa de energia e/ou de minerais.

A bioquímica clínica oferece uma importante ferramenta diagnóstica, pois desequilíbrios do metabolismo costumam ter repercussão na composição dos fluidos corporais, principalmente, sangue, urina e leite. Mais que detectar casos clínicos esta ferramenta, usada concomitantemente com dados de anamnese e de exame clínico, apresenta utilidade no diagnóstico de casos subclínicos, onde os sinais dos transtornos não resultam evidentes, bem como no monitoramento de pacientes em tratamento ou sob observação.

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (Cote e Hoff, 1991).

O estudo da composição bioquímica do sangue é de longa data, principalmente vinculada à patologia clínica em casos individuais. Na década de 1970, Payne e colaboradores em Compton (Inglaterra), ampliaram a utilização deste estudo mediante o conceito de perfil metabólico, isto é, a análise de componentes sanguíneos aplicados a populações. O trabalho de Payne, aplicado inicialmente a rebanhos leiteiros, foi ampliado a outras espécies, com aplicações práticas no manejo alimentar (Payne & Payne, 1987).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto quando aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido aos mecanismos que controlam a concentração sanguínea

de vários metabólitos e devido, também, à grande variação desses valores em função de fatores como raça, idade, estresse, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico, principalmente na lactação e a gestação (González, 1997). Também, para a correta interpretação dos perfis metabólicos é indispensável contar com valores de referência apropriados para a região e a população em particular. No caso de não contar com esses dados, os valores referenciais a serem usados devem ser de zonas climáticas ou de grupos de animais similares aos analisados (González, 2001).

A urina é o principal fluido de excreção de substâncias nocivas ou de produtos do catabolismo, sendo produzida por filtração do sangue nos rins. A taxa de filtração, reabsorção e excreção de nutrientes e catabólitos pelos rins permite a utilização deste fluido no diagnóstico de alguns transtornos metabólicos.

O leite é um importante fluido orgânico que, além de sua função como alimento, pode informar sobre distintos eventos metabólico-nutricionais que afetam a sua qualidade, principalmente no que concerne a fatores do meio ambiente, como a composição da dieta e o manejo e a fatores internos, como genética, sanidade, balanço metabólico-energético e período de lactação.

O presente trabalho tem por objetivo mencionar as causas de variação de alguns dos metabólitos mais usados no estudo do perfil bioquímico na clínica de bovinos aplicado ao diagnóstico de transtornos metabólicos.

Indicadores sanguíneos do metabolismo nitrogenado

Proteínas totais

As principais proteínas plasmáticas são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. Elas estão envolvidas em múltiplas funções, tais como a manutenção da pressão osmótica e da viscosidade do sangue, o transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção, a regulação do pH sanguíneo e a participação na coagulação sanguínea.

As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática. A hipoproteïnemia pode ser indicadora de estados de subnutrição, bem como de insuficiência ou de lesão hepática e hemorragias. Animais jovens têm valores menores que os animais adultos (Payne e Payne, 1987). Hiperproteïnemia pode ser

observada em casos de desidratação, infecções, tumores e, artificialmente, em amostras hemolisadas. Foram relatados valores de proteína total sérica em vacas da raça Holandesa no sul do Brasil de $84,5 \pm 18,8$ g/L (González et al., 1996).

Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, perfazendo cerca de 50% do total de proteínas. É sintetizada no fígado e contribui em 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion.

O valor de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente, considerando que a meia-vida desta proteína é em torno de 20 dias. Para a detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação (González et al., 2000).

Concentração de albumina diminuída, juntamente com diminuição de uréia, pode indicar deficiência protéica na alimentação. Níveis de albumina diminuídos com níveis de uréia normais ou elevados, acompanhados ou não de valores de enzimas altos, podem ser indicadores de falha e/ou de lesão hepática. Outras causas de baixa na albumina sanguínea podem ser parasitismos crônicos, doença renal que cursa com síndrome nefrótico ou glomerulonefrite crônica e hemorragias. Pode existir uma relação direta entre a capacidade de aumento da albuminemia das vacas leiteiras no pós-parto com o desempenho reprodutivo (Galimberti et al., 1997) e produtivo (González e Rocha, 1998), o que, afinal, está relacionado com a funcionalidade hepática.

A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo e as concentrações obtidas de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador, principalmente de cálcio, fructosamina e ácidos graxos livres, além de causar queda da pressão osmótica do plasma com probabilidade de levar a ascite, o que ocorre quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/L.

Aumentos de albumina ficam praticamente restritos a situações de desidratação. González et al. (1996) encontraram valores de albumina em rebanhos da raça Holandesa no sul do Brasil de $32,6 \pm 5,8$ g/L. Os autores encontraram valores menores de albumina

em vacas no início da lactação e maiores durante o período de inverno, quando as pastagens são de melhor qualidade protéica (azevém).

Globulinas

A concentração sérica de globulinas pode ser obtida pela diferença de concentração entre as proteínas totais e a albumina. As globulinas podem ser divididas em três tipos, α , β e γ , identificadas mediante eletroforese. Elas têm funções no transporte de metais, lipídeos e bilirrubina, bem como papel na imunidade (fração gama). As globulinas são indicadores limitados do metabolismo protéico, tendo mais importância como indicadores de processos inflamatórios.

Altos níveis de globulinas estão associados a doenças infecciosas ou a vacinações recentes. As globulinas aumentam com a idade e durante a gestação. Existe uma correlação negativa entre a concentração de albumina e de globulinas; assim, um aumento nas globulinas devido a estados infecciosos, inibe a síntese de albumina no fígado como mecanismo compensatório para manter constante o nível protéico total e, portanto, a pressão osmótica sanguínea. Por outra parte, na disfunção hepática, o nível de albumina cai e o de globulinas aumenta.

Mudanças nos níveis das globulinas podem ser usadas para avaliar estados de adaptação ao estresse. Animais adaptados tendem a ter níveis normais, enquanto os não adaptados têm os níveis aumentados.

A concentração de globulinas diminui ao final da gestação devido à passagem de gamaglobulinas para o colostro. Em bezerros, a hipoglobulinemia é indicador de que a ingestão de colostro foi pouca, o que os predispõe a sofrer de doenças, principalmente infecciosas. A concentração de globulinas também diminui semanas antes do parto, recuperando seus valores até três semanas após o parto (Rossato et al., 2001). Em rebanhos do sul do Brasil os valores médios de globulina foram de $49,3 \pm 10,5$ g/L (González et al., 1996).

Uréia

A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia do rúmen. Os níveis de uréia são analisados em relação ao nível de proteína na dieta e ao funcionamento renal. A uréia é excretada principalmente pela urina e, em menor grau, pelo intestino e o leite. Na maioria dos

animais (exceto em aves, que excretam ácido úrico), o nível de uréia é indicador de funcionamento renal. No caso dos ruminantes, o teor de uréia não resulta um adequado indicador renal em função do alto grau de reciclagem deste metabólito entre o sangue e o rúmen.

O aumento plasmático da uréia pode ser por causas pré-renais, que diminuem o fluxo sanguíneo no rim, como na hipotensão, no choque hipovolêmico, na desidratação ou em falhas cardíacas. Aumento de uréia por causas renais ocorre por deficiência de filtração em doença renal aguda ou crônica, enquanto que as causas pós-renais de alta uremia incluem a obstrução urinária.

Os níveis de uréia sanguínea também estão afetados pelo nível nutricional, particularmente em ruminantes. De modo geral, a uréia é um indicador sensível, direto e imediato da ingestão de proteína, de forma que excedentes de proteína na dieta são refletidos por aumentos de uréia tanto no sangue quanto no leite, muitas vezes causando efeitos deletérios na reprodução (Rossato et al., 1999) ou na qualidade do leite (González et al., 2001; Wittwer et al., 1993b). Por outra parte, dieta baixa em energia pode também causar aumento da uremia em função do metabolismo ruminal que exige uma sincronia entre a disponibilidade de compostos precursores de proteína bacteriana e de glicídeos solúveis. Não havendo carboidratos disponíveis, aumenta a taxa de absorção ruminal de amônia, levando ao aumento da uréia sanguínea.

Na interpretação dos valores de uréia em ruminantes deve se considerar que na literatura muitas publicações oferecem o valor de Nitrogênio Uréico Sanguíneo (BUN pelas siglas em inglês) e que não corresponde aos valores reais de uréia. Para converter valor de BUN em valor de uréia deve se multiplicar pelo fator 2,14 (que corresponde ao peso de 2N na molécula de uréia= $60/28 = 2,14$). Em rebanhos leiteiros com diferentes níveis de produção no sul do Brasil, os valores médios de uréia sanguínea variaram entre 25 e 57 mg/dL (González e Rocha, 1998), mostrando uma ampla variação em função do manejo alimentar, o estado fisiológico e o nível de produção. No caso de bovinos de corte em pastagem nativa do sul do Brasil (González et al., 2000) a concentração sérica de uréia foi mais baixa e com menor variação ($24,7 \pm 1,7$ mg/dL).

Os valores de uréia no sangue devem ser vistos em conjunto com os valores de albumina e de creatinina, considerando o balanço protéico e energético da dieta de acordo com as exigências nutricionais dos diferentes grupos de animais (González e Campos, 2003).

Creatinina

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular. A creatina é um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo, na forma de fosfocreatina, e sua degradação para creatinina ocorre de maneira constante, ao redor de 2% do total de creatina diariamente. A conversão de creatina em creatinina é uma reação não enzimática e irreversível, dependente de fatores estequiométricos (Figura 1).

A excreção de creatinina só se realiza por via renal, uma vez que ela não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo. Os níveis de creatinina podem ser interpretados de forma similar aos de uréia no tocante à taxa de filtração renal. Assim, aumentos podem ser observados em casos de fluxo renal reduzido por hipotensão, desidratação ou por doenças renais e obstrução urinária. Em bovinos, o valor máximo de creatinina plasmática é de 2,0 mg/dL (Wittwer et al., 1993a).

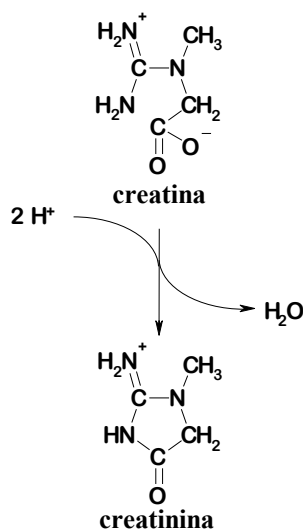


Figura 1. Formação de creatinina a partir da creatina no músculo.

Bilirrubina

A maior parte da bilirrubina no plasma deriva da degradação dos eritrócitos velhos pelo sistema retículo-endotelial, especialmente no baço. A bilirrubina restante provém da degradação da mioglobina, dos citocromos e de eritrócitos imaturos na medula óssea. A hemoglobina liberada dos eritrócitos se divide em porção globina e grupo heme. Após

a extração da molécula de ferro, mineral que fica armazenado ou é reutilizado, o grupo heme é convertido em bilirrubina. A bilirrubina assim formada é chamada de “bilirrubina livre”, que é transportada até o fígado ligada à albumina plasmática. Esta forma, também conhecida como “bilirrubina indireta” no laboratório clínico, não é solúvel em água. Sendo lipossolúvel, não é filtrada pelos glomérulos renais, e não é excretada pela urina.

No fígado, a bilirrubina é desligada da albumina e conjugada com o ácido glicurônico para formar a chamada “bilirrubina conjugada”, que corresponde à “bilirrubina direta” no laboratório. Esta é solúvel em água e secretada ativamente pelos canalículos biliares menores e posteriormente excretada pela bile. Alternativamente pode ser excretada pela urina.

A bilirrubina conjugada é convertida pelas enzimas bacterianas presentes no íleo e no cólon em urobilinogênio (estercobilinogênio), que é reabsorvido em torno de 10 a 15% pela circulação portal até o fígado. A maioria deste urobilinogênio é re-excretada pela bile e uma parte pode ser excretada pela urina. O urobilinogênio não reabsorvido no intestino é oxidado a estercobilina, pigmento responsável pela coloração das fezes.

Aumentos de bilirrubina podem ser causados por hemólise intravascular, hemorragia massiva, transfusão sanguínea inadequada, lesão hepato-celular e obstrução biliar. Os valores de bilirrubina total em bovinos não devem ultrapassar 0,5 mg/dL (Wittwer et al., 1993a).

Indicadores sanguíneos energéticos

Colesterol

O colesterol nos animais pode ser tanto de origem exógena, proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado, a partir do acetil-CoA no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. A biossíntese de colesterol no organismo é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL). Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídeos no plasma, pois corresponde a aproximadamente 30% do total. O colesterol é necessário como precursor dos ácidos biliares, os quais fazem parte da bile, e dos hormônios esteróides (adrenais e gonadais). É excretado pela bile, na forma de ácidos biliares, ou na urina, na forma de hormônios esteróides.

Aumentos do colesterol sanguíneo podem ser observados em casos de hipotireoidismo, diabetes mellitus, obstrução biliar, síndrome nefrótica, dieta rica em gorduras, gestação e início da lactação. Os animais mais jovens, em geral, têm menor teor de colesterol que os mais velhos. Diminuição de colesterol sanguíneo pode ser observada em casos de insuficiência hepática, dieta baixa em energia, hipertireoidismo e no pré-parto.

Os valores de colesterol relatados em vacas leiteiras do sul do Brasil variam entre 106 e 149 mg/dL (González et al., 1996). Vacas em lactação têm valores de colesterol sanguíneo significativamente maiores que vacas secas (147 vs. 102 mg/dL; González e Rocha, 1998).

Corpos cetônicos

Os corpos cetônicos, produto do metabolismo dos ácidos graxos, são o β -hidroxibutirato (BHB), o acetoacetato e a acetona. Os métodos analíticos disponíveis dosam o BHB sanguíneo, que corresponde ao corpo cetônico produzido em maior quantidade. Em situações normais os corpos cetônicos estão em baixas quantidades no plasma (máximo 10 mg/dL), mas em situações onde há deficiência de energia somado à existência de uma boa reserva de lipídeos, ocorre o processo conhecido como lipomobilização que corresponde à hidrólise dos triglicerídeos nos depósitos de gordura endógenos. Este processo libera uma grande quantidade de ácidos graxos livres (AGL) para o sangue, que devem ser oxidados. Quando esta liberação ocorre em excesso, a oxidação dos AGL gera muitos corpos cetônicos, os quais acima de 15 mg/dL configuram a doença metabólica denominada cetose espontânea. Tipicamente ocorre acúmulo de corpos cetônicos na cetose das vacas leiteiras e em situações de diabetes mellitus, jejum prolongado, subnutrição e deficiência de cobalto em ruminantes, todas elas obedecendo à resposta metabólica de lipomobilização decorrente de um balanço energético negativo. Esta situação é normal de acontecer no início da lactação e a maioria das vacas consegue contornar esse desafio. Uma condição de cetose clínica pode ser diagnosticada quando coincidem sinais clínicos com os seguintes valores de indicadores bioquímicos: BHB > 12 mg/dL, glicose < 45 mg/dL e triglicerídeos < 10,6 mg/dL (Mutlu e Abdullah, 1998).

Glicose

Entre vários metabólitos usados como combustível para a oxidação respiratória, a glicose é considerada o mais importante, sendo vital para funções como o metabolismo do cérebro e na lactação. O nível de glicose sanguínea pode indicar falhas na homeostase, como ocorre em doenças tais como a cetose.

Na digestão dos ruminantes, praticamente nenhuma glicose proveniente do trato alimentar entra na corrente sanguínea, sendo oxidada pelas bactérias ruminais até a produção de ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico). O fígado é o órgão responsável pela síntese de glicose a partir de moléculas precursoras na via da gliconeogênese. No caso dos ruminantes, o ácido propiônico é substrato de 50% dos requerimentos de glicose, os aminoácidos gliconeogênicos contribuem com 25% e o ácido láctico com 15%. Outro precursor importante é o glicerol.

O teor de glicose sanguíneo tem poucas variações, em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticóides sobre a gliconeogênese. A dieta tampouco tem grande efeito sobre a glicemia dos ruminantes, em função desses mecanismos homeostáticos, exceto em animais com severa desnutrição. Sob condições de campo, em ocasiões ocorre hipoglicemia, e seja qual for a sua causa, ela indica um estado patológico com importantes implicações na saúde e na produção.

O nível de glicose nos ruminantes tende a ser menor no terço final da gestação do que nos períodos anteriores, isto é, os níveis tendem a diminuir à medida que a gestação avança. Sabe-se que o feto *in utero* demanda glicose como maior fonte de energia. Entretanto, no momento do parto, a glicemia tem um aumento agudo, devido ao estresse. No período posterior ao parto os níveis caem de novo, especialmente na primeira semana e em vacas de alta produção. A glicemia de vacas da raça Holandesa proposta para a região sul do Brasil é de $65,4 \pm 5,3$ mg/dL (González et al., 1996).

Lactato

O lactato é um produto intermediário do metabolismo dos glicídeos, sendo o produto final da glicose anaeróbica. Na presença suficiente de oxigênio, o ácido pirúvico produto da glicólise, entra no ciclo de Krebs, para a geração de energia. Em condições em que ocorre condição de anaerobiose (anoxia, hipoxia), o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico como mecanismo para não interromper a glicólise.

Em condições normais, a maioria do lactato é produzido pelos eritrócitos, mas durante exercício ou atividade física intensa, o músculo produz grandes quantidades de lactato, devido à condição de insuficiente oxigenação. Outras situações de baixa oxigenação aos tecidos causam aumento de lactato, como no caso de anemia, insuficiência cardíaca ou problemas respiratórios.

É frequente também em bovinos de alta produção a acidose láctica de origem ruminal como consequência de excesso de alimentação com concentrado que baixa o pH ruminal e favorece a produção de lactato. Recentemente tem sido dada importância à dosagem de D-lactato, característico do metabolismo bacteriano e sua relação com L-lactato, produzido pelos tecidos dos bovinos, para diferenciar a origem da lactacidemia (Russell e Roussel, 2007). O valor de referência relatado em bovinos para L-lactato está entre 5 a 20 mg/dL (Kaneko et al., 1997).

Triglicerídeos e ácidos graxos livres

Existem métodos disponíveis para dosar triglicerídeos (TG) e AGL. Contudo, o método para determinar AGL continua sem uso generalizado em razão do alto custo. A utilidade de dosar TG é questionada, o que não acontece com os AGL, os quais são os melhores indicadores de lipomobilização (Russell & Roussel, 2007).

Dokovic et al. (2005) mostraram que em vacas cetósicas a concentração sérica de TG é menor que em vacas sadias porque os TG podem estar se acumulando no tecido hepático e não saem para a circulação. González et al. (2009) relatam que 52% de vacas com alta lipomobilização no primeiro mês de lactação e 43% de vacas com baixa lipomobilização no terceiro mês de lactação, tiveram valores de TG <10,6 mg/dL. Os autores não acharam correlação significativa entre valores sanguíneos de TG e AGL nem entre TG e BHB, sugerindo que valores isolados de TG não podem ser considerados como indicadores de lipomobilização. Contudo, todas as vacas com cetose subclínica e 61% de vacas com alta lipomobilização (AGL > 400 µmol/L) tiveram valores de TG menores de 8,8 mg/dL. Esses resultados merecem ver com mais atenção o significado dos TG em vacas no início da lactação.

Indicadores sanguíneos minerais

Cálcio

No plasma, o cálcio (Ca) existe em duas formas, a forma livre ou ionizada (cerca de 45%) e a forma associada a moléculas orgânicas, tais como proteínas, principalmente albumina (cerca de 45%) ou ácidos orgânicos (cerca de 10%). O cálcio total, forma como é medido rotineiramente no sangue, contém a forma ionizada que é biologicamente ativa, e a forma não ionizada. Estas duas formas estão em equilíbrio e sua distribuição final depende do pH, da concentração de albumina e da relação ácido-base. Uma queda na concentração de albumina causa diminuição do valor de cálcio sanguíneo, o que não deve ser interpretado como hipocalcemia.

O sistema endócrino envolvendo a vitamina D₃, o paratormônio (PTH) e a calcitonina, responsáveis pela manutenção dos níveis sanguíneos de cálcio, atua de forma bastante eficiente para ajustar-se à quantidade de cálcio disponível no alimento e às perdas que acontecem, principalmente na gestação e na lactação. O firme controle endócrino do Ca faz com que seus níveis variem muito pouco (17%) comparado com o fósforo (variação de 40%) e o magnésio (variação de 57%). Portanto, o nível sanguíneo de cálcio não é um bom indicador do estado nutricional, enquanto que os níveis de fósforo e magnésio refletem diretamente o estado nutricional com relação a estes minerais. Os valores de referência da calcemia situam-se entre 8 a 12 mg/dL (Wittwer et al., 1993a).

Em vacas leiteiras é freqüente a hipocalcemia que pode causar febre do leite ou paresia do parto, principalmente nas primeiras semanas de lactação. A fonte primária de Ca nesses animais é o esqueleto e a taxa de reposição deve ser rápida o suficiente para cobrir a demanda e evitar a hipocalcemia. Considera-se que em concentrações séricas de Ca abaixo de 6 mg/L, já devem começar a aparecer sinais clínicos de febre do leite e abaixo de 5 mg/L deve ocorrer o decúbito, o qual deve ser evitado a qualquer custo.

Magnésio

Não existe um controle homeostático rigoroso do magnésio (Mg) e, portanto, sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. O controle renal de Mg está mais direcionado para prevenir a hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. Diante de uma deficiência de Mg, seus níveis na urina caem a praticamente zero. Assim, os níveis de Mg na urina também podem ser indicadores da ingestão do mineral.

A hipomagnesemia tem sérias consequências para os ruminantes podendo levar

até a morte, enquanto que a hipermagnesemia não causa maior transtorno. A hipomagnesemia pode levar à tetania hipomagnesêmica, doença causada pela baixa ingestão de Mg na dieta ou pelo consumo aumentado de compostos que causam interferência com o Mg, tais como potássio e proteínas. A hipomagnesemia pode causar, além da tetania, retenção de placenta, anormalidade da digestão ruminal e diminuição da produção de leite. Também predispõe à apresentação de febre do leite em vacas após o parto, devido a que níveis baixos de Mg (< 2 mg/dL) reduzem drasticamente a capacidade de mobilização das reservas de Ca dos ossos.

O Mg está mais disponível em forragens secas e em concentrados do que em pastos frescos. Pastagens jovens com altos níveis de proteína e K inibem a absorção de Mg. O Mg é absorvido no intestino mediante um sistema de transporte ativo que pode ser interferido pela relação Na:K e ainda pela quantidade de energia, de Ca e de P presentes no alimento. A hipomagnesemia também pode ser consequência de uma excessiva lipólise em decorrência de uma deficiência de energia.

O nível de Mg no perfil metabólico pode indicar estados subclínicos antes de surgir o problema (nível normal 2,0-3,0 mg/dL), sendo especialmente útil antes do parto para evitar problemas de tetania no pós-parto, geralmente complicados com febre de leite (Wittwer et al., 1993a).

A hipomagnesemia em ruminantes configura-se com níveis de Mg abaixo de 1,75 mg/dL, aparecendo sinais clínicos de tetania com concentrações abaixo de 1,0 mg/dL. Os níveis de Mg na urina podem ser indicativos de deficiência quando estão abaixo de 0,5 mg/dL (valor de referência de Mg na urina: 10-15 mg/dL). É aconselhável fazer monitoramento dos níveis de Mg no sangue ou na urina ao longo do ano para prevenir a hipomagnesemia.

Fósforo

O fósforo (P) existe em combinações orgânicas dentro das células, mas o interesse principal no perfil metabólico reside no fósforo inorgânico presente no plasma. A manutenção do nível de P do sangue é governada pelos mesmos fatores que promovem a assimilação do Ca. Porém, na interpretação do perfil os dois minerais indicam diferentes problemas. Por outro lado, o controle da concentração de cálcio via endócrina é mais rigoroso e o nível de fósforo inorgânico no plasma sanguíneo dos bovinos geralmente oscila bem mais que o nível de cálcio.

Os níveis de P são particularmente variáveis no ruminante em função da grande quantidade que se recicla via saliva e sua absorção no rúmen e intestino. A interrupção do ciclo leva a hipofosfatemia. A perda de P nas secreções digestivas no bovino chega a 10 g/dia. Por outro lado, o P no rúmen é necessário para a normal atividade da microflora e, portanto para a normal digestão.

A disponibilidade de P alimentar diminui com a idade (90% em bezerros, 55% em vacas adultas). Daí que os níveis sanguíneos de P sejam menores em animais mais velhos. Deficiências no fósforo não têm efeitos imediatos, como é o caso do cálcio, porém no longo prazo podem causar crescimento retardado, osteoporose progressiva, infertilidade e baixa produção. A deficiência severa de fósforo manifestada por níveis sanguíneos menores de 3,0 mg/dL leva a depravação do apetite (alotrofagia). A hipofosfatemia é observada em dietas deficientes em P, mais comumente em solos deficientes em fósforo, principalmente durante o outono/inverno (Valle et al., 2003) e em vacas de alta produção.

Geralmente, as pastagens são abundantes em Ca e deficientes em P, acontecendo uma relativa deficiência de P e um excesso de Ca (McDowell, 1999). Por outro lado, o excesso de suplementação com Ca e P pode causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais, tais como Mg, Zn, Mn e Cu.

O P também é considerado um indicador da função renal, junto com uréia e creatinina, sendo encontrados aumentos significativos na insuficiência renal. Deve-se ter um especial cuidado no manejo pré-analítico, pois a hemólise extravascular é causa de resultados artificialmente elevados de P sanguíneo.

Indicadores enzimáticos

A enzimologia clínica é de grande ajuda diagnóstica, principalmente em relação às enzimas presentes na corrente sanguínea, várias das quais são incluídas no estudo do perfil metabólito sanguíneo (Tabela 1).

Tabela 1. Principais enzimas usadas na clínica veterinária e interpretação do aumento da atividade.

Enzima	Órgão	Interpretação do aumento
Alanina aminotransferase (ALT)	fígado e músculo	lesão hepática (<i>infecciosa e tóxica, trauma, neoplasia, amiloidose, esteatose</i>), indução por drogas (<i>anticonvulsivos, glicocorticóides, mebendazol, paracetamol</i>), miocardite, regeneração hepato-celular
Aspartato aminotransferase (AST)	fígado, músculo, eritrócitos, rins	cardiomiopatias (<i>isquemia cardíaca, necrose, neoplasia</i>), lesão muscular (<i>deficiência de vitamina E e selênio, injeção intramuscular, exercício excessivo</i>), lesão hepato-celular (<i>infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução do ducto biliar, esteatose, icterícia</i>)
Amilase	pâncreas, intestino, glândula salivar	pancreatite aguda, lesões intestinais (<i>obstrução, úlceras, torção, traumas</i>), obstrução urinária, hiperadrenocorticismo, obstrução da glândula salivar, insuficiência renal
Creatina quinase (CK)	músculo	lesão muscular (<i>rabdomiólise, cirurgia, injeção intramuscular, necrose, toxoplasmose, deficiência de vitamina E e selênio, decúbito</i>), miocardiopatias
Fosfatase alcalina (FA)	ossos, fígado, intestino, placenta, rins	dano hepato-celular, indução por drogas (<i>barbitúricos e anticonvulsivos</i>) ou esteróides, animais em crescimento, doenças ósseas (<i>tumores, osteomalácia, consolidação de fraturas</i>), deficiência de vitamina D, caquexia, septicemia, endotoxemia, pancreatite, hiperparatireoidismo, hiperadrenocorticismo
Gama-glutamil transferase (GGT)	fígado, rins	dano hepático (<i>metástase, hepatite, obstrução biliar, aflatoxicose</i>), indução por glicocorticóides
Glutamato desidrogenase (GLDH)	fígado	doenças hepáticas (<i>necrose, obstrução biliar</i>)
Lactato desidrogenase (LDH)	Fígado, músculo, hemácias	desordens dos músculos esqueléticos (<i>rabdomiólise, miodegeneração nutricional</i>) e cardíaco (<i>isquemia devido à endocardite, dirofilariose, trombose aórtica, infarto, trauma, necrose, neoplasia</i>), moléstias renais e hepáticas (<i>necrose, lesão</i>)
Lipase	pâncreas, fígado	pancreatite aguda, falha renal, doenças hepáticas, indução por glicocorticóides e opióides, obstrução intestinal, insuficiência renal.
Tripsina	pâncreas	pancreatite aguda

A medição da atividade enzimática no plasma como ajuda diagnóstica esta fundamentada nos seguintes conceitos:

- (a) No plasma sanguíneo podem ser encontradas enzimas cuja síntese e função são exercidas em nível intracelular, mas que podem sair para a corrente circulatória, após a morte celular. Sob condições normais, estas enzimas têm baixa atividade no plasma. (b) Como a concentração intracelular das enzimas é bem maior que no plasma, danos celulares relativamente pequenos podem levar a aumentos significativos da atividade das enzimas no plasma.
- (c) Aumentos da atividade enzimática no plasma permitem fazer inferência sobre o lugar e o grau do dano celular, uma vez que muitas enzimas são específicas de órgãos. O grau de alteração pode ser determinado pela atividade de enzimas associadas a diferentes compartimentos celulares. Assim, em danos tissulares severos, aparece maior atividade de enzimas mitocondriais e em danos menores aparece atividade de enzimas citoplasmáticas ou de membrana.
- (d) Os níveis enzimáticos no plasma estão influenciados pela velocidade com que entram na corrente circulatória, o que por sua vez depende do dano celular e pela taxa de inativação enzimática (meia-vida da enzima).
- (e) O evento que interessa na determinação enzimática é o aumento da atividade, não tendo geralmente importância a sua diminuição.

O sistema de medida mais usado da atividade enzimática é o de Unidades Internacionais (U ou UI) por litro. Uma UI equivalente à quantidade de enzima que catalisa a conversão de 1 μmol de substrato por minuto. A amostra utilizada para a análise de enzimas deve ser preferivelmente soro e, se usar plasma, deve evitar-se o uso de anticoagulantes com agentes quelantes de metais, tais como EDTA, citrato ou oxalato, para evitar a inativação das metaloenzimas. A heparina é uma boa alternativa. A estabilidade das enzimas é diferente para cada uma sendo conveniente separar o soro ou o plasma o mais rapidamente possível.

Indicadores urinários

Densidade específica urinária

A densidade específica urinária pode ser determinada de forma fácil e econômica mediante refratometria, sendo uma importante ferramenta da análise física da urina.

Na desidratação por perda ou falta de ingestão de água diminui a produção de urina, ficando mais concentrada e com menor valor de densidade, mas a restrição de consumo de água só afeta o volume urinário e, portanto a densidade, após o 2º dia de jejum hídrico, sendo compensado pela absorção de água presente no rúmen (Ortolani, 2002). Quanto maior for a ingestão de alimento, de proteína ou de nitrogênio não-proteico dietético, maior será a produção urinária, causada por uma maior ingestão de água. Por outro lado, quanto maior for a concentração de lactato plasmático, observado em estados de acidose láctica ruminal, menor será o volume urinário (Osbaldiston & Moore, 1971). Valores baixos de densidade urinária são observados em insuficiência renal crônica e na diabetes insípida.

pH urinário

O pH urinário pode refletir o estado de acidose ou alcalose do organismo, embora em ocasiões mecanismos compensatórios possam mascarar o desequilíbrio. O pH urinário dos ruminantes varia de 5,5 a 8,0 conforme a alimentação. Bovinos alimentados a pasto têm um pH urinário mais alcalino (7,5 a 8,0), enquanto que os alimentados com concentrado apresentam um pH mais ácido (6,0 a 7,0). O pH da urina varia durante o dia, sendo mais ácido após a alimentação. Assim recomenda-se que sua mediação seja feita cerca de 6 horas após a alimentação (Ortolani, 2002).

O pH urinário tem sido utilizado para avaliar a eficiência da administração de sais aniônicos, usados para prevenir a hipocalcemia em vacas leiteiras. Estes sais contêm cloreto de amônio e sulfato de cálcio (íons aniônicos), que acidificam o pH urinário. Vacas que estão recebendo sais aniônicos devem apresentar, cerca de 6 horas após a alimentação, um pH urinário entre 6,0 a 7,0 (Ortolani, 2002).

Corpos cetônicos urinários

Em condições normais, pequenas quantidades dos corpos cetônicos circulantes no sangue são excretados pela urina, mas na cetose podem ultrapassar o limiar renal, sendo excretados abundantemente. A detecção de acetona e de acetoacetato na urina é feita por meio da prova de Rothera, que utiliza o nitroprussiato de sódio como reativo e pode ser realizada com fitas ou tabletes comerciais. É uma prova considerada semi-quantitativa tendo resultado cruces de zero a 4 (Ortolani, 2002). A prova detecta apenas grupos ceto e, portanto, não detecta o BHB, principal corpo cetônico. Fitas urinárias mais recentes

incluem a enzima BHB oxidase que converte o BHB em acetoacetato, conferindo maior sensibilidade à prova.

Indicadores lácteos

Gordura do leite

Entre os fatores que influem na quantidade de gordura do leite, se destacam os genéticos, o nível de produção (aumento da produção diminui a gordura), os períodos de lactação e de gestação e a alimentação. É importante que a amostra coletada não seja do início nem do fim da ordenha.

A gordura é o composto mais afetado pela dieta e pelo equilíbrio energético imposto ao animal. Dessa forma, em caso de balanço energético negativo, como o que ocorre obrigatoriamente nas vacas de alta produção, a alta lipomobilização de gordura endógena causa um aumento no teor de gordura do leite. Esta situação em geral é concomitante com o aumento do teor de corpos cetônicos no leite e perda da condição corporal do animal.

De qualquer forma, na interpretação da variação de gordura no leite devem ser considerados alguns elementos de decisão, tais como o conhecimento do valor de gordura no leite do rebanho, conforme o tipo racial e as condições sazonais, a composição da ração, principalmente a proporção de fibra, a condição corporal nos diferentes períodos de lactação e as variações na composição de sólidos totais do leite com relação à fase de lactação (Noro et al., 2006).

Por outra parte, alterações no pH ruminal como o que ocorre na acidose láctica por consumo aumentado de glicídeos de fermentação rápida, tem impacto sobre a composição do leite, diminuindo o valor de gordura. Isto ocorre pelos seguintes efeitos: aumento do ácido propiônico (C_3), efeito insulínico (favorece a lipogênese com relação à lipólise) e baixo aporte de ácido acético (C_2), precursor dos ácidos graxos. Essa diminuição da gordura do leite tem sido denominada síndrome de baixa gordura do leite (*low milk fat syndrome*).

É evidente que a determinação do percentual de gordura no leite deverá ser uma medição individualizada e se considera de utilidade nas primeiras seis semanas de lactação. Sempre que o leite apresente aumentos na gordura, haverá redução das proteínas nos sólidos totais ocasionando menor valor do produto.

Proteína no leite

É conveniente separar os diferentes compostos nitrogenados do leite denominados genericamente de proteínas. Esta composição inclui as caseínas chamadas de “proteínas verdadeiras”, mas também a albumina e as globulinas de origem láctea e sanguínea, bem como enzimas, aminoácidos, peptídeos e uréia. Para efeitos produtivos devem considerar-se diferencialmente os seguintes produtos nitrogenados: caseínas, proteínas do soro do leite e nitrogênio não protéico.

A regulação da secreção láctea permite que a composição das proteínas permaneça relativamente constante no leite, apesar de aumentos no consumo de proteínas pela dieta. O aumento da proteína total do leite em resposta ao aporte da dieta se dá fundamentalmente sobre a base do aumento de energia e de nitrogênio não protéico (uréia). O aporte de uréia como fonte de nitrogênio está limitado em sua absorção pelo aporte de energia para permitir a metabolização por parte dos microorganismos ruminais, podendo passar por via sanguínea para a glândula mamária e o leite, existindo uma forte correlação entre as concentrações de uréia no sangue e no leite.

A relação entre o conteúdo de gordura/proteína do leite é um indicador apropriado para as mudanças na composição do leite referidas com a resposta à dieta, uma vez que, em geral, as respostas do aumento de gordura e de proteína do leite vão em sentidos opostos quando a dieta muda. É conhecido um efeito de depressão das caseínas no leite pelo excesso de gordura na ração.

Diminuição na secreção de proteínas lácteas ocorre em carências alimentares severas, em afecções graves da integridade hepática, em parasitismos ou nas afecções inflamatórias da glândula mamária onde diminuem as caseínas e aumentam as proteínas do soro.

Uréia no leite

A uréia é o produto final do metabolismo protéico. Quantidades apreciáveis de uréia aparecem no sangue e no leite, fluidos nos quais pode medir-se de forma confiável, uma vez que a uréia sanguínea passa o epitélio alveolar da glândula mamária difundindo-se no leite. Assim, os níveis de uréia no leite têm uma alta correlação com a concentração sérica de uréia (Rajala-Schultz et al., 2001).

A uréia pode ser usada como uma ferramenta no monitoramento do manejo nutricional, especialmente quanto à eficiência de utilização de nitrogênio na dieta, como

indicador de excesso de amônia ruminal em relação à energia disponível para o crescimento bacteriano no rúmen.

Os níveis normalmente aceitos de uréia no leite estão num intervalo entre 21,4 a 34,2 mg/dL. Quando o valor está elevado em um animal ou um rebanho, é evidente que a proteína está sendo utilizada de forma ineficiente e, uma vez que a proteína é um dos componentes mais caros da dieta, ocorrem perdas econômicas, que serão somadas às perdas por falhas reprodutivas. Butler et al. (1996) associam redução nas taxas de gestação com valores superiores a 40,7 mg/dL de uréia no leite. No Brasil, não existem estudos dessa dimensão que possam ser referência no tema.

Finalmente, quando os valores de uréia são baixos (menos de 19 mg/dL), a informação permite reconhecer que os níveis de proteína na dieta são inadequados, devendo portanto aumentar a oferta protéica.

Considerações finais

Os transtornos metabólicos em bovinos têm aumentado de forma progressiva nos últimos anos, acompanhando o avanço da genética no sentido de obter animais mais produtivos, uma vez que a fisiologia e o metabolismo não acompanham paralelamente a capacidade de maior produtividade. A utilização da bioquímica clínica em fluidos corporais, tais como sangue, urina e leite, pode ser mais explorada pelos clínicos buiatras como ferramenta concomitante com o exame clínico e a anamnese, não somente no diagnóstico de casos clínicos de transtornos metabólicos, mas especialmente dos casos subclínicos e no acompanhamento, monitoramento e prevenção de condições patológicas. Atualmente, a maioria dos laboratórios clínicos tem a sua disposição técnicas e equipamentos que fazem mais econômicas e acuradas as análises nesses fluidos, de forma que os veterinários devem possuir o conhecimento necessário para sua melhor utilidade.

Referências

1. BUTLER, W.R., CALAMAN, J.J., BEAM, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science** v. 74, p. 858-865, 1996.
2. COTE, J.F., HOFF, B. Interpretation of blood profiles in problem dairy herds. **The Bovine Practitioner**, v. 26, p. 7-11, 1991.

3. ĐOKOVIĆ, R., ŠAMANC, H., BOŠKOVIĆ-BOGOSAVLJEVIĆ, S., RADOVIĆ, V. Changes of characteristic blood parameters in ketotic cows. **Veterinarski Glasnik**, v. 59, suppl. 1-2, p. 221-228, 2005.
4. GALIMBERTI A., BERTONI G., CAPP A V. La determinazione del profilo metabólico quale mezzo per evidenziare le cause alimentari di ipofertilità bovina. **Zoot. Nutriz. Anim.**, v. 3, p. 237-245, 1977.
5. GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 25, p. 13-33, 1997.
6. GONZÁLEZ F.H.D. Perfil metabólico en bovinos: alcance y utilidad. **Revista M V Z**, v. 3, p. 45-52, 2001.
7. GONZÁLEZ F.H.D., CONCEIÇÃO T.R., SIQUEIRA A.J.S., LA ROSA V.L. Variações sangüíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v. 20, p. 59-62, 2000.
8. GONZÁLEZ F.H.D., DÜRR, J.W., FONTANELI, R.S. (Eds.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2001. 77p.
9. GONZÁLEZ F.H.D., HAIDA K., ZANELLA R., FIGUR K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 24, p. 11-24. 1996.
10. GONZÁLEZ F.H.D., ROCHA J.A. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 26, p. 52-64, 1998.
11. GONZÁLEZ, F.H.D., CAMPOS, R. O leite como indicador metabólico-nutricional em vacas. **A Hora Veterinária**, v. 22, p. 36-38, 2003.
12. GONZÁLEZ, F.H.D., MUIÑO, R., PEREIRA, V. et al. Indicadores sanguíneos de lipomobilização e função hepática no início da lactação em vacas leiteiras de alta produção. VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA. Belo Horizonte, Brasil, 2009. **Anais**.
13. KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997, 932 p.
14. MCDOWELL L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais enfatizando o Brasil**. Gainesville: University of Florida. 1999.

15. MUTLU, S., ABDULLAH, B. The clinical-chemical parameters, serum lipoproteins and fatty infiltration of the liver in ketotic cows. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 22, p. 443–447, 1998.
16. NORO, G., GONZÁLEZ, F.H.D., CAMPOS, R., DÜRR, J.W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006.
17. ORTOLANI, E. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais**. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Gramado, Brasil. 2002.
18. OSBALDISTON, G.W., MOORE, W.E. Renal function tests in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association** v. 159, p. 292-301, 1971.
19. PAYNE, J.M., DEW, S.M., MANSTON, R., FAULKS, M. The use of metabolic test in dairy herds. **Veterinary Record**, v. 87, p. 150-157, 1970.
20. PAYNE J.M., PAYNE S. **The Metabolic Profile Test**. Oxford University Press. 1987.
21. RAJAL-SCHULTZ, P.J., SAVILLE, J.A., FRAZER, G.S., WITTUM, T.E. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. **Journal of Dairy Science** v. 84, p. 482-489, 2001.
22. ROSSATO W., GONZÁLEZ F.H.D., DIAS M.M., et al. Number of lactations affects metabolic profile of dairy cows. **Archives of Veterinary Science**, v. 6, p. 83-88, 2001.
23. ROSSATO W., GONZÁLEZ F.H.D., DIAS M.M., FARIA S.V., RICCÓ D. Condição metabólica e desempenho reprodutivo no pós-parto em vacas leiteiras do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.155-156, 1999.
24. RUSSELL, K.A.; ROUSSEL, A.J. Evaluation of the ruminal serum chemistry profile. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 23, p. 403-426, 2007.
25. VALLE, S.F., GONZÁLEZ, F.H.D., ROCHA, D. et al. Mineral deficiencies in beef cattle from southern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40 (supl.), p. 47-53, 2003.

26. WITTWER F., HEUER G., CONTRERAS P.A., BÖHMWALD T.M. Valores bioquímicos clínicos sanguíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 15, p. 83-88, 1993a.
27. WITTWER F., REYES J.M., OPITZ H. et al. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 25, p. 165-172, 1993b.

DESAFIOS NA CRIAÇÃO E SAÚDE DE BEZERROS

Sandra Gesteira Coelho

Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Doutora em Nutrição Animal

Professor associado do Departamento de Zootecnia

Escola de Veterinária da UFMG

Introdução

As fazendas leiteiras mudaram substancialmente, em todo o mundo, nos últimos 20 anos. A combinação de melhores práticas de nutrição, reprodução, manejo, melhoramento genético e instalações, provocaram aumento da produção de leite individual e aumento no número de animais nos rebanhos. Grandes avanços também ocorreram no campo da medicina veterinária com melhor entendimento das doenças, novas técnicas de diagnósticos e novos medicamentos. No entanto, apesar de todos esses avanços a etapa de criação de bezerros continua a apresentar altas taxas de morbidade e mortalidade, e a septicemia, diarreia, pneumonia e tristeza parasitária continuam sendo no Brasil central as principais causas de mortalidade. Os agentes capazes de causar estas doenças são ubíquos, o que faz com que os bezerros estejam inevitavelmente expostos a riscos. A interação entre patógenos, agentes estressores e a nutrição determinam a susceptibilidade às doenças. Desta forma, técnicos e produtores precisam se conscientizar da necessidade de mudanças nesta etapa da criação. É necessário que seja implantado nas fazendas o monitoramento constante dos animais, das práticas de manejo adotadas e das instalações para reduzir a exposição dos animais a fatores de riscos e minimizar as fontes de infecção.

As metas para a criação de bezerros devem ser: minimizar incidência de doenças e mortalidade nos primeiros quatro primeiros meses de vida, dobrar o peso ao nascimento nos primeiros 56 dias, atingir a puberdade e maturidade sexual precocemente (50% do peso adulto aos 13 meses), e ser economicamente viável. Para que todas essas metas sejam obtidas é necessária muita atenção a detalhes.

Este trabalho tem a intenção de chamar atenção para alguns pontos da criação de bezerros que merecem maior atenção.

Durante e após o nascimento os bezerros passam por várias mudanças fisiológicas para adaptação à vida extra-uterina. A primeira e mais imediata é a ruptura do cordão umbilical que força os bezerros a iniciar: os movimentos respiratórios, o controle do balanço ácido-básico, e o catabolismo de carboidratos, gordura e aminoácidos para fornecer energia para as funções corporais. Outra adaptação necessária é a regulação da temperatura corporal. Para isso, os

bezerros precisam rapidamente ativar os mecanismos termogênicos, como o tremor e o metabolismo da gordura marrom (Okamoto et al, 1986; Quigley e Drewry, 1998).

Essa regulação depende do ambiente e, por isso, o local de nascimento tem forte influência sobre a velocidade de regulação da temperatura corporal. A superfície corporal dos bezerros é maior que sua massa corporal, o que propicia a rápida perda de calor. O estresse pelo frio prolongado pode levar o animal à hipotermia, que aumenta as chances de mortalidade. Os riscos de hipotermia são maiores em animais fracos e originados de parto difícil. Nestes casos, os animais apresentam além das dificuldades de regulação da temperatura corporal, decorrentes da baixa atividade física, acidose e hipóxia ou anóxia, iniciando a vida com menores chances de sobrevivência (Davis e Drackley, 1998; Okamoto et al, 1996).

A temperatura crítica inferior no primeiro dia de vida do bezerro é 13,4°C (tab.1). Quando o piquete maternidade tem boa cobertura vegetal, ao deitar o bezerro fica com pelo menos metade do corpo coberto pela vegetação o que o protege do frio. Mas quando a pastagem esta baixa todo o corpo do animal fica exposto ao frio, ventos e umidade, dificultando a regulação da temperatura corporal. Em grande parte da região sudeste e sul nos meses de outono e inverno, temperaturas abaixo de 13,4°C são observadas durante o dia e a noite. Além disso, nestas estações no sudeste e centro oeste a ausência de chuvas reduz o crescimento das pastagens, e normalmente os piquetes maternidade estão com a vegetação baixa, exigindo desta forma que os bezerros sejam levados para locais sem correntes de ventos e que possuam camas de feno ou palhadas para o melhor aquecimento.

Tabela 1- Idade e temperatura crítica inferior de bezerros

Idade em dias	Temperatura crítica mínima °c
1	13,4
5	12,2
10	10,8
15	9,5
20	8,4
25	7,3
30	6,4

Fonte: Adaptado de Gonçalves – Jimenez e Blaxter, (1962)

Após a ruptura espontânea do cordão umbilical, úraco e vasos sanguíneos retraem para o abdômen protegendo-os de contaminação ambiental (Mee, 2008). No entanto se a maternidade não apresenta boas condições de higiene, a contaminação do coto umbilical pode ocorrer. Desta forma a prevenção das onfalites deve ser baseada na cura do umbigo com tintura de iodo a 7% imediatamente após o nascimento, e na densidade animal adequada nas maternidades para manutenção de higiene. A maternidade deve ter as seguintes dimensões: 56 m²/animal, sombra

de 4m²/animal e espaço de cocho de 70 cm/animal. Tanto as áreas de sombra quanto a beirada dos cochos precisam ser constantemente limpas porque estes são os locais de maior aglomeração de dejetos.

A ingestão de colostro de alta qualidade deve ser feita imediatamente após o nascimento. O sistema imune dos bezerros recém-nascidos é imaturo e incapaz de produzir quantidades suficientes de imunoglobulinas para os desafios do ambiente. Além disso, a placenta dos bovinos impede a transferência de imunoglobulinas, estando os bezerros dependentes do colostro para transferência de imunoglobulinas, e também para absorção de células do sistema imune (linfócitos T com capacidade imunorreativa), citocinas e outras substâncias imunológicas, fatores de crescimento e para nutrição (Muller et al, 1981; Stott et al, 1981; Besser et al, 1988; Blum e Hammon, 2000; McGuirk e Collins, 2004).

O colostro também exerce funções importantes na modulação do desenvolvimento do trato gastrointestinal e do metabolismo. Possui vários peptídeos biologicamente ativos a função exata de muitos deles ainda não está determinada. Os peptídeos presentes no colostro mais estudados são os fatores de crescimento epidérmico (EGF) e fatores de crescimento semelhante a insulina I e II (IGF I e IGFII). O EGF é um peptídeo ácido-estável que resiste à degradação protéica abomasal; sua principal atividade no TGI é estimular a proliferação e diferenciação de células intestinais e a maturação do trato digestivo. O IGF I e II são peptídeos com a capacidade de estimular a síntese de DNA e a mitose em vários tipos de células e funcionam como promotores de crescimento do intestino em bezerros neonatos (Le Jan, 1996; Clare e Swaisgood, 2000; Blum e Hammon, 2000).

O corpo do animal recém-nascido possui poucas reservas de gordura e a maior parte dos lipídeos é de origem estrutural e não pode ser mobilizada. As reservas de gordura corporal e glicogênio que podem ser mobilizadas se esgotam em 18 horas após o nascimento se os animais não forem alimentados, o que demonstra mais uma vez a importância da administração imediata de colostro aos animais (Davis e Drackley, 1998).

Dois fatores são importantes para a qualidade do colostro: a concentração de imunoglobulinas (Ig), que deve ser superior a 50g/L, e a ausência de bactérias (colostro obtido de forma higiênica, com tetos limpos, mãos do ordenhador limpas ou equipamentos de ordenha limpos). As bactérias no colostro podem se ligar as Ig no lúmen intestinal ou diretamente bloquear a captura e transporte das Ig pelas células epiteliais intestinais interferindo na absorção (Godden, 2008).

O tempo entre o nascimento e a administração do colostro é crítico para determinar se o bezerro adquirirá ou não imunidade passiva adequadamente. A rápida administração do colostro

é importante porque, à medida que o tempo passa, os enterócitos perdem a capacidade de absorver macromoléculas por pinocitose não seletiva (Godden, 2008).

O rebanho nacional é composto em sua grande maioria por animais mestiços do cruzamento entre a raça Holandesa e raças Zebuínas. Os animais resultantes deste acasalamento nem sempre tem boa conformação de úbere e é freqüente animais com tetos grandes e posicionamentos de úbere abaixo do jarrete. Esta conformação de úbere e tetos pode dificultar a rápida ingestão do colostro após o nascimento e pode contribuir para o aumento das falhas na transferência de imunidade passiva, indicando ser necessário o acompanhamento do parto e a intervenção para a ingestão rápida do colostro.

O colostro fornecido aos bezerros deve ter a qualidade avaliada. A qualidade pode ser estimada pela relação entre a gravidade específica do colostro e a concentração de imunoglobulinas utilizando-se um hidrômetro (colostrômetro). Este equipamento é calibrado em intervalos de 5 mg/mL e classifica o colostro conforme a concentração de imunoglobulinas: pobre, com concentração de até 22 mg/mL; mediana, com concentração entre 22 a 50 mg/mL; boa, concentração > 50 mg/mL (Pritchett et al, 1994).

A quantidade de colostro oferecida depende do peso corporal e da quantidade de imunoglobulinas no colostro. Durante muito tempo, recomendou-se a administração de dois litros de colostro em duas alimentações nas primeiras 12 horas de vida do bezerro. No entanto, com o aumento da preocupação acerca da qualidade do colostro, muitos pesquisadores têm recomendado o fornecimento de quatro litros de colostro, para raças grandes (Holandês e Pardo Suíço), na primeira alimentação que deve ocorrer até seis horas após o nascimento. Para bezerros da raça Jersey ou de raças de grande porte com baixo peso ao nascimento, a recomendação têm sido de três litros de colostro (Davis e Drackley, 1998; McGuirk e Collins, 2005; Jaster, 2005).

Nos partos normais dentro de 30 minutos após o nascimento os bezerros ficam de pé, procuram o úbere dentro de 90 minutos e mamam dentro de duas horas. Durante este tempo os bezerros tem grande chance de contaminação com patógenos na maternidade, e por isso tem sido recomendado que dentro de uma hora após o nascimento os bezerros já tenham ingerido o colostro e sejam levados para os bezerreiros.

O monitoramento da transferência da imunidade passiva deve ser realizado em todas as fazendas para garantia de que as recomendações de colostragem imediata estejam sendo realizadas, e para mudanças no manejo se as mesmas não estiverem sendo feitas. A concentração de proteína total no soro até sete dias de idade pode ser utilizada para indicar como foi feita a colostragem. Esta concentração pode ser obtida pelo exame realizado em laboratório ou pode ser realizada na fazenda com a utilização de um refratômetro. Concentrações maiores que 5,5 g/dL

indicam sucesso na transferência de imunidade; de 5,0 a 5,4 g/dL, moderado sucesso; e < de 5,0 g/dL, falha na transferência de imunidade passiva (Davis e Drackley, 1998; McGuirk, 2004).

McGuirk e Collins (2004) sugerem para avaliação da transferência de imunidade passiva em uma fazenda, que sejam obtidas amostras de soro de 12 animais entre dois a sete dias de idade. Se a fazenda tem um pequeno número de nascimentos o material deve ficar estocado até que este número seja obtido. Se 20% dos animais apresentarem valores inferiores a 5,5 g/dL indica faixa de alarme. Se mais de 20% estão abaixo deste valor então esta ocorrendo falhas na colostragem e medidas de manejo devem ser imediatamente tomadas para contornar o problema. Toda fazenda deve ter um banco de colostro (colostro congelado) para situações de emergência. Deve-se congelar apenas colostro de boa qualidade (>50 mg/mL de imunoglobulinas). O colostro deve ser obtido após a higienização dos tetos e deve ser estocado em recipientes de 500 mL para permitir rápido congelamento e descongelamento, evitando-se assim a multiplicação bacteriana. É preciso lembrar que durante o congelamento a imunidade celular é perdida e mesmo recebendo o colostro estes bezerros vão ter perdas na imunidade.

A relação entre a concentração de IgG e a saúde dos bezerros é positiva. No entanto, a susceptibilidade dos bezerros às doenças e a resposta aos agentes patogênicos não dependem apenas do grau de proteção proporcionado pela imunidade humoral passiva, mas também da exposição aos patógenos ambientais e do estado fisiológico do animal. Bezerros com imunidade adequada podem desenvolver doenças se o desafio imposto pelo ambiente for elevado ou se o colostro não possui imunoglobulinas contra um patógeno não apresentado as vacas e novilhas. As imunoglobulinas são específicas para antígenos específicos e, por isso, o bezerro precisa receber uma variedade de imunoglobulinas para obter boa proteção. Se as imunoglobulinas do colostro não são específicas para os antígenos presentes na fazenda, a concentração de imunoglobulinas no sangue, mesmo que seja alta, pode não conferir imunidade. Isso pode acontecer quando bezerros e vacas são criados em locais distantes uns dos outros (muitas vezes dentro da mesma fazenda). Bezerros que recebem nutrição inadequada, criados em bezerreiros sem boa ventilação ou submetidos a estresse por frio ou calor têm grande risco de desenvolver doenças, pois, nestas situações, o desafio sobrepõe à capacidade do sistema imune do bezerro.

Antes do desenvolvimento do retículo-rúmen, o abomaso é o compartimento funcional dos estômagos do bezerro, o que o torna dependente de enzimas digestivas. A partir de um reflexo condicionado, ocorre a contração de uma dobra de tecido da base do esôfago ao orifício retículo-omasal e forma-se um tubo denominado goteira esofagiana. O leite ingerido flui, então, diretamente da base do esôfago (cárdia) ao orifício retículo-omasal e ao abomaso (Orskov, 1972).

No abomaso a caseína do leite é coagulada pela ação da renina, pepsina e pelo forte ambiente ácido, formando o coágulo (proteína e gordura) e o soro (composto por água, minerais, lactose e outras proteínas incluindo as imunoglobulinas).

À exceção da lactase, todas as outras enzimas que quebram os carboidratos são encontradas com atividade relativamente baixa no intestino dos bezerros. Faltam nos bezerros sacarase e amilase salivar. A maltase intestinal e a amilase pancreática são encontradas em limitadas quantidades ao nascimento, mas aumentam sua atividade com a idade (especialmente a amilase). Dessa forma, o uso de algum dissacarídeo ou polissacarídeo que não seja a lactose é severamente limitado nas primeiras três semanas de vida do bezerro. Após as três semanas de idade, ocorre aumento na capacidade de digestão do amido, intensificando a atividade enzimática e a habilidade de digestão de proteínas de origem vegetal (Drackley, 2008).

O perfil enzimático indica que os bezerros estão preparados para a digestão do leite e que, até três semanas de vida, são especialmente suscetíveis à baixa qualidade dos ingredientes dos sucedâneos de leite, em virtude da pequena maturação dos tecidos intestinais e da reduzida secreção de enzimas digestivas. Portanto, o leite é a melhor dieta líquida para bezerros de até 30 dias de idade.

Assim como os outros animais, os bezerros requerem nutrientes para manutenção e crescimento. O gasto de energia para manutenção envolve as funções básicas necessárias para manter o animal vivo, a temperatura corporal em climas frios ou quentes, resposta imune aos agentes infecciosos e acomodação a agentes estressores. O crescimento é o acúmulo de novos tecidos corporais, antes do desaleitamento ocorre principalmente nos sistemas esquelético e muscular, sendo necessária a deposição de proteína nos ossos e músculos, com correspondente mineralização da matriz óssea protéica. Alguns lipídeos (principalmente os fosfolipídios) são depositados nos tecidos e servem como energia adicional na forma de triacilglicerol (Drackely, 2008).

A exigência de energia metabolizável (EM) para manutenção sob condições termoneutras é de aproximadamente 1,75 Mcal/dia em um animal com 45 kg de PV. O leite integral contém aproximadamente 5,37 Mcal/kg de sólidos, o que significa que o bezerro requer em torno de 325 g de sólidos do leite, ou 2,6 kg de leite (2,5 litros) somente para manutenção (Drackely, 2008; (NRC, 2001).

A exigência nutricional de proteína para bezerros lactantes visa assegurar o suprimento adequado de aminoácidos para o rápido crescimento estrutural e deposição de tecido magro (muscular), enquanto minimiza os custos e excessos da excreção de nitrogênio. Embora, as exigências de proteína para manutenção sejam pequenas (em torno de 30 g/d em bezerros com 45

kg/PV) elas não parecem ser substancialmente alteradas pelo estresse pelo frio ou calor. A exigência de proteína é na maioria das vezes determinada pela taxa de crescimento. Em média 188 g de proteína são depositadas para cada kg de ganho de PV em bezerros. Esta recomendação esta baseada no princípio de que a deposição de proteína corporal em bezerro em crescimento é essencialmente linear em função da ingestão de proteína da dieta (Davis e Drackley, 1998; Diaz et al, 2001; NRC, 2001; Drackely, 2008).

O aumento da ingestão de proteína em dietas a base de leite pode aumentar a deposição de tecido magro e reduzir a deposição de gordura, e o fornecimento de maior volume de leite (que tem equilíbrio adequado da relação proteína:energia) aumenta de forma linear a taxa de crescimento de bezerros e ganho de peso médio diário (Drackely, 2008).

A quantidade de leite comumente fornecida aos bezerros é de quatro kg, uma ou duas vezes ao dia. Esta restrição no volume oferecido não permite altas taxas de ganho de peso, mas estimula o consumo de alimentos sólidos necessários ao desenvolvimento do rúmen. O ganho de peso esperado com este consumo é de 200 a 300 g/dia em condições termoneutras (15 a 25°C), pois em condições ambientais adversas as exigências de manutenção aumentam para manter a termogênese, conforme pode ser visto na Tab.2, podendo resultar em redução do ganho de peso ou perda de peso. Embora a quantidade de energia necessária para resfriamento do corpo não tenha sido quantificada para animais jovens, em animais adultos elas são aumentadas em 20 a 30% durante períodos de estresse térmico pelo calor (Schrama et al, 1993; Diaz et al, 2001; Drackley, 2008).

Estima-se que para atender o sistema imune o animal apresente aumento de exigência nutricional de 20 a 40% da manutenção, e na ausência de quantidades adequadas de energia e proteína, a imunidade celular, a produção de citocinas, o sistema complemento, a função fagocitária e as concentrações de anticorpos são diminuídas (Schrama et al, 1993; Diaz et al, 2001; Drackley, 2008).

Tabela 2 - Variação nas exigências de energia metabolizável de acordo com o peso corporal e temperatura ambiente

Peso corporal (kg)	Temperatura ambiente (°C)			
	20	10	0	-10
Energia metabólica para manutenção Mcal/dia				
30	1,28	1,63	1,97	2,38
40	1,59	2,02	2,45	2,96
50	1,88	2,39	2,90	3,50
60	2,16	2,74	3,32	4,01

Fonte: Adaptado NRC, 2001.

A restrição de dieta líquida resulta, em considerável redução da eficiência de conversão alimentar em bezerros lactantes quando comparado com práticas de alimentação em outras espécies domésticas como, ovelhas (0,69-0,73) e suínos (0,66-0,73). Bezerros alimentados com leite de forma *ad libitum* apresentam eficiência alimentar de 0,75-0,80 (Diaz et al, 2001; Drackely, 2008).

Após quatorze dias de idade os bezerros já são capazes de ingerir alimentos sólidos, mas, somente após o primeiro mês de vida, que eles são capazes de ingerir quantidades suficientes de concentrados que irão contribuir com apreciável quantidade de energia metabólica (Davis e Dracley, 1998; (Diaz et al, 2001; Drackely, 2005; Drackely, 2008).

Todas as constatações relatadas acima fazem com que seja plausível admitir que os bezerros de raças leiteiras que recebem quatro litros de leite ao dia estejam submetidos a um programa de alimentação, principalmente até 30 dias de vida, que não permite altas taxas de ganho de peso e ainda os deixa extremamente vulneráveis quando a temperatura esta acima ou abaixo da zona termoneutra e/ou quando tem que responder as agressões de patógenos. Esta vulnerabilidade talvez seja responsável pelas baixas taxas de ganho de peso, baixa eficiência alimentar e as altas taxas de mortalidade e morbidade freqüentemente observadas na criação de bezerras.

A nutrição na fase inicial da vida dos bezerros pode trazer efeitos a longo prazo, na vida do animal, como melhor o desenvolvimento e funcionamento do sistema imunológico, aumento precoce do desenvolvimento mamário, alteração do funcionamento e desenvolvimento endócrino, maior deposição de tecidos magros e maior produção futura de leite. Desta forma, agora tem sido preconizado oferecer aos bezerros o volume de seis litros de leite/ dia até 30 dias de idade ou o fornecimento de seis litros/dia até os 60 dias de idade (Davis e Dracley, 1998; Diaz et al, 2001; Drackely, 2005; Drackely, 2008).

A ingestão de concentrado é fator importante para o desenvolvimento do rúmen, e acreditava-se que o aumento do fornecimento de dieta líquida poderia reduzir o consumo de concentrado pelos bezerros. No entanto, animais saudáveis, possuem bom apetite e em fase de crescimento ingerem quantidades suficientes da dieta sólida que permite o desenvolvimento ruminal.

Khan et al, (2007) demonstraram que os bezerros que receberam 25% do peso corporal em leite/dia até 30 dias de idade, tiveram maior consumo de alimentos e melhor desenvolvimento dos pré estômagos que bezerros que receberam o volume de 10% do peso corporal ao dia conforme tabela 3.

Tabela 3 - Desenvolvimento ruminal e consumo de concentrado de bezerros em diferentes dietas líquidas

Parâmetros	Dieta convencional 10% do PC em leite	Dieta 25% do PC em leite até 30 dias e 10% PC até 60 dias
Peso do rúmen (kg)	1,37 ^b	1,89 ^a
Peso do retículo (kg)	0,18 ^b	0,29 ^a
Peso do omaso (kg)	0,53 ^b	0,68 ^a
Peso do abomaso (kg)	0,57 ^b	0,71 ^a
Espessura parede do rúmen (cm)	1,15 ^b	1,47 ^a
Altura das papilas (cm)	0,71 ^b	0,96 ^a
Concentração de papilas/cm	71,0 ^b	86,0 ^a
Consumo concentrado pré desmama	400,00b	511,61a
Consumo concentrado pós desmama	1534,38b	2086,88a

Fonte: adaptado de Khan et al, 2007.

Uma das restrições ao fornecimento de maiores volumes de leite é de que pudesse causar diarreia. No entanto bezerros criados com suas mães ingerem até 30% do peso corporal em leite sem aumentar a incidência de diarreias. O fornecimento de maiores volumes de leite ou sucedâneos não causa diarreia, a ocorrência de diarreia esta relacionada com a baixa qualidade sanitária do leite, a baixa qualidade nutricional do sucedâneo e a presença de microorganismo no ambiente dos bezerros.

O estímulo primário para o desenvolvimento do epitélio do rúmen é químico, observando-se que os AGV, particularmente o ácido butírico e o propiônico, são responsáveis pelo desenvolvimento epitelial (papilas). As papilas são projeções do epitélio que aumentam a superfície do rúmen e a área de absorção de nutrientes. Os AGV são produtos da fermentação, pela microbiota do rúmen, de carboidratos e de frações de proteínas das dietas e seu efeito sobre o desenvolvimento do epitélio é, em parte, atribuído à intensa metabolização durante a absorção, fornecendo energia para o crescimento do tecido epitelial e para a contração muscular (Brownlee, 1956; Sutton et al, 1963; Anderson et al, 1987; Sidney, 1988; Coelho, 1999; Coverdale et al, 2004; Lesmeister e Heinrichs 2004; Coelho e Carvalho, 2006).

O estímulo mecânico sobre as paredes do retículo-rúmen (efeito físico) é necessário para promover a movimentação do rúmen, o desenvolvimento das camadas musculares, o aumento do volume do rúmen e a manutenção da saúde do epitélio. Desse modo, para o perfeito equilíbrio e desenvolvimento do retículo-rúmen, é necessária uma dieta que forneça substrato para produção de AGV (efeito químico, principalmente produção de butirato e propionato) e mantenha a movimentação (efeito físico) do retículo-rúmen (Brownlee, 1956; Sutton et al, 1963; Anderson et al, 1987; Sidney, 1988; Coelho, 1999; Coverdale et al, 2004; Lesmeister e Heinrichs 2004; Coelho e Carvalho, 2006).

A movimentação do rúmen provoca a inoculação da digesta com microrganismos, o contato dos ácidos graxos voláteis (AGV) e da amônia com o epitélio para absorção, a ruminação, a salivação, a eructação, a passagem da digesta a outros compartimentos do estômago, o desenvolvimento da musculatura e do tamanho do rúmen e a manutenção da saúde do tecido epitelial pela retirada do excesso de camadas de queratina (Brownlee, 1956; Sutton et al, 1963; Anderson et al, 1987; Sidney, 1988; Coelho, 1999; Coverdale et al, 2004; Lesmeister e Heinrichs 2004; Coelho e Carvalho, 2006).

Para fermentar os substratos (grãos e volumosos), a microbiota precisa permanecer em um ambiente aquoso, pois, sem água suficiente, os microrganismos não crescem e o desenvolvimento ruminal é atrasado. Grande parte da água que entra no rúmen é proveniente da água ingerida. Desta forma, para o desenvolvimento precoce do retículo-rúmen, os bezerros devem ter acesso a água limpa e fresca desde o nascimento, pois o consumo de água aumenta o consumo de matéria seca e o ganho de peso, ocorrendo diminuição de 31% no consumo de matéria seca e de 38% no ganho de peso quando água não é oferecida aos bezerros (Kertz et al, 1984; Coelho, 1999).

Dos 30 aos 60 dias de idade, os bezerros passam por um grande desafio, que é a manutenção de um pH adequado no rúmen. A ingestão de alimentos sólidos, principalmente concentrados (os bezerros têm grande preferência por estes alimentos, em detrimento aos volumosos) atinge quantidades significativas entre a 4^a e a 8^a semana de vida. O rúmen e o epitélio estão em desenvolvimento e a intensa fermentação resulta em grande produção de AGV que provoca redução do pH ruminal.

Além disso, no Brasil os concentrados normalmente utilizados para bezerros são fornecidos na forma farelada ou peletizada, que não provoca estímulo físico sobre o retículo-rúmen para a movimentação e ruminação (salivação, tamponamento), pois os pelets são facilmente quebrados na boca do animal. A redução dos estímulos de movimentação do retículo-rúmen provoca diminuição na taxa de absorção dos AGV, como resultado da redução na concentração de AGV próximo às papilas ruminais, causada pelo acúmulo de concentrados entre as papilas e/ou pela menor exposição do conteúdo do rúmen às papilas e, ainda, pela menor saída da digesta e dos AGV do rúmen para absorção no omaso e no abomaso.

A intensa produção de ácidos pela fermentação e a ausência de estímulos físicos para a movimentação do retículo-rúmen e a ruminação promovem um ambiente favorável à acidose ruminal. As variações diárias no consumo de matéria seca observadas nesta fase estão relacionadas aos efeitos da dieta na fermentação ruminal e, especialmente, no pH do rúmen. O controle da taxa de fermentação e da capacidade de tamponamento, por meio da manipulação da

dieta, é necessário para a saúde do rúmen e a obtenção de altos e uniformes consumos de alimentos sólidos (Coelho, 1999; Coelho e Carvalho, 2006).

A forma física da dieta, em particular o tamanho das partículas, influencia o consumo de alimentos, o ganho de peso e a saúde dos bezerros. Quando se trata da saúde do rúmen de bezerros até a 8ª semana de idade, tamanho das partículas é mais importante que o teor de fibra da dieta (Davis e Drackley, 1998; Coelho, 1999; Coelho e Carvalho, 2006).

Assim o concentrado oferecido aos bezerros precisa ter alta granulometria ou ter textura grosseira para provocar movimentação do retículo-rúmen, a ruminação, a salivação e a manutenção de um pH mais adequado (Coelho 1999; Coelho e Carvalho, 2006).

Um bom concentrado para bezerros deve ser palatável; deve ter níveis adequados de proteína 18% (sem uréia); nível de energia de 80% de NDT; valores de FDA <6% e > 20% devem ser evitados; valores de FDN utilizados de 15 a 25% (valores maiores podem ser utilizados quando a fonte de FDN vem de casca de soja, polpa de beterraba, caroço de algodão ou aveia), deve apresentar níveis de vitaminas e minerais recomendados no NRC 2001; deve ser constituído de alimentos de boa qualidade, como milho, o farelo de soja, o farelo de algodão, leite em pó etc, e deve ter textura grosseira (Davis e Drackley, 1998; Coelho e Carvalho, 2006).

As instalações para bezerros devem ser econômicas, ter boa ventilação, boa insolação e proporcionar conforto aos animais.

A ventilação é fundamental para o sucesso da criação dos bezerros, pois esses animais estão susceptíveis a infecções causadas por bactérias e vírus, agentes patogênicos disseminados por aerossóis produzidos por espirros e tosses. A ventilação adequada promove a remoção de gases e umidade que podem causar estresse nos animais, reduzindo a resistência às doenças e provocando problemas respiratórios (Nordlund, 2008; Coelho e Carvalho, 2006).

Conforto significa acesso a água e a alimentos de qualidade, ambiente seco e controle de ecto e endoparasitas, e de temperatura. É importante minimizar a umidade no ambiente, pois, quando bem nutridos, secos e com boa cama, os bezerros são capazes de tolerar baixas temperaturas. Quando estão molhados, o aquecimento dos pêlos e das camas diminui, tornando os bezerros susceptíveis ao resfriamento. A drenagem do local de criação, a escolha dos materiais para as camas e a frequência de limpeza das camas são importantes para reduzir a umidade das instalações (Davis e Drackley, 1998; Coelho e Carvalho, 2006; Nordlund, 2008).

O uso de abrigos individuais com a separação física dos bezerros promove a redução da disseminação de doenças pela diminuição do contato dos bezerros com agentes patogênicos. A individualização aumenta o poder de observação sobre o animal, facilitando a identificação imediata dos primeiros sinais de doenças. Os abrigos individuais devem possuir camas, e

quando deitados os bezerros não devem apresentar os membros facilmente visualizados. Desta forma eles terão um abrigo contra o frio proporcionado pelo feno no entorno do corpo (Davis e Drackley, 1998; Coelho e Carvalho, 2006; Nordlund, 2008).

A individualização apesar dos grandes benefícios, também tem desvantagens. Os bezerros criados em grupo desenvolvem mais precocemente interações sociais importantes para o desenvolvimento do comportamento social e se exercitam mais (Davis e Drackley, 1998; Coelho e Carvalho, 2006).

Quando é necessária a apresentação do bezerro no momento da ordenha, não é possível individualizar os bezerros. Nesses casos, eles devem ser criados em piquetes, separados por faixa etária, para minimizar a ocorrência de doenças. O ideal seria a formação de lotes com diferentes faixas etárias: do nascimento a 30 dias, de 30 a 60, de 60 a 120 dias, e assim por diante (Coelho e Carvalho, 2006).

Até 30 dias, os maiores desafios para os bezerros são as diarreias e os problemas respiratórios, enquanto, de 30 a 120 dias, na maioria das vezes, são a tristeza parasitária e os problemas respiratórios. Os lotes de bezerros devem ser pequenos para garantir boa observação e minimizar a promiscuidade entre os animais. A recomendação é que estes lotes tenham, no máximo, oito animais até 90 dias e após esta idade 15 animais (Donovan, 1992; Davis e Drackley, 1998; McGuirk, 2004; Coelho e Carvalho, 2006).

É importante enfatizar que a densidade tem forte impacto sobre a saúde dos animais. Quanto menor a idade dos animais, mais baixa deve ser a densidade nos lotes de bezerros. Deve-se atentar ainda nos casos de ordenhas com bezerro ao pé para as salas de ordenha, pois, durante as ordenhas, normalmente todos os bezerros são levados a um mesmo curral, onde permanecem por uma a duas horas em instalações que não oferecem boas condições de conforto. Nesses currais, geralmente não há separação por faixa etária; com a aglomeração de um grande número de bezerros, as instalações têm pequena movimentação de ar e permanecem freqüentemente úmidas, criando ambiente propício à propagação de doenças.

Para a redução da mortalidade é necessário o monitoramento constante dos animais. Um bom momento para avaliação dos animais é pela manhã durante o fornecimento de alimentos. Um dos primeiros sintomas de que o animal não está bem é a queda no consumo de alimentos e a mudança no comportamento de ingestão. Bezerros com problemas respiratórios ingerem mais devagar o leite e permanecem mais tempo em pé. A observação do comportamento dos animais desta forma pode auxiliar na detecção precoce de problemas e ser uma importante ferramenta para minimizar a mortalidade dos animais.

Os custos de criação diminuem significativamente quando se faz o desaleitamento do bezerro. O leite ou o sucedâneo é freqüentemente mais caro que o concentrado ou o feno e os gastos com mão-de-obra também são maiores quando os bezerros recebem dieta líquida. Entretanto, deve-se ressaltar que o desaleitamento causa redução no consumo de matéria seca (12% de matéria seca do leite x volume de leite fornecido) e estresse. O déficit de energia e proteína pode causar balanço energético negativo se o consumo de concentrado não aumentar rapidamente. Além disso, a dieta líquida é uma experiência prazerosa para o bezerro e o fim desta experiência ocasiona estresse no bezerro. A passagem do tratamento individual para o manejo em grupo e as mudanças na dieta (oferecimento de outro concentrado e/ou feno) também provocam estresse nos bezerros. Desta forma, deve-se sempre, ao desaleitar os bezerros, criar boas condições sanitárias para minimizar o surgimento de doenças e aumentar as observações dos bezerros para detectar precocemente as doenças (Davis e Drackley 1998 ; Coelho e Carvalho, 2006).

Após o desaleitamento, os bezerros devem ser mantidos nos bezerreiros por pelo menos dez dias para minimizar o estresse provocado pelo desaleitamento para o aumento do consumo de alimentos sólidos. Para reduzir o estresse ocasionado pela mudança da vida individualizada para a coletiva, os animais devem sempre ser introduzidos em um novo lote com outros bezerros que também estavam no bezerreiro (Davis e Drackley, 1998, Coelho e Carvalho, 2006).

As diarreias são a causa mais freqüente de mortalidade dos bezerros; ocorrem freqüentemente na primeira e segunda, semanas de vida e são causadas por vírus, bactérias, protozoários e outros agentes patogênicos. A transmissão dos agentes causadores é geralmente oral-fecal e freqüentemente os bezerros são expostos a fezes ainda na maternidade quando em contato com as instalações sujas ou quando vão mamar o colostro, e tetos e úbere estão sujos de fezes ou ainda se contaminam no bezerreiro. A melhor forma de minimizar este problema é reduzir as chances de contaminação, realizando-se a cura imediata do umbigo, a colostragem adequada, a higiene dos alimentos e dos vasilhames dos bezerros, a higiene das instalações dos bezerros e dos tratadores dos bezerros (Coelho e Carvalho, 2006).

Na ocorrência de diarreia, deve-se, proceder à fluidoterapia imediata para repor os fluidos perdidos, restabelecer o equilíbrio ácido-básico e fornecer nutrientes e energia aos bezerros. O ideal é o fornecimento dos fluidos assim que os primeiros sintomas de diarreia aparecem, pois nesta fase é possível fazer a reposição dos fluidos pela via oral (Coelho e Carvalho, 2006).

O fluido não supre as exigências de energia e proteína do bezerro e, por isso, é necessário o contínuo fornecimento de leite. Os antibióticos só devem ser utilizados sob prescrição do médico veterinário e sua administração deve ser feita via parenteral (Coelho e Carvalho, 2006).

Considerações finais

A saúde, o crescimento e a produtividade dependem das práticas de nutrição e manejo. Cada bezerra que nasce representa uma oportunidade de melhoramento genético e expansão do rebanho. Desta forma, o crescimento deve ser otimizado e os problemas de saúde minimizados para que estes objetivos sejam alcançados.

1. Referências

2. ANDERSON, K.L; NAGARAJA, T.G; MORRIL, J. L. Ruminal metabolic development in calves weaned conventionally or early. *Journal Dairy Science*, v. 70, p. 1000-1005, 1987.
3. BESSER, T.E; GAY, C. C, MCGUIRE, T. C; EVERMANN J. F. Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into the intestinal lumen. *J Virology*, v. 62: 2238-2242, 1988.
4. BLUM, J.W; HAMMON, H. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livestock Production Science*, v. 66, 151-159, 2000.
5. BROWNLEE, A. The development of rumen papillae in cattle fed on different diets. *British Veterinary Journal*, v. 112, p.369–375, 1956.
6. CLARE, D. A; SWAISGOOD, H. E. Bioactive milk peptides: A prospectus. *Journal Dairy Science*, v. 83 p. 1187- 1195, 2000.
7. COELHO, S. G. *Ganho de peso e desenvolvimento do estômago de bezerros desaleitados aos trinta dias de idade e alimentados com concentrado e com ou sem feno*. 1999. 123 p. Tese (Doutorado em Nutrição Animal) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.
8. COELHO S. G; CARVALHO, A. U, 2006. Criação de animais jovens, In: *Do campus para o campo*. Ed Neiva ACGR, Neiva JNM. Fortaleza, Expressão Gráfica e Editora, capítulo 6.
9. COVERDALE, J.A; TYLER, H.D; QUIGLEY, J. D III; BRUMM, J.A. Effect of various levels of forage and form of diet on rumen development and growth in calves. *Journal Dairy Science*, v. 87, p. 2554-2562, 2004.
10. DAVIS CL & DRACKLEY JK. The development, nutrition, and management of young calf: Iowa: State University, 1998. 339 p.

11. DIAZ, M. C.; VAN AMBURGH, M. E, SMITH JM, et al. Composition of growth of Holstein calves fed milk replacer from birth to 105 kilogram body weight. *Journal Dairy Science*, v. 84, p. 830-842, 2001.
12. DONOVAN, G. A. 1992. Management of cow and newborn calf at calving. In *Large Dairy Herd Management*, ed. Van Horn HH. and Wilcox CJ. Champaign, IL: American Dairy Science Association. Capítulo 40.
13. DRACKLEY, J.K, 2005. Early growth effects on subsequent health and performance of dairy heifers. In: *Calf and heifer rearing*. Ed Garnsworthy, P.C, England, Nottingham University Press, capítulo 12.
14. DRACKLEY, J. K. Calf nutrition from birth to breeding. *Veterinary Clinics Food Animal*, v. 24, p. 55-86, 2008.
15. FOLEY, J. A, OTTERBY, D.E. Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: a review. *Journal Dairy Science*, v. 61, p.1033-1060, 1978.
16. GODDEN, S. Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics North America*, v.24, p. 19- 39, 2008.
17. GONZALEZ –JIMENEZ , E; BLAXTER, K. L. The metabolismo and thermal regulation of calves in the first month of life. *Bristh. Journal. Nutrition*, v. 16, p. 199-212, 1962.
18. JASTER, H.E. Evaluation of quality, quantity, and timing of colostrums feeding on immunoglobulin G1 absorption in Jersey calves. *Journal Dairy Science*, v. 88, p. 296-302, 2005.
19. KERTZ, A. F; REUTZEL, L. F; MAHONEY, J. H. Ad libitum water intake by neonatal calves and its relationship to calf starter intake, weight gain, feces score, and season. *Journal Dairy Science*, v. 67, p. 2964-2969, 1984.
20. KHAN, M. A.; LEE, H. J.; LEE, W. S.; KIM, H. S.; KI, K. S.; HUR, T. Y.; SUH, G. H.; KANG, S. J.; CHOI, Y. J. Structural Growth, Rumen Development, and Metabolic and Immune Responses of Holstein Male Calves Fed Milk Through Step-Down and Conventional Methods. *Journal Dairy Science*, v. 90, p. 3376-3387, 2007.
21. LE JAN C. Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Vet Research*, v. 27, p. 403-417, 1996.
22. LESMEISTER, L. E; HEINRICHS, A. J. Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves. *Journal Dairy Science*, v. 87, p. 3439-3450, 2004.
23. MCGUIRK, S. M. Trouble shooting calf health concerns. *Prooceedings of the 23th World Buiatrics Congress*, Québec, Canada, 2004.

24. MCGUIRK, S. M. E COLLINS, M. Managing the producton, storage, and delivery of colostro. *Veterinary Clinics North America*, v. 20, p.593-603, 2004.
25. MEE, J.F. Newborn dairy calf management. *Veterinary Clinics North America*, v.24, p. 1-17, 2008.
26. MULLER, L.D, ELLINGER, D.K. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *Journal Dairy Science*, v. 64, p. 1727-1730, 1981.
27. NATIONAL RESERCH COUNCIL. Nutrient Requirements of dairy Cattle. 6 ed. Washington: National Academy, 2001
28. NORDLUND, K.V. Pratical considerations for ventilating calf barns in winter. *Veterinary Clinics North America*, v.24, p.41-54, 2008.
29. OKAMOTO, M; ROBINSON; CHRISTOPHERSON, R. J; YOUNG, B.A. Summit metabolism of newborn calves with and without colostrums feeding. *Canadian Journal Animal Science*, v. 66, p. 937-944, 1986.
30. ORSKOV, E. R. Reflex closure of the oesophageal groove and its potential aplication in ruminant nutrition. *South African Journal Aninal Science*, v. 2, p. 169-176, 1972.
31. PRITCHETT, L.C; GAY, C.C; HANCOCK, D.D; BESSER, T.E. Evaluation of the hydrometer for testing immunoglobulin G1 concentration in Holstein colostrums. *Journal Dairy Science* v. 77, 1761-1767, 1994.
32. QUIGLEY, J.D III, DREWRY, J.J. Pratical considerations of transition cow and calf management. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre-and postcalving. *Journal Dairy Science*, v. 81, p. 2779-2790, 1998.
33. SCHRAMA, J.W; ARIELE, A.; VAN DER HEL, W. et al. Evidence of increasing termal requeriment in young, unapted calves during 6 to 11 days of age. *Journal Animal. Science*, v.71, p.1761-1766, 1993.
34. SIDNEY J, LYFORD JR. Growth and development of the ruminant digestive system. IN: THE RUMINANT ANIMAL DIGESTIVE PHYSIOLOGY AND NUTRITION. CHURCH, D.C. p.44 - 63,1988.
35. STOTT, G. H; FLEENOR, W. A; KLEESE, W. C. Colostral immunoglobulin concentration in two fractions of fisrt milking postpartum and five additional milkings. *Journal Dairy Science*, v 64, p. 459-465, 1981.
36. SUTTON, J. D; MCGILLIARD, A.D; JACOBSON, N.L. Functional development of rumen mucosa. I Absorptive ability. *Journal Dairy Science*, v.46, p. 426-436, 1963.

O SISTEMA RESPIRATÓRIO NA SANIDADE DE BEZERROS

Roberto Calderon Gonçalves

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Faculdade de Medicina Veterinária

Departamento de Clínica Veterinária

1. Introdução

Dentre os diversos fatores responsáveis pela baixa produtividade do rebanho bovino, as doenças respiratórias se encontram em situação de destaque, principalmente pelo alto índice de morbidade entre os animais (FARSHID et al., 2002; SNOWDER et al., 2006). A constante exposição do sistema respiratório aos microrganismos potencialmente patogênicos e as particularidades anatômicas de trato respiratório dos bovinos predispõe esta espécie às doenças inflamatórias pulmonares (MOSIER, 1997; RADOSTITS et al., 2002).

Entre as doenças respiratórias que acometem bovinos as pneumonias são as mais freqüentes, principalmente em animais jovens (AMES, 1997; HARTEL et al., 2004). Os episódios da doença, em geral, ocorrem até os dois anos de vida, sendo a maioria até o desmame (CROWE, 2001). Por serem uma das principais causas de perdas econômicas na cadeia produtiva bovina, a gestão sanitária dos rebanhos deve priorizar a promoção da saúde dos animais e prevenção da pneumonia (MAILLARD et al., 2006). Este artigo tem por objetivo discutir os principais conceitos envolvendo a etiologia, epidemiologia, patogenia e apresentação clínica das principais pneumonias que acometem bovinos. Também engloba os principais critérios de diferenciação entre as pneumonias, diagnóstico, tratamento e prevenção.

2. Mecanismos de defesa das vias aéreas

Sob condições normais um complexo mecanismo de defesa é acionado na tentativa de proteger as vias respiratórias desses animais da ação deletéria dos patógenos inalados. Entre os componentes do mecanismo de defesa das vias aéreas podemos destacar: i) a barreira física, caracterizada principalmente pela filtração aerodinâmica, o aparelho mucociliar e os reflexos de tosse e espirro; ii) os componentes secretórios, como o próprio muco e as substâncias solúveis que carrega (imunoglobulinas, antioxidantes, peptídeos catiônicos, lisozimas, peroxidases, etc); iii) a defesa celular, caracterizada principalmente pelos macrófagos alveolares (ACKERMANN e

BROGDEN, 2000; RADOSTITS et al. 2000). Apesar disso, quando os mecanismos de defesa pulmonar estão prejudicados, agentes patogênicos podem se estabelecer e iniciar um processo infeccioso (MOSIER, 1997).

3. Definição

Conforme dito anteriormente, entre as doenças respiratórias que acometem os bovinos, as pneumonias são as mais freqüentes e de maior gravidade, com quadros clínicos variando de crônicos até agudos e fatais. Nesta espécie as pneumonias de maior importância são as pneumonias intersticiais e as broncopneumonias (ANDREWS et al., 1992; RADOSTITS et al., 2002), sendo esta última responsável por 80% dos casos da doença (ANDREWS et al., 1992; REBHUN, 2000).

A pneumonia intersticial usual produz um padrão típico de lesão caracterizado por inflamação difusa do parênquima pulmonar. Geralmente ocorre devido a afecções de natureza não infecciosas causadas pela inalação de toxinas e alérgenos e/ou infecções virais isoladas (WISKE, 1985; COTRAN et al., 1999).

A broncopneumonia por sua vez é caracterizada por alteração inflamatória de brônquios, bronquíolos, parênquima pulmonar e pleura em decorrência da invasão pulmonar por agentes infecciosos, bacterianos ou virais, transportados pelo ar (RADOSTITS et al., 2002; GONÇALVES et al., 2001). É o problema respiratório mais freqüente em bezerros, com incidência da ordem de 8,7% (TAVERA et al., 1982) a 9,8% (CURTIS et al., 1985), podendo chegar a 15% (ANDREWS et al., 1981). No Brasil, registraram-se índices de broncopneumonia de 12,7% em bezerros criados em regime extensivo (BARROS et al., 1965/66) e de 12,27% nos atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ Botucatu – UNESP (GONÇALVES et al., 2001).

3. Etiologia

Nos bovinos a pneumonia possui etiologia multifatorial e parece ser precedida por um desequilíbrio na tríade de interação entre um ou mais agentes causais, em sua maioria vírus e bactérias, o sistema de defesa do hospedeiro e fatores ligados ao ambiente e ao manejo (BOWLAND e SHEWEN, 2000).

Entre os fatores ambientais e de manejo que favorecem a ocorrência da enfermidade estão a superlotação, mistura de animais de diferentes idades e níveis imunológicos no mesmo lote, calor ou frio excessivo, elevada umidade relativa, instalações com ventilação deficiente, concentrações elevadas de poluentes e patógenos

no ar, alimentação inadequada ou mudanças bruscas na dieta, doenças concorrentes, elevada carga parasitária e desmame (WALTNER-TOEWS et al., 1986; CALLAN e GARRY, 2002; SVENSSON e LIBERG, 2006).

As características anatômicas do pulmão dos bovinos parece ser um ponto fraco nesta espécie. A ausência de ventilação colateral interalveolar e interbronquiolar, a alta taxa de ventilação e a forte resistência ao fluxo de ar, no interior das vias aéreas inferiores, tornam os bovinos mais suscetíveis as doenças respiratórias (LEKEUX, 1994). Algumas dessas deficiências são mais proeminentes em animais jovens, principalmente bezerros de corte (VALARCHER e HÄGGLUND, 2006).

As condições antes mencionadas podem levar a quebra do equilíbrio entre o sistema imune e os agentes infecciosos em favor destes últimos, determinando a ocorrência da doença. Várias espécies de bactérias, vírus e micoplasmas, sozinhos ou em sinergismo, além de parasitas, são importantes agentes da pneumonia nos bovinos (Tabela 1) (FRASER, 1991; GONÇALVES, 1997; REBHUN, 2000; CARDOSO et al., 2002; RADOSTITS et al., 2002; MAILLARD et al., 2006; VALARCHER e HÄGGLUND, 2006).

Tabela 1: Principais microorganismos associados a pneumonias em bovinos.

<i>Vírus</i>	<i>Bactérias</i>	<i>Mycoplasmas</i>	<i>Parasitas</i>
Sincicial respiratório bovino (VSRB)	<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Mycoplasma dispar</i>	<i>Dictyocaulus viviparus</i>
Parainfluenza tipo 3 (PI-3)	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Mycoplasma bovirhinis</i>	Ascarídeos
Diarréia viral bovina (DVB)	<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Mycoplasma bovis</i>	
Herpesvirus tipo-1 (BHV-1)	<i>Streptococcus</i> sp.		
	<i>Fusobacterium necrophorus</i>		
	<i>Salmonella</i> sp.		
	<i>Escherichia coli</i>		

Vale ressaltar também que apenas a presença do agente infeccioso não determina a ocorrência das pneumonias, visto que muitos deles fazem parte da flora comensal do trato respiratório dos bovinos (WOLDEIHIWET et al., 1990). Outros fatores inerentes ao agente como a virulência e o nível de exposição são importantes para o desenvolvimento da doença (REBHUN, 2000).

4. Epidemiologia

Vários relatos clínico-patológicos e sorológicos têm demonstrado a presença dos agentes infecciosos capazes de provocar pneumonia no país.

Inquéritos sorológicos comprovam a presença do VDVb em vários estados brasileiros. Na região Sul a ocorrência de anticorpos foi de 23,4% a 73% no Rio Grande do Sul (KRAHL et al., 1997; RICHTZEINHAIN, 1997; QUINCOZES, et al., 2007) e de 67% no Paraná (RICHTZEINHAIN, 1997). Na região Sudeste a ocorrência foi de 39,5% a 78% em São Paulo (LANGONI et al., 1995; RICHTZEINHAIN, 1997), de 71% no Rio de Janeiro (RICHTZEINHAIN, 1997) e 61,47% a 75,13% em Minas Gerais (FIGUEIREDO et al., 1997; RICHTZEINHAIN, 1997). Na região Nordeste a frequência de anticorpos foi de 72,6% em Pernambuco (CASTRO et al., 1993), de 58,23% a 71,8% em Sergipe (MELO et al., 1997), de 27,56% no Maranhão (SOUZA et al., 2008) e de 14,64% a 56% na Bahia (RIBEIRO et al., 1987; NORONHA et al., 2003). Na região Centro-Oeste a presença de anticorpos foi de 52,17% em Goiás (GUIMARÃES et al., 2001) e de 43,6% a 84% no Mato Grosso do Sul (PELLEGRINI et al., 1997; RICHTZEINHAIN, 1997).

Com relação ao BHV-1, animais soropositivos foram encontrados em 1.886 (94,7%) rebanhos e em todos os 21 estados da federação (RICHTZENHAIN et al., 1999). Na Região Centro Oeste a ocorrência do BHV-1 no estado de Goiás foi 51,9% a 85,7% (ANUNCIAÇÃO et al., 1981; VIEIRA et al., 2003; BARBOSA et al., 2005) e de 52% a 66% na região do Pantanal (PELLEGRINI et al., 1997). Na região Sul do país o Rio Grande do Sul apresentou 44,3% a 81,7% dos animais sororeagentes (VIDOR et al., 1995; RAVAZZOLO et al., 1989; TEIXEIRA et al., 2001), enquanto que o Paraná apresentou de 41,9% a 50,8% de soropositividade (MÉDICE et al., 2000). Na região sudeste, São Paulo se destaca com 42,2% de animais reagentes (MUELLER et al., 1981).

O primeiro isolamento do PI-3 no Brasil ocorreu em São Paulo a partir de 25 amostras de pulmão de bovinos com doença respiratória (CANDEIAS et al., 1971).

Estudos sorológicos tem demonstrado ainda incidência de 84,1% de PI-3 em rebanhos de São Paulo, 68,5% na Bahia e de 34% a 97% no Rio Grande do Sul (CANDEIAS e RIBEIRO, 1970; CANDEIAS et al., 1971; WIZIGMANN et al., 1972; DAL PIZZOL et al., 1989; SARDI et al., 2002).

A infecção por BRSV está amplamente difundida pelo Brasil e estudos sorológicos indicam que o vírus já infectou mais de 95% dos bovinos do país com mais de três anos de idade, sendo que 70% dos bezerros se infectam no primeiro mês de vida (ARNS et al., 2003). A ocorrência de anticorpos já foi relatada no Rio Grande do Sul (17,3 a 81%), Paraná (80%), São Paulo (74%), Mato Grosso do Sul (57%), Minas Gerais (73%) e Rio de Janeiro (71%) (BARNIER, 1997; DRIEMEIER et al., 1997).

Com relação aos agentes bacterianos, entre os estudos realizados no Brasil o isolamento dos agentes foi realizado a partir de secreções das vias aéreas de bovinos portadores de pneumonia. Gonçalves (1987) submeteu bezerros portadores de broncopneumonia ao lavado traqueobrônquico e a partir do material colhido conseguiu isolar *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* sp., *Proteus mirabilis*, *Propionibacterium* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Alcaligenes* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterococcus* sp e *Streptococcus* α -hemolítico. Barros e colaboradores (1994), por sua vez, colheram secreções nasais de bezerros com broncopneumonia e obtiveram 90,4% de enterobactérias, 57,6% de cocos Gram-negativos, sendo 15,4% de culturas puras e 84,6% de culturas mistas. Quando colheram secreções brônquicas encontraram 19,2% de enterobactérias, 50% de cocos Gram-negativos, sendo 58,1% de culturas puras e 41,9% de culturas mistas.

A ocorrência de pneumonias provocadas por *Dictyocaulus viviparus* no Brasil atualmente é menos freqüente devido ao uso de vermífugos com alto poder residual e de grande ação contra larvas, mas mesmo assim é responsável por 11% dos casos clínicos de Pneumonia em bezerros atendidos do Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP, campus Botucatu (GONÇALVES et al., 1993). Cabe destacar também um surto ocorrido na região de Santa Maria, RS (SILVA et al., 2005), embora sejam poucas os relatos na literatura.

5. Impacto econômico

As enfermidades do trato respiratório resultam em significativas perdas econômicas devido à alta morbidade e mortalidade nos rebanhos. De maneira geral os custos adicionais são decorrentes de conversão alimentar ineficiente, perda de peso,

condenações de carcaças no abate, honorários profissionais e tratamento (FARSHID et al., 2002; SNOWDER et al., 2006).

Inúmeros pesquisadores têm se dedicado a estudar a fundo o impacto econômico das enfermidades respiratórias sobre a cadeia produtiva bovina. Um estudo realizado nos Estados Unidos mostrou uma incidência de 14,4% de doenças respiratórias nos rebanhos bovinos, e custos com o tratamento de animais doentes girando em torno de US\$ 15,57 por cabeça (NAHMS, 2000; SNOWDER et al., 2006). No Reino Unido, estima-se que até 1,9 milhões de bovinos são afetadas anualmente por doenças respiratórias gerando um custo de cerca de £ 54 milhões para a cadeia produtiva. Além disso, cerca de 157.000 bezerros morrem anualmente no Reino Unido devido a pneumonias e doenças relacionadas (REEVE-JOHNSON, 1999). Em toda a Europa, com um rebanho bovino de aproximadamente 90 milhões de cabeças, as perdas totais com doenças respiratórias extrapolam 576 milhões de euros (ROSENGARTEN e CITTI, 1999). Na província de Alberta no Canadá, Curch e Radostits (1981) encontraram que mais da metade das mortes corridas em rebanhos de bovinos de engorda são decorrentes de doenças respiratórias com perda estimada de 9,6 milhões de dólares ao ano.

No Brasil, apesar da alta incidência de doenças respiratórias nos rebanhos bovinos (BARROS et al., 1965,1966; GONÇALVES, 1997), ainda não existem relatos sobre custos atribuídos a ocorrência dessas enfermidades.

6. Patogenia

Basicamente, as pneumonias são provocadas pela reação inflamatória decorrente da penetração de um agente infeccioso no trato respiratório inferior. O processo pelo qual a doença se desenvolve varia entre os agentes e sua virulência, bem como a porta de entrada da infecção (RADOSTITS et al., 2002).

Quando bactérias são introduzidas por via aerógena provocam uma bronquite primária aguda que se dissemina até envolver o parênquima pulmonar circundante. A disseminação da lesão inflamatória pelos pulmões ocorre por continuidade mas também pela passagem de material infeccioso ao longo dos bronquíolos e vasos linfáticos. A propagação ao longo das vias aéreas, por sua vez, é favorecida pela tosse. O resultado de todo esse processo é a ocorrência de lesões pulmonares que variam de fibrinosas, necrosantes, caseosas a granulomatosas em função dos agentes envolvidos na doença. Quando a infecção bacteriana ocorre por via hematógena resulta em vários focos

sépticos que podem evoluir para abscessos pulmonares. A pneumonia ocorre quando os abscessos se rompem no interior das vias aéreas, disseminando-se como broncopneumonia secundária (REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002).

Os vírus geralmente são introduzidos por inalação e causam bronquiolite primária, disseminação para os alvéolos, hipertrofia e proliferação do epitélio alveolar e edema, culminando com espessamento do tecido intersticial e agregados linfocíticos ao redor de alvéolos, vasos sanguíneos e bronquíolos (REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002; VALARCHER e HÄGGLUND, 2006).

A fisiopatologia da pneumonia, independente do modo como se desenvolve a lesão, está embasada na interferência das trocas gasosas entre o ar alveolar e o sangue, levando a anoxia e hipercapnia, o que provoca taquipnéia ou dispnéia na dependência da quantidade de tecido respiratório lesado (REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002).

7. Sinais clínicos

A broncopneumonia é acompanhada por tosse úmida e dolorosa. Na pneumonia intersticial, a tosse é frequentemente seca, estridente e curta. A auscultação do tórax antes e após a tosse pode revelar sons crepitantes e ásperos sugerindo a presença de exsudato nas vias aéreas (HINCHCLIFF e BYRNE, 1991; GONÇALVES et al., 2001; RADOSTITS et al., 2002). A observação de taquipnéia, dispnéia mista, sons submaciços ou maciços à percussão e a auscultação de áreas aumentadas de ruído traqueobrônquico, broncobronquiolar rude e área de silêncio são sinais mais específicos de comprometimento do parênquima pulmonar (BELKNAP, 1993; CRANDELL, 1993; GONÇALVES et al., 2001; RADOSTITS et al., 2002). A deposição de secreções espessas nas vias aéreas determina modificações no fluxo de ar, provocando vibrações de tons mais graves, denominadas roncós (KOTTLIKOFF e GILLESPIE, 1984; GONÇALVES et al., 2001), ou mais agudos, nomeados sibilos (KOTTLIKOFF e GILLESPIE, 1984; STÖBER, 1993; GONÇALVES et al., 2001), identificando as bronquites (STÖBER, 1993). Secreção nasal pode ou não estar presente conforme a quantidade de exsudato nos bronquíolos e a existência ou não de inflamação do trato respiratório superior (WILSON e LOFSTEDT, 1990; STÖBER, 1993; GONÇALVES et al., 2001; RADOSTITS et al., 2002). O odor da respiração pode ser fétido devido ao cheiro de pus em decomposição em grandes quantidades nas vias aéreas (RADOSTITS et al., 2002).

Os achados clínicos incluem ainda inapetência, depressão, febre, relutância em se movimentar e evidência de dor torácica que pode estar associada à pleurite concomitante (RADOSTITS et al., 2002).

8. Diagnóstico e exames complementares

A diferenciação entre pneumonia intersticial e broncopneumonia baseia-se principalmente nos sinais clínicos que, isolados e, principalmente, em associação, demonstram a extensão do acometimento pulmonar (WILSON e LOFSTEDT, 1990; ANDREWS, 1992; STÖBER, 1993; REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002). De maneira geral, os sinais clínicos decorrentes de alterações apenas de interstício estão relacionados às pneumonias intersticiais, enquanto que na broncopneumonia, além dos sinais de interstício, estão presentes também sinais clínicos relacionados a alterações em nível bronquial (GONÇALVES et al., 1993).

Além dos dados clínicos, destacam-se alguns exames complementares que podem auxiliar no diagnóstico e diferenciação dos processos pneumônicos (GONÇALVES, 1997). O hemograma fornece informações esclarecedoras e pode ajudar a determinar se a infecção é viral ou bacteriana. O exame parasitológico é indicado no diagnóstico de verminose pulmonar, e as técnicas de diagnóstico por imagem, por sua vez, auxiliam na avaliação da gravidade das lesões pulmonares, efusões pleurais e aderências (REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002; GONÇALVES, 2004).

A lavagem traqueobrônquica fornece acesso ao trato respiratório inferior, permitindo a colheita de células, de material para cultura microbiológica e exames imuno-histoquímicos e, desta maneira, auxilia no diagnóstico do agente causal, determinação da gravidade da resposta inflamatória, prognóstico e tratamento. A biópsia pulmonar é indicada para obtenção de amostras teciduais para diagnóstico histológico, microbiológico e informações prognósticas, principalmente em casos de pneumonias difusas. Em surtos, em que o diagnóstico é duvidoso e há a necessidade de pesquisa etiológica, a necropsia permite a colheita de material para determinar o agente causal e a avaliar a eficácia dos tratamentos prescritos (REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002; GONÇALVES, 2004).

9. Tratamento

O tratamento das pneumonias em bovinos é baseado no controle da infecção, na manutenção da pressão intrapleurar, do fluxo de ar nas vias aéreas e dos mecanismos de limpeza traqueobrônquicos, além da conservação das trocas gasosas e a remoção de agentes irritantes. Vários recursos podem ser utilizados na tentativa de aumentar os índices de cura e reduzir os prejuízos, normalmente associando medicamentos para aliviar os sintomas, diminuir a inflamação e combater as infecções (MAZZUCHELLI et al., 1995).

A escolha do antibiótico depende da experiência do médico veterinário em casos anteriores e dos resultados do antibiograma (RADOSTITS et al., 2002). Preferencialmente os antimicrobianos devem alcançar rapidamente a corrente sanguínea e os tecidos pulmonares e manter-se elevados no local de ação por tempo satisfatório; apresentar amplo espectro de ação contra os principais agentes etiológicos da pneumonia em bovinos; se concentrar no fluido extracelular; não ser inativado na presença de secreções; e não ser tóxico (MAZZUCHELLI et al., 1995). Além disso, preferencialmente, devem ser de fácil utilização e com dosificações diárias únicas para facilitar o trabalho do tratador.

Muitos clínicos utilizam antiinflamatórios em conjunto com a terapia antimicrobiana. O objetivo é reduzir a febre, a resposta inflamatória pulmonar e prover a melhora sintomática por meio do retorno do apetite e disposição do animal (MAZZUCHELLI et al., 1995; REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002). O uso de broncodilatadores e mucolíticos também tem sido indicado por melhorar a atividade do aparelho mucociliar, auxiliando na depuração pulmonar e aliviando a dificuldade respiratória (REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002).

Em se tratando de pneumonia em bovinos, a instituição da terapia de suporte, quando necessária e a reparação de deficiências nas instalações são tão importantes quanto qualquer um dos tratamentos anteriores (REBHUN, 2000). A terapia de suporte deve incluir a provisão de oxigênio nos casos mais críticos (quando a hipóxia for grave), a instituição de nutrição parental ou oral forçada se o animal não estiver se alimentando e a reposição de eletrólitos. Os animais doentes devem ser mantidos em abrigos limpos, secos, ventilados, com temperatura e umidade adequados, confortáveis e livres de poeira. A alimentação deve ser palatável, sem pulverulência e a água fresca e abundante (RADOSTITS et al., 2002).

10. Prevenção

No controle das enfermidades respiratórias dos ruminantes as defesas orgânicas desempenham papel muito importante. As medidas sanitárias a serem adotadas visam, desta forma, manter essas defesas em sua máxima capacidade. Para este efeito deve-se:

- Garantir rigorosa higiene ambiental e evitar fatores de risco e condições estressantes como manipulações desnecessárias dos animais e superpopulação;
- Manter os animais em bom estado sanitário e combater sistematicamente as doenças intercorrentes;
- Garantir que os recém-nascidos recebam o colostro nas primeiras horas de vida e que, em seguida, sejam separados dos demais animais;
- Adequar as instalações de manejo e abrigo dos animais;
- Separar os animais em pequenos grupos de acordo com a idade;
- Favorecer a ventilação e remover dejetos das instalações, de modo a evitar umidade excessiva, temperatura fora da zona de conforto, correntes de ar e gases tóxicos;
- Manter a regularidade na dieta e fornecer alimentos palatáveis e em quantidade suficiente para atender as exigências dos animais;
- Identificar e isolar precocemente os animais doentes dos demais e monitorar o rebanho;
- Induzir e melhorar a imunidade adquirida específica do rebanho contra os principais agentes da pneumonia em bovinos;

Por fim, ter cuidado especial ao se adquirir animais de outros rebanhos de modo a evitar a introdução de novas doenças na propriedade (REBHUN, 2000; RADOSTITS et al., 2002; VALARCHER e HÄGGLUND, 2006).

11. Considerações finais

Em função da alta ocorrência de doenças respiratórias, especialmente as pneumonias, nos rebanhos brasileiros e as perdas econômicas expressivas inerentes a estas enfermidades, investir em manejo preventivo e no controle dos problemas respiratórios nos rebanhos é, indiscutivelmente, a maneira mais eficiente de evitar ou diminuir a incidência dessas doenças. Se tais medidas não forem suficientes e ainda assim a doença ocorrer, o diagnóstico precoce continua a ser a melhor arma na luta contra as doenças respiratórias, pois quando detectadas na fase inicial é possível

diminuir seu período evolutivo, sua disseminação, mortalidade e, sobretudo os custos com o tratamento.

12. Referências Bibliográficas

1. ACKERMANN, M.R.; BROGDEN, K.A. Response of the ruminant respiratory tract to Mannheimia (Pasteurella) haemolytica. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, v. 2, n.9, p.1079-88, 2000.
2. AMES, T.R. Dairy calf pneumonia.: the disease and its impact. **Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.**, v.13, n.3, p.379-391, 1997.
3. ANDREWS, A.H. Other conditions. In: ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; et al. **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. 1 ed. Oxford: Blackwell, p.759-767, 1992.
4. ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; et al. **Bovine medicine, diseases and husbandry of cattle**. 2 ed. Great Britain: Black Well Scientific Publications 1992. 188p.
5. ANDREWS, A.H.; PRITCHARD, D.G.; et al. Observations on a respiratory disease outbreak in weaned suckled calves. **Vet. Record**, v.108, p.130-142, 1981.
6. ANUNCIACÃO, A.V.M.; LEITE, R.C.; et al. Presença de anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (BHV-1) em bovinos nos estados de Minas Gerais, Goiás e Rio de Janeiro através da prova de hemoaglutinação passiva. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v. 41, n. 5, p. 433-441, 1989.
7. ARNS, C.W.; CAMPALANS, S.C.B.; et al. Characterization of bovine respiratory syncytial virus isolated in Brazil. **Braz. J. Med. Biolog. Res.**, v.36, 213-218, 2003.
8. BARNIER, J.C. *Isolamento e investigação sorológica do vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) no Brasil*. 1996. 95p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
9. BARROS, H.M.; LAMOUNIER, R.D.; et al. “Causa mortis” em bezerros *Bos indicus*, em regime de criação extensiva. **Boletim Indústria Animal**, v.23, p.199, 1965/66.

10. BARROS, M.S.R.M.; CASTRO, R.S. et al. Colheita de fluido brônquio-alveolar de bezerros através da traqueocentese transcutânea. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.46, p.41-49, 1994.
11. BELKNAP, E.B. Recognizing the clinical signs of BRSV infection. **Vet. Med.**, v.88, p.886-887, 1993.
12. BOWLAND, S.L.; SHEWEN, P.E. Bovine respiratory disease: Commercial vaccines currently available in Canada. **Can. Vet. J.**, v.41, p.33-48, 2000.
13. CALLAN, R.J.; GARRY, F.B. Biosecurity and bovine respiratory diseases. **Vet. Clin. of North Am. Food. Animal Practice**, p.57-77, 2002.
14. CANDEIAS J.A.N.; SUGAY, W.; et al. Isolamento do Myxovirus parainfluenza 3 em gado bovino do estado de São Paulo. **Rev. Saúd. Públ.**, v.5, p.207-212, 1971.
15. CANDEIAS, J.A.N.; RIBEIRO, L.C. Anticorpos inibidores da hemaglutinação para as cepas SF-4 e HA-1 de Myxovirus parainfluenza 3, em gado bovino do estado de São Paulo. **Arq.Inst. Biológico**, v.37, p.129-35, 1970.
16. CARDOSO, M.V.; SFORSIN, A.J.; et al. Importância do diagnóstico diferencial em um surto de pneumonia enzoótica bovina. **Arq. Inst. Biol.**, v.69, n.3, p.111-113, 2002.
17. CHURCH, T.L.; RADOSTITS, A.M. A retrospective survey of diseases of feedlot cattle in Alberta. **Can. Vet. J.**, v.22, p.27-30, 1981.
18. COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; et al. **Robbins: Pathologic Basis of Disease**. Philadelphia: WB Saunders, 1999. 1440p.
19. CRANDELL, R.A. Viral diseases of cattle. In: HOWARD, J.L. **Current veterinary therapy 3: food animal practice**. 3.ed. Philadelphia : Saunders, 1993. p.417-419.
20. CROWE, J.E. Influence of maternal antibodies on neonatal immunization against respiratory viruses. **Clin. Infect. Dis.**, v.33, p.1720-1727, 2001.

21. CURTIS, C.R.; ERB, H.N.; et al. Epidemiologic study of risk factors for calftooth scours and respiratory syndromes in commercial dairy herds. **J. Dairy Scie.**, v.68, Supl.1, p.198-199, 1985.
22. DAL PIZZOL, M. et al. Detecção de anticorpos para o vírus parainfluenza-3 em bovinos e ovinos no Rio Grande do Sul, Brasil, 1986. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v.17, p.59-64, 1989.
23. DRIEMEIER, D.; GOMES, M.J.P.; et al. Manifestação clínico-patológica de infecção natural pelo vírus respiratório sincicial bovino (BRSV) em bovinos de criação extensiva no Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.17, p.77-81, 1972.
24. FARSHID, M.; SHAHRIAR, E.G.; et al. Coinfection with bovine viral diarrhea virus and Mycoplasma bovis in feedlot cattle with chronic pneumonia. **Can. Vet. J.**, v.43, p.863-868, 2002.
25. FIGUEIREDO, H.C.P.; VIEIRA, P.R.; et al. Prevalência de anticorpos contra o vírus da diarréia bovina a vírus em Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, n. 4, p. 11-15, 1997.
26. FRASER, C.M. **Manual Merck de veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. 6. ed. São Paulo: Roca, 1991. 1803p.
27. GONÇALVES, R.C. **Estudo clínico e citológico em bezerros clinicamente sadios e portadores de broncopneumonia moderada e grave: o lavado traqueobrônquico como complemento diagnóstico**. 1997. 146p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
28. GONÇALVES, R.C. **Estudo da flora traqueobrônquica em bezerros clinicamente sadios e portadores de pneumonia, na região de Botucatu-SP**. 1987. 44p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
29. GONÇALVES, R.C. Semiologia do sistema respiratório. In: FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. 1 ed. São Paulo:Roca, cap.7, p.313-331, 2004.

30. GONÇALVES, R.C., LISBOA, J.A.N., et al. Doenças de bezerros. II Pneumonia. Aspectos clínicos e epidemiológicos na região de Botucatu - SP. In: **Anais** do Congresso Internacional de Medicina Veterinária em Língua Portuguesa. Salvador, Brasil. 1993. p.289. 447p.
31. GONÇALVES, R.C.; KUCHEMBUCK, M.R.G.; et al. Diferenciação clínica da broncopneumoniamoderada e grave em bezerros. **Ciênc. Rural**, v.31, p.263-269, 2001.
32. GUIMARÃES, P.L.S.N.; CHAVES, N.S.T.; et al. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina em bovinos, em regime de criação semi-extensivo. **Ciência Animal Brasileira**, v.2, n.1, p.35-40, 2001.
33. HARTEL, H.; NIKUNEN, S.; et al. Viral and bacterial pathogens in bovine respiratory disease in Finland. **Acta Vet. Scand.**, v.45, n.3-4, p.193-200, 2004.
34. HINCHCLIFF, K.W.; BYRNE, B. Clinical examination of the respiratory system. **Vet. Clin. North Am. Equine Practice**, v.7, p.1-26, 1991.
35. KOTLIKOFF, M.I.; GILLESPIE, J.R. Lung sounds in veterinary medicine: Part II. Deriving clinical information from lung sounds. **Compendium Continuing Education Practicing Veterinarian**, v.6, p.462-467, 1984.
36. KRAHL, M.; BRABA, A.C.; OLIVEIRA, L.G.; NETO, J.A.S.P.; PRADO, J.A.P.; ROSA, J.C.A.; WUNDER JÚNIOR, E. Pesquisa de anticorpos para leptospirose, rinotraqueíte infecciosa bovina e diarreia viral bovina em soros bovinos de propriedades rurais do Rio Grande do Sul. In: **Anais** do Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Gramado, Rio Grande do Sul. 1997, p. 174.
37. LANGONI, H.; PAES, A.C.; et al. Prevalence of BVD, IBR and PI 3 in bovine by ELISA test. In: **Anais** da Sociedade Brasileira de Virologia, Ribeirão Preto, São Paulo. 1995 n. B43.
38. LEKEUX, P. Síndrome respiratória bovina: uma perspectiva européia. In: **Proceedings** of XVIII World Buiatrics Congress. Bolonha, Itália, 1994. p.7-13. 48p.

39. MAILLARD, R.; ASSIE, S. et al. Respiratory disease in adult cattle. In: **Proceedings** of XXIV World Buiatrics Congress. Nice, France. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/maillard.pdf?LA=1>
40. MAZZUCHELLI, F.; RODRIGUEZ, M. Patologia respiratória del ternero em cría intensiva : pautas básicas para su tratamiento y prevención. **Med.Vet.**, v. 12, n. 9, p.506 - 512, 1995 .
41. MÉDICI, K.C.; ALFIERI, M.A.; et al. Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. **Ciên. Rural**, v. 30, n. 2, p. 347-350, 2000.
42. MELO, C. B.; OLIVEIRA, A.M.; et al. Prevalência de anticorpos contra herpesvírus bovino 1, vírus da diarreia bovina a vírus e vírus da leucose enzoótica bovina em bovinos do Estado do Sergipe, Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, n. 2, p. 160-161, 1997.
43. MOISER, D.A. Bacterial Pneumonia. **Vet. Clin. North Am.Food An. Pract.**, v.13, n.3, p.483-493, 1997.
44. MUELLER, S.B.K.; IKUNO, A.A.; et al. Prevalência de anticorpos contra o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em bovinos do Estado de São Paulo. **O Biológico**, v.47, n.2, p.55-59, 1981.
45. NAHMS. 2000. Feedlot '99 Part II: Baseline Reference of Feedlot Health and Health Management. USDA, APHIS, National Animal Health Monitoring System. Available: <http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nahms/feedlot/#feedlot99>
46. NORONHA, R.P.; CAMPOS, G.S.; et al. Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em bovinos jovens. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.424-430, 2003.
47. PELLEGRIN, A.O; SERENO, J.R.B; et al. Soropositividade para o vírus da diarreia viral bovina e herpes virus bovino tipo 1 em vacas Zebu no Pantanal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.49, n.3, p. 375-377, 1997.

48. QUINCOZES, C.G.; FISCHER, G.; HUBNER, S.O.; VARGAS, G.D'AVILA.; VIDOR, T.; BROD, C.S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Ciências Agrárias**, v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.
49. RADOSTITS, O.M., BLOOD, D.C., et al. **Veterinary medicine: a textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
50. RAVAZOLLO, A.P.; DALPIZZOL, M.; et al. Evidência da presença de anticorpos para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos em bovinos de alguns municípios do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 1986. **Arqui. Facul. Vet. – UFRGS**, v. 17, p. 89-95, 1989.
51. REBHUN, W.C. **Doenças do Gado Leiteiro**. 1. ed. São Paulo: Editora Roca, 2000. 462p.
52. REEVE-JOHNSON, L. The impact of Mycoplasma infection in respiratory disease of cattle in Europe. In: STIPKOVITS, L.; ROSENGARTEN, R.; FREY, J. 1 ed. **Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genitics**, v.3. Brussels: European Commission, p.18-31, 1999.
53. RIBEIRO, M.B; GALVÃO, C.L; et al. Infecções pelo vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvovaginite pustular infecciosa, diarreia viral bovina e parainfluenza 3, detectados por meio de avaliação sorológica no Estado da Bahia. Salvador, **EMBRAPA - Boletim técnico**, n.11, 1987.
54. RICHTZENHAIN, L. J. Em busca de respostas. **Revista Criadores**, n. 808, p. 40, 1997.
55. RICHTZENHAIN, L. J.; ALFIERI, A. A.; et al. Pesquisa de anticorpos séricos contra o herpesvírus bovino tipo 1 em fêmeas bovinas de propriedades com histórico de problemas reprodutivos, localizadas em 21 estados brasileiros. **Arq.. Inst. Biológico**, v. 66, supl., p. 127, 1999.
56. ROSENGARTEN, R.; CITTI, C. The role of ruminant mycoplasmas in systemic infection. In: STIPKOVITS, L.; ROSENGARTEN, R.; FREY, J. **Mycoplasmas of**

ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics

Brussels: European Commission, v.3, p.14-17, 1999.

57. SARDI, S.I.; CAMPOS, G.S.; et al. Detecção de anticorpos contra o vírus da parainfluenza bovina tipo 3 (PI-3) e o vírus da leucose bovina (VLB) em bovinos de diferentes municípios do Estado da Bahia, Brasil. **R. Ci. Méd. Biol.**, v. 1, n. 1, p. 61-65, 2002.
58. SILVA, M.C.; BARROS, R.R.; et al. Surto de dictiocaulose em bovinos no município de Santa Maria, RS, Brasil. **Cien. Rural**, v.35, n.3, p.629-632, 2005.
59. SNOWDER, G.D.; VAN VLECK, L.D.; et al. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic factors. **J. Anim. Sci.**, v. 84, p.1999-2008, 2006.
60. SOUSA, V.E.; CHAVES, N.P.; et al. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados na bacia leiteira da ilha de São Luís-MA. In: **Anais do 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. Gramado, Rio Grande do Sul, 2008.
61. STÖBER, M. Aparelho respiratório. In: DIRKSEN, G., GRÜNDER, H.D., STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.139-165.
62. SVENSSON, C.; LIBERG, P. The effect of group size on health and growth rate of Swedish dairy calves housed in pens with automatic milk-feeders. **Prev. Vet. Med.**, v.73, p.43-53, 2006.
63. TAVERA, E.T.; TAVERA, F.T.; et al. Patologia y bacteriologia de pulmones neumónicos de becerros. **Veterinaria Mexico**, v.13, p.131-140, 1982.
64. TEIXEIRA, M.F.B.; ESTEVES, P.; et al. ELISA de bloqueio monoclonal para o diagnóstico sorológico ELISA de bloqueio monoclonal para o diagnóstico sorológico de infecções pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1). **Pesq. Vet. Bras.**, v.21, n.1, p.33-37, 2001.

65. VALARCHER, J.F.; HÄGGLUND, S. Viral respiratory infections in cattle. In: **Proceedings of XXIV World Buiatrics Congress**. Nice, France. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/valarcher.pdf?LA=1>
66. VIDOR, T.; HALVEN, D.C.; et al. Herpes bovino tipo 1 (BHV-1): I. Sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. **Ciêñ. Rural**, v. 25, n. 3, p. 421-424, 1995.
67. WALTNER-TOEWS, D.; MARTIN, S.W. et al., A field trial to evaluate the efficacy of a combined rotavirus-coronavirus/*Escherichia coli* vaccine in dairy cattle. **Can. J. Comp. Med.**, v.49, p.1-9, 1985.
68. WIKSE, S.E. Feedlot cattle pneumonia. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v.1, p.288-310, 1985.
69. WILSON, J.H.; LOFSTEDT, J. Alterations in respiratory function. In: SMITH, B. **Large animal internal medicine: diseases of horses, cattle, sheep and goats**. St. Louis: C.V., v.1, p.47-99, 1990.
70. WIZIGMANN, G.; VIDOR T.; et al. Investigações Sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus da diarreia a vírus-enfermidade das mucosas dos bovinos, no estado do Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desidério Finamor”**, v.1, p.52-58, 1972.
71. WOLDEHIWET, Z.; MAMACHE, B.; et al. The effects of age, environmental temperature and relative humidity on the bacterial flora of the tract respiratory upper in calves. **Br. Vet. J.**, v.146, p. 211-218, 1990.

DIFERENÇAS FISIOLÓGICAS ENTRE BUBALINOS E BOVINOS: INTERFERÊNCIA NA PRODUÇÃO

Bastianetto, E¹., Barbosa, J. D.²

Universidade Federal de Minas Gerais e Universidade Federal do Pará

1 Aluno do Curso de Doutorado em Ciência Animal da Escola de Veterinária da UFMG

2 Professor do Centro Agropecuário, Departamento de Ciência Animal da UFPA

Resumo

Apesar das espécies bovina (*Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*) e bubalina (*Bubalus bubalis*) apresentarem semelhanças fenotípicas e anatômicas, cada espécie possui peculiaridades fisiológicas decorrentes do processo evolutivo que passaram nos seus ambientes de origem. Atualmente a bubalinocultura cresce com maior intensidade nos países localizados em áreas tropicais, dado a maior capacidade adaptativa e produtividade dos búfalos frente aos bovinos nestas áreas.

Introdução

A criação de búfalos vem crescendo em todo o Mundo (FAO, 2006). A espécie bubalina ocupa um relevante papel na produção de alimento nos países em desenvolvimento, localizados em sua maioria nas áreas tropicais. Assumem também um relevante papel no desenvolvimento social e econômico na Índia, Paquistão, Filipinas, Vietnam, Malásia e Tailândia. Atualmente a bubalinocultura está em significativa expansão em muitos países do mundo (Borghese, 2005).

A participação da espécie bubalina na produção total de leite no mundo aumentou de 10,08 por cento em 1995 para 12,23 por cento em 2005 (Tab. 1).

Tabela 1. Produção mundial de leite por espécie (milhões de ton.), 1995 – 2005.

Espécie	Produção de Leite			Crescimento (%)	Participação (%)
	1995	2000	2005		
Bovina	464.432	491.235	530.720	14,27	84,20
Bubalina	54.423	67.401	77.083	41,64	12,23
Caprina	11.743	11.656	12.435	5,89	2,00
Ovina	7.989	8.063	8.571	7,29	1,40
Camelo	1.229	1.274	1.311	6,67	0,20
Total	539.816	579.629	630.120	16,73	100,00

Fonte: Zoccal, 2005.

O búfalo é considerado por vários autores um animal de triplo propósito, por estar adaptado a produção de leite, carne e trabalho. Ranjhan (2007) considera o búfalo um animal de relevância sócio econômica na Ásia, dado a sua inserção nos sistemas de

produção de alimento em áreas pobres garantindo segurança alimentar e estabilidade econômica.

A maioria dos búfalos é criada em área tropical caracterizadas por apresentar períodos secos e chuvosos bem delimitados. Alguns autores (Kamal et al, 1993) afirmam que nestas condições os búfalos se desenvolvem melhor que os bovinos em função da maior capacidade de aclimação, resistência às intempéries ambientais, adaptação em ambientes pantanosos e principalmente por possuir maior capacidade de digerir forragens com maior teor de fibra bruta. Para que os búfalos demonstrem esta maior capacidade de produção nas regiões tropicais é importante disponibilizar condições ambientais semelhantes a aquelas em que a espécie foi selecionada, com sombreamento para reduzir a incidência radiação solar diretamente pele dos animais e água para ingestão em abundância.

Dentre os fatores de maior relevância que sustentam o crescimento da população bubalina mundial, destaca-se: as características químicas do leite e da carne de búfalo, a maior resistência, às infecções parasitárias, especialmente carrapatos da espécie *Boophilus microplus*, a intoxicações por plantas tóxicas (Barbosa *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2004), ao desenvolvimento de patologias comumente observadas em bovinos, infecções no trato reprodutivo da fêmea e na glândula mamária, indigestões e docilidade para a produção e trabalho.

A maior resistência dos búfalos a algumas patologias permite aos produtores que eliminem ou reduzam a utilização de pesticidas e medicamentos, isto resulta na possibilidade de produzir leite e carne ausentes de resíduo de medicamentos com maior facilidade em relação aos bovinos

As principais diferenças até então conhecidas de âmbito fisiológico que exercem interferência direta sobre a produção bubalina estão no trato reprodutivo, digestivo, termoregulatório e aparato mamário. Estas diferenças são facilmente compreendidas quando analisadas de forma contextual com a origem tropical e temperada da espécie bubalina (paralelos 2° S e 31° N da linha equatorial no continente Asiático)(Campanile, 2002).

Estas diferenças são positivas para a sobrevivência dos animais mas podem atuar de forma negativa na cadeia de derivados lácteos e cárneos da espécie. Serão apresentadas a seguir as características fisiológicas da espécie bubalina, sempre em comparação com a bovina, e suas implicações.

Reprodução

A estacionalidade reprodutiva dos búfalos é sem dúvida a característica fisiológica que exerce o maior impacto econômico na atividade. A concentração dos partos das búfalas nos meses de março a junho na região Sudeste do território brasileiro, área de alto poder aquisitivo e demanda dos derivados lácteos, determina a concentração da produção de leite até o mês de setembro com ausência da matéria-prima nos meses festivos de verão (Bastianetto *et al.*, 2005). Dado o forte impacto econômico que a estacionalidade impõe ao mercado, associado à demanda de animais geneticamente superiores, os estudos da fisiologia reprodutiva bubalina lideram as pesquisas nos principais centros presentes por todo o mundo.

A espécie bubalina manifesta um comportamento reprodutivo caracterizado pelo aumento da fertilidade com a diminuição das horas de luz do dia (poliétrica estacional de dia curto), com maior intensidade nos locais distantes ao norte ou sul da linha equatorial. A natureza selecionou, em áreas tropicais ao norte do equador, as búfalas que pariam em época favorável para a criação do bezerro e retorno da atividade reprodutiva. O menor período de lactação e maior tempo de repouso entre lactações (respectivamente, um mês e dois meses) permite a búfala acumular uma maior quantidade de reservas corporais para utilizar na lactação seguinte. Os búfalos manifestam estacionalidade mesmo quando estão em locais com disponibilidade de alimento durante todo o ano. A variação na concentração sanguínea de melatonina e determinada pela quantidade diária de luz solar, esta variação é o sinal endócrino que sinaliza para os búfalos a época do ano. (Zicarelli *et al.*, 1997)

O aumento na concentração plasmática de melatonina após o pôr do sol e menor em indivíduos menos sensíveis ao fotoperíodo. A alta repetibilidade desta característica permite supor que esta é uma característica hereditária e que possa ser utilizada como ferramenta genética para a formação de rebanhos com menor estacionalidade reprodutiva. Os machos, mais que as fêmeas, acentuam esta característica com o avançar da idade.

As novilhas não apresentam estacionalidade reprodutiva marcante e podem ser colocadas com um reprodutor jovem na primavera e no verão. Baruselli (1999) descreveu as seguintes técnicas de manejo que auxiliam a distribuição de partos ao longo do ano:

- Colocar as novilhas em reprodução na Primavera
- Retirar o touro do lote de búfalas paridas no inverno (Junho, Julho e Agosto) e recolocar na primavera.

A disponibilidade de forragem nas áreas tropicais ao sul da linha equatorial

ocorre no período em que as horas de luz do dia aumentam (primavera e verão), ao contrário do que ocorre no ambiente em que as búfalas foram selecionadas. Uma búfala que inicia uma gestação no princípio do inverno de um ano irá parir no outono do ano seguinte. (período médio de gestação de 315 dias). A necessidade de alterar o calendário natural de partos das búfalas para satisfazer a maior demanda comercial de Mozzarella na primavera e no verão causam perdas na fertilidade do rebanho. Estas perdas variam entre propriedades que utilizam programas de desestacionalização há mais tempo em relação aos rebanhos que iniciaram recentemente (15% vs 30%, respectivamente)

Inseminação artificial

Atualmente é possível e economicamente viável a implantação de um programa de inseminação artificial (IA) em um rebanho de búfalos. Existem disponíveis no mercado o sêmen de búfalos brasileiros e de outros países. Um fator limitante para a inseminação artificial nas búfalas é a detecção do cio, falhas na detecção do momento correto de inseminar a búfala diminui a fertilidade do rebanho.

A inseminação artificial com tempo fixo, protocolo de inseminação artificial Ovsynch, elimina a necessidade de visualizar a manifestação de cio das búfalas e concentra todo o processo de inseminação artificial em 10 dias. As búfalas pluríparas (búfalas que pariram mais de uma vez) apresentam uma resposta melhor (maior percentual de animais gestantes) a este tratamento hormonal quando com parada com as primíparas (búfalas ao 1º parto). Para alcançar resultados satisfatórios com esta metodologia (mais de 50% de prenhes na 1ª IA) o grupo de búfalas a ser inseminado apresenta as seguintes características:

Características físicas das búfalas necessárias para otimizar os resultados da IA:

- Escore corporal (BCS) > 3,5 (escala 1 – 5),
- Terem parido no mínimo a 40 dias antes da data programada para a IA,
- A IA deve ser realizada no inverno (estacionalidade reprodutiva)
- Sincronizar somente búfalas pluríparas

Nutrição

Os bubalinos apresentam um trato gastrointestinal anatomicamente semelhante ao da espécie bovina mas com modificações no volume e proporção de cada segmento.

O comprimento total do trato digestivo dos búfalos tipo rio (2n=50) é de 60 metros. O intestino, que mede 40 metros, e o ceco são menores no búfalo em relação ao bovino. O volume do complexo rúmen, retículo, omaso e abomaso é maior no búfalo,

onde o rumem ocupa 88% do volume total. No búfalo o rúmen apresenta capacidade de armazenamento de alimento até 10% a mais que o bovino, já o omaso e abomaso são menores. A frequência ruminal nos búfalo é também inferior, o que determina uma menor taxa de passagem do alimento com maior tempo de retenção e ação da população microbiana sobre a fibra alimentar que compões as forragens. O ph ruminal é ligeiramente ácido apresentando variação em função da alimentação oferecida ao animal, a produção de saliva é significativamente maior nos bubalinos em relação ao bovinos zebuínos e sua composição é bastante semelhante mas com uma concentração de cloro inferior.

Vários estudos foram realizado na Índia para estabelecer a eficiência na utilização de nutrientes (carboidratos e proteínas) de bovinos e bubalinos. Foi estabelecido que obúfalo apresenta uma maior capacidade de aproveitamento dos alimentos fibrosos em relação aos zebuínos (5 a 8%) e também das fontes de nitrogênio não protéico.

A maior capacidade do búfalo em digerir a fibra dos alimentos em relação aos ovinos ocorre somente quando o alimento oferecido apresenta a uma alta concentração de FDA (35,5%) em dietas com mais de 70% de forragem na matéria seca. Esta maior capacidade em utilizar forragens ricas em parede celular não pode ser considerada na nutrição da búfala em lactação, tendo em vista a necessidade de reduzir a proporção forragem:concentrado para satisfazer as necessidades produtivas (Zicarelli, 2001).

• Manutenção

Sugere-se utilizar os mesmos valores de exigência nutritiva para manutenção descrita para a espécie bovina pelo I.N.R.A. (1998), tendo em vista a escassez de pesquisas sobre este assunto para a búfala.

Tabela 02 Exigência diária de manutenção (I.N.R.A. 1998)

Exigência	Formulas
Energia	NDT = $(1,4 + 0,006 \times \text{kg de peso vivo})/1,3$ ou NDT = 0,64 x para cada 100 kg de peso vivo
Proteína	PB (g) = $0,85 \times \text{kg de peso vivo}$ PD (g) = $0,60 \times \text{kg de peso vivo}$ PDI (g) = $0,50 \times \text{kg de peso} + 95$
Ca	Ca (g) = $6,5 \times (\text{kg de peso}/100)$
P	P (g) = $5,0 \times (\text{kg de peso}/100)$

Institut National de la Recherche Agronomique (1988) – Alimentation des bovins, ovins & caprins – I.N.R.A., Paris.

A quantidade de energia necessária para a manutenção das búfalas aumenta em 10% quando estão em estabulação livre e 20 a 60% quando estão a pasto. A quantidade

de energia necessária para a manutenção da búfala a pasto varia com a inclinação do terreno e disponibilidade de pasto, quanto maior a inclinação e menor a disponibilidade de pasto maior será a quantidade de energia necessária para a manutenção.

- **Produção de leite**

As búfalas em lactação apresentam características fisiológicas semelhantes aos animais de dupla aptidão, produzem quando o alimento fornecido é suficiente para cobrir as exigências de manutenção e produção. A ingestão de alimentos é regulada pela qualidade do alimento e produtividade, quanto maior a produtividade de uma búfala maior será a exigência e ingestão de alimento.

O arração da búfala em lactação é baseado no volume e na composição do leite produzido. A dieta deve ser ajustada frequentemente para acompanhar a produtividade e as variações da composição do leite. Um grupo de búfalas em produção não deve ser dividido em função da produtividade ou distância do parto durante a lactação. O fornecimento de uma dieta balanceada *ad libitum* (a vontade) com concentração de nutrientes um pouco maior que o calculado para todas as búfalas em lactação permite a manifestação do potencial genético de todos os animais e suaviza a queda na produtividade que ocorre normalmente após o terceiro mês de lactação.

Considerando a grande variação que ocorre na composição do leite da búfala ao longo da lactação, é indispensável a padronização do leite em uma determinada composição para calcular as exigências nutricionais de um grupo de búfalas em lactação. Para isto foi construída uma tabela com os fatores de correção que padronizam um volume de leite de composição variada em um volume com composição padronizada em 7,0% de gordura (G) e 4,2% de proteína (P).

**FATORES DE CORREÇÃO PARA A CONVERSÃO DO LEITE DA BÚFALA EM UM LEITE PADRONIZADO EM
7,0 % DE GORDURA E 4,2% DE PROTEÍNA**

% de Gordura	4,00	4,5	5,00	5,50	6,00	6,50	7,00	7,50	8,00	8,50	9,00	9,50	10,00	10,50	11,00
% de Proteína															
3	0,671	0,710	0,749	0,788	0,828	0,867	0,906	0,945	0,984	1,024	1,063	1,102	1,157	1,180	1,219
3,2	0,686	0,726	0,765	0,804	0,843	0,882	0,922	0,961	1,000	1,039	1,078	1,118	1,172	1,196	1,235
3,4	0,702	0,741	0,781	0,820	0,859	0,898	0,937	0,976	1,016	1,055	1,094	1,133	1,188	1,212	1,251
3,6	0,718	0,757	0,796	0,835	0,875	0,914	0,953	0,992	1,031	1,071	1,110	1,149	1,204	1,227	1,266
3,8	0,734	0,773	0,812	0,851	0,890	0,929	0,969	1,008	1,047	1,086	1,125	1,165	1,204	1,243	1,282
4	0,749	0,788	0,828	0,867	0,906	0,945	0,984	1,024	1,063	1,102	1,141	1,180	1,219	1,259	1,298
4,2	0,765	0,804	0,843	0,882	0,922	0,961	1,000	1,039	1,078	1,118	1,157	1,196	1,235	1,274	1,314
4,4	0,781	0,820	0,859	0,898	0,937	0,976	1,016	1,055	1,094	1,133	1,172	1,212	1,251	1,290	1,329
4,6	0,796	0,835	0,875	0,914	0,953	0,992	1,031	1,071	1,110	1,149	1,188	1,227	1,266	1,306	1,345
4,8	0,812	0,851	0,890	0,929	0,969	1,008	1,047	1,086	1,125	1,165	1,204	1,243	1,282	1,321	1,361
5	0,828	0,867	0,906	0,945	0,984	1,024	1,063	1,102	1,141	1,180	1,219	1,259	1,298	1,337	1,376

Ex: Um grupo de búfalas que produz em media 8 litros de leite com 10,0 % de gordura e 4,6% de proteína; corresponde a produção de [8 x 1,266] 10,12 litros de leite com 7,0% G e 4,2% P. A dieta para este grupo de búfala Será calculada considerando a produção de 10,00 litros de leite padronizado.

Tabela 03 Quantidade de matéria seca ingerida por dia, densidade protéica e energética indicada para a alimentação de búfalas em lactação com peso vivo médio de 650 Kg em função da quantidade de Quantidade de matéria seca ingerida por dia, densidade protéica e energética indicada para a alimentação de búfalas em lactação com peso vivo médio de 650 Kg em função da quantidade de leite produzido com 7,0% G e 4,2% P. (valores expressos em percentual

Litros de leite padronizado	< 6,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0
Nutrientes								
IMS/kg	13,74	14,15	14,55	14,96	15,36	15,77	16,17	16,58
Percentual de NDT/ Kg MS	58,00	60,00	62,00	63,00	65,00	66,00	68,00	69,00
Percentual de PB/Kg de MS	10,2	11,1	12,0	12,8	13,5	14,3	15,0	15,6
PDI	5,75	6,26	6,74	7,2	7,63	8,04	8,43	8,8
EE	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0
Amido + açúcares	14,0	15,0	16,0	17,0	18,0	19,0	21,0	23,0
CNF	18,4	20,0	21,6	23,0	24,3	25,7	27,0	28,0
FDN	59,4	56,9	54,4	52,2	50,2	52,0	46,0	44,4
Ca(g)	91,61	101,49	111,36	121,23	131,11	140,98	150,85	160,72
(g)	49,45	52,83	56,22	59,61	63,00	66,39	69,78	73,17
Mg(g)	6,63	7,96	9,28	10,61	11,94	13,26	14,59	15,91

Os valores não aumentam proporcionalmente para níveis produtivos superiores aos presentes na tabela acima

Formulas utilizadas

1. **IMS (Kg) = [(91 x (PV/100)) + (275 x (volume de leite com 4,0%G e 3,1%P))]/1000**
2. **Quantidade de NDT = [(1,1 + (0,006 x PV)) x 1,1) + (0,34 x volume de leite com 4,0%G e 3,1%P) + 0,98.]**
3. **PB(g) = (85 x PV/100) + ((2,742 x (volume de leite com 4,0%G e 3,1%P x 42)))**
4. **Ca (g) = (6,5g x PV/100) + (6,7 x volume de leite com 4,0%G e 3,1%P)**
5. **P (g) = (5,0g x PV/100) + (2,3 x volume de leite com 4,0%G e 3,1%P)**
6. **Mg (g) = (0,9g x volume de leite com 4,0%G e 3,1%P)**

Os valores da tabela acima consideram a quantidade de nutrientes necessária para a manutenção, reprodução e produção do respectivo volume de leite padronizado. As tabelas servem como orientação para evitar que o produtor cometa erros grosseiros na alimentação das búfalas em lactação.

• Alimentação da búfala em lactação com forragem tropical

Ocorrem grandes alterações no valor nutritivo e na digestibilidade das forragens tropicais durante o crescimento das plantas (broto, planta jovem e planta adulta). As tabelas abaixo mostram as variações média de alguns parâmetros das forragens *Braquiaria decumbens* (braquiarinha) e *Panicum maximum* (colonião) que influenciam no valor nutritivo destas forragens.

Um grupo de búfalas a pasto deve receber durante toda a lactação uma suplementação com composição química suficiente para complementar as exigências produtivas, como pode ser visto nas tabelas acima e gráficos. Abaixo Os gráficos abaixo foram construídos utilizando como parâmetros a composição média da *B. Decumbens* durante o ano e a exigência nutricional de uma búfala para produção de 1900 litros de leite padronizado em uma lactação de 270 dias.

PB ingerida com *B. decumbens*

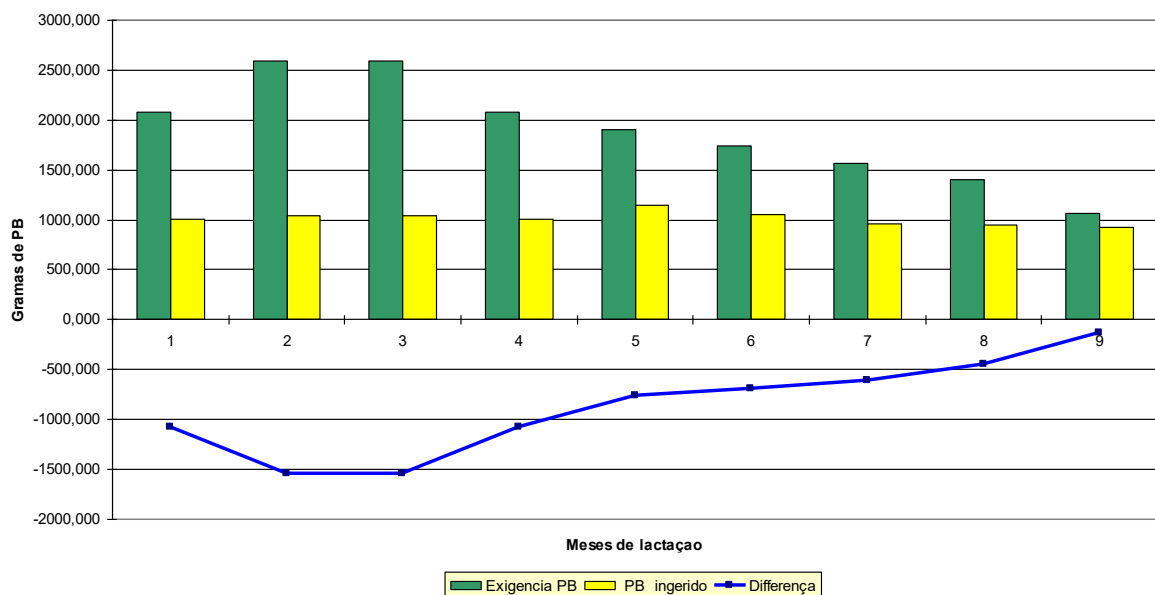


Gráfico 01: Diferença (gramas) entre a exigência de PB para a produção de 1900 de leite padronizado e a quantidade de PB ingerida com a *B. decumbens* (Campanile, G., Bastianetto, E., 2004)

Energia ingerida com *B. decumbens*

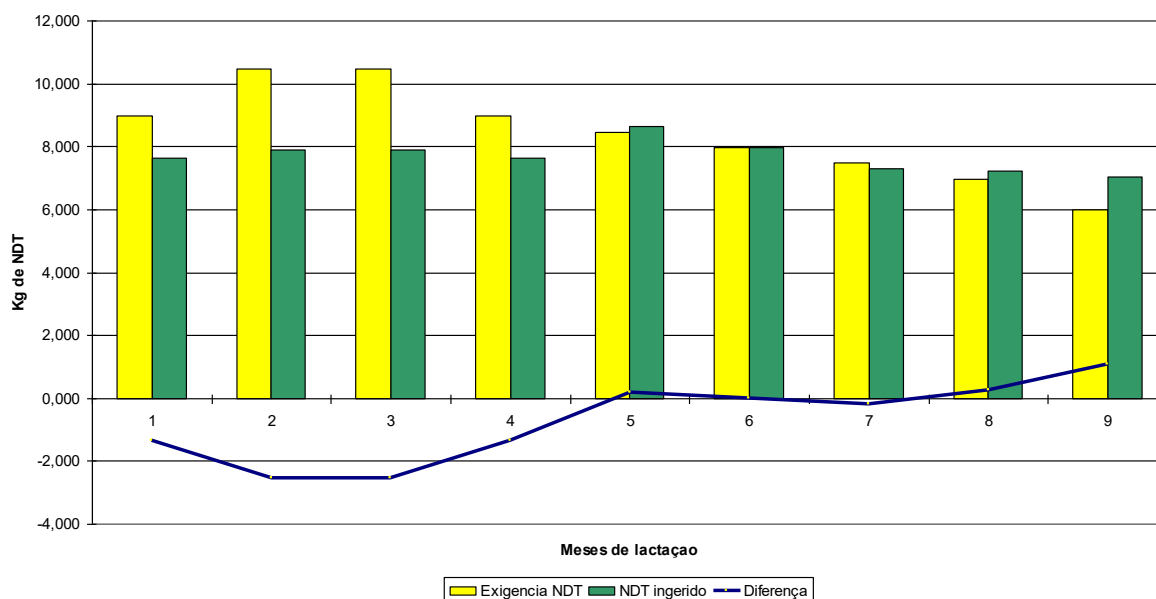


Gráfico 2 Diferença entre a exigência energética (kg de NDT) para a produção de 1900 de leite padronizado e a quantidade de energia ingerida com a *B. Decumbens* (Campanile, G., Bastianetto, E., 2004)

E muito importante considerar que o período de maior exigência nutricional, quatro primeiros meses de lactação, coincide com o inverno brasileiro. Durante o inverno, nas áreas centrais do Brasil, as forragens tropicais apresentam um pequeno crescimento (menos de 20% do crescimento anual), baixa digestibilidade (alta concentração de fibra lignificada) e pequeno teor de proteína bruta. A quantidade de matéria seca ingerida pela búfala reduz com o aumento do percentual de fibra não digestível na dieta (fdn).

Como pode ser visto nos gráficos acima, o ndt ingerido com a braquiária decumbens é teoricamente suficiente para esta lactação somente a partir do 7º mês, e a pb ingerida não é suficiente em nenhum momento da lactação. A baixa quantidade de energia e proteína nos alimentos oferecidos determina uma acentuada diminuição da produção e período de lactação com pequena alteração na composição do leite. Isto explica, em parte, a baixa produtividade, 1713,83 $\pm$ 576,26 lts, (Tonhati, et al 2004), o período curto de lactação e a composição do leite das búfalas no Brasil.

Clínica

Intoxicação por plantas

Os bubalinos são susceptíveis a intoxicação através da ingestão de plantas consideradas tóxicas para os bovinos, mas apresentam maior resistência a este tipo de intoxicação para algumas espécies. Vários estudos comparativos entre a dose tóxica das plantas para bovinos e búfalos já foram realizados, comprovando não só a maior resistência dos búfalos mas também justificando o motivo da melhor capacidade produtiva bubalina em locais tidos como inóspitos aos bovinos.

Para a planta *Ipomoea asarifolia*, planta responsável por ocasionais surtos de intoxicação em bovinos, ovinos e caprinos. Uma a quatro doses diárias de 10-20g/kg provocaram o aparecimento de sintomas acentuados e bastante semelhantes em ambas as espécies, consistindo principalmente em incoordenação, tremores musculares e balanço da cabeça, inclusive da parte anterior do corpo (movimento pendular). Em búfalos, os sintomas de incoordenação eram um pouco menos acentuados, com tendência de os animais permanecerem em decúbito esternal. Embora não haja nenhum relato de intoxicação natural por *I. asarifolia* em búfalos, é possível que casos de intoxicação nessa espécie estejam passando despercebidos.

Foi estabelecido para a *Palicourea juruana* que a dose letal para búfalos (entre 1 e 2 g/kg) é pelo menos quatro vezes superior a dose letal para bovinos (0,25 g/kg), enquanto que para a *Palicourea marcgravii*, além do curso clínico ter sido mais longo nos búfalos, a dose letal foi seis vezes maior que a dos bovinos. Outro fator responsável pelo menor número de mortes em búfalos pela intoxicação por plantas, na Amazônia, poderia ser que os búfalos preferem a várzea, que é o habitat de *Arrabidaea bilabiata*, a segunda planta tóxica mais importante da Amazônia, menos tóxica do que *P. marcgravii*, e com habitat na terra firme. Em áreas onde ocorre *P. marcgravii* seria mais prudente, para diminuir os prejuízos, criar búfalos em lugar de bovinos.

Mastite

Quando comparado com a vaca, o úbere de a búfala possui conformação externa semelhante composto de quatro glândulas mamárias e tetos independentes, mas com diferenças estruturais que conferem maior resistência aos processos infecciosos, como observa-se no teto a presença de está presente uma maior concentração de pigmentos de melanina. Na camada epidérmica, maior espessura do epitélio estratificado queratinoso, a camada muscular do esfíncter é mais espessa e organizada com maior tônus, número de vasos sanguíneos e fibras nervosas, e o diâmetro do lúmen é menor (Carvalho e Escrivão, 2005).

O a proporção de leite presente na cisterna da glândula mamária na búfala representa em média 20% do volume total produzido pela glândula, os demais 80% permanecem ns alvéolos e é liberado a partir do estímulo da ocitocina. As búfalas apresentam uma resposta ao estímulo da ocitocina para a liberação do leite dos alvéolos da glândula mamária menor, necessitando de um tempo maior para apoiar o leite. O volume de leite residual presente na glândula após a ordenha também é inferior ao observado na vaca, representando em animais da raça Murrah de 0,46 a 7,7%. Nas búfalas também podem ocorrer tetos supra numéricos, mas a incidência é baixa (Nagacenkara & Ludri, 1992).

Todas as características citadas conferem maior resistência aos processos infecciosos (Carvalho, 2005).

Referências

1. BARBOSA, J. D., OLIVEIRA, C.M.C., DUARTE, M.D. PEIXOTO, P.V., TOKARNIA, C.H. Intoxicações experimental e natural por *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) em búfalos e outros ruminantes
2. BARBOSA, J. D., OLIVEIRA, C. M. C., TOKARNIA, C. H., RIET-CORREA, F. Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) *Pesq. Vet. Bras.* 23(4):167-172, out./dez. 2003
3. BARUSELLI, P. S., Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos *Bubalinos*. *Bubalinos: Sanidade, Reprodução e Produção*, Jaboticabal, SP-, Brasil. p 130. 1999.
4. BASTIANETTO, E.; ESCRIVÃO, S. C.; OLIVEIRA, D. A. A. Influência das características reprodutivas da búfala na produção, composição e qualidade do leite. *Rev. Bras Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.29, n.1, p.49-52, jan./mar. 2005. Disponível em www.cbpa.org.br
5. BORGHESE, A.; MAZZI, M. Buffalo Population and Strategies in the World In: *BUFFALO PRODUCTION AND RESEARCH* Cap. I, Roma: FAO, 2005. acesso em 20 de Março de 2009, Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/010/ah847e/ah847e00.htm>
6. CARVALHO, L. B., LEITE, R. C., Padrão de infecção intramamária em búfalas (*Bubalus bubalis*) da região do Alto São Francisco-MG. 2005. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais.

7. CAMPANILE, G., BASTIANETTO, E.; Nutrição da Búfala Leiteira II Encontro Nacional de Criadores de 02/12/2004; Salvador, Brasil 2004.
8. CAMPANILE; G., BALESTRIERI, M. L. Interactions of environmental factors for better production in buffaloes. Anais do 1º Simpósio de Búfalo das Américas, Belém, Brasil, 2002.
9. FAO 2000 – Water Buffalo: Regional office for Asia and the Pacific. Bangkok, Thailand, 2000.
10. ESCRIVÃO, S. C., GHELLER, V. A., Avaliação **Avaliação morfométrica, ultrassonográfica e videoteloscópica em papilas mamárias de fêmeas bubalinas mestiças**, 2005 -Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais.
11. KAMAL, T., SHEBAITA, M., IBRAHIM, I. - Physiological responses of lactating buffaloes to shed type. Proceedings of the International Symposium: Prospects of buffalo production in the Mediterranean and the Middle East. Cairo, November. Egito, 1993..
12. OLIVEIRA, A. L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.122-134, abril/jun. 2005. Disponível em www.cbpa.org.br
13. OLIVEIRA, C. M. C., BARBOSA, J. D., CAVALEIRO DEMACEDO, R. S., BRITO, M. F., PEIXOTO, P. V., TOKARNIA, C. H. Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 24, n. 1, p. 27-30, 2004
14. RANJHAN, S. K. Buffalo as a social animal for humanity. Italian Journal of Animal Science. Proceedings of the 8º World Buffalo Congress, Caserta, 2007, p. 30-38.
15. ZICARELLI, L. Reproductive sazonality in buffalo. Proc. 3th International Course of Alimentazione della Bufala da Latte. Dipartimento di Scienze Zootecniche Ispezione degli Alimenti, Faculta di Medicina Veterinaria. Universita Degli Studi di Napoli Federico II., 1997.
16. ZOCCAL, R. Produção de leite. Disponível em: <http://www.lacteabrasil.org.br/pagina.asp?Ids=15> Acesso em :15de Março de 2009.

DOENÇAS INFECCIOSAS EM BÚFALOS

Rômulo Cerqueira Leite¹, Eduardo Bastianetto²

¹Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da
Escola de Veterinária da UFMG,

² Aluno do Curso de Doutorado em Ciência Animal da
Escola de Veterinária da UFMG

Resumo

Existe a tendência de utilizar nos rebanhos bubalinos praticas de trabalho e manejo fundamentadas em conhecimento desenvolvido para a espécie bovina, dado a aparente semelhança entre ambas. No entanto as diferenças existentes entre as espécies são evidenciadas com a tecnificação da bubalinocultura e aumento da produtividade animal, pois as soluções empregadas nos sistemas de produção para a espécie bovina podem surtir o mesmo efeito com bubalinos. O aumento da produtividade normalmente introduz ou favorece o aparecimento de patologias decorrentes das alterações de manejo; como aumento da densidade animal, alimentação e confinamento dos animais em produção dentre outros. Neste contexto aumenta a probabilidade da seleção de linhagens de búfalos com maior susceptibilidade a doenças e também a transmissão destas no rebanho e entre rebanhos.

Serão apresentadas as principais doenças infecciosas já descritas em búfalos para discussão dos métodos de controle que deverão ser empregados nos rebanhos bubalinos considerando as particularidades da espécie.

Introdução

A população da espécie bubalina (*Bubalus bubalis*) atualmente está em crescimento por todo o mundo. Os sistemas de produção bubalino utilizam tecnologia inicialmente desenvolvida para os bovinos com pequenas adaptações. Apesar da reconhecida rusticidade dos búfalos às condições ambientais adversas para a produção bovina, os búfalos são susceptíveis a todas as doenças infecciosas e não infecciosas que acometem os bovinos.

Faz-se necessário conhecer as diferenças para cada doença entre as duas espécies em relação, a susceptibilidade, epidemiologia, manifestações clínicas, desenvolvimento de resposta imune, especificidade dos testes de diagnóstico, manifestação clínica e tratamento. Para atender a demanda dos derivados da carne e do leite da búfala, em todo o mundo foram estabelecidos programas para o incremento da

produtividade dos animais através da seleção genética de linhagens mais produtivas associada a intensificação da produção com aumento da densidade animal por área. Estas alterações nos sistemas de produção facilitam a transmissão e a manutenção de doenças nos rebanhos.

A população de búfalos no mundo supera os 168 milhões de animais, distribuídos geograficamente na seguinte proporção; 161 milhões na Ásia (95,83%), 3,717 milhões na África, principalmente no Egito, (2,24%), 3.3 milhões (1.96 %) na América do Sul, 40.000 na Austrália (0.02 %) e 500.000 na Europa (0.30%); (Borghese, 2005).

A criação de búfalos vem crescendo em todo o Mundo. A espécie bubalina ocupa um relevante papel na produção de alimento nos países em desenvolvimento, localizados em sua maioria nas áreas tropicais. O búfalo é considerado por vários autores um animal de triplo propósito, por estar adaptado a produção de leite, carne, trabalho, assumindo um relevante papel no desenvolvimento social e econômico na Índia, Paquistão, Filipinas, Vietnam, Malásia e Tailândia. Atualmente a bubalinocultura está em significativa expansão em muitos países do mundo (Borghese, 2005).

A maioria dos búfalos é criada em área tropical, ambiente caracterizado por apresentar períodos secos e chuvosos bem delimitados. Alguns autores (Kamal *et al.*, 1993) afirmam que nestas condições os búfalos se desenvolvem melhor que os bovinos em função da maior capacidade de aclimatação, resistência às intempéries ambientais, adaptação em ambientes pantanosos e principalmente por possuir maior capacidade de digerir forragens com maior teor de fibra bruta.

Doenças infecciosas

São muitas as doenças infecciosas às quais os bubalinos são susceptíveis, coincidindo em sua maioria com aquelas já descritas para a espécie bovina. As maiores diferenças até então descritas estão na manifestação clínica, período patente e pré-patente, desenvolvimento de anticorpos após estímulo vacinal e resposta aos testes de diagnóstico sorológico.

- **Parasitoses**

As parasitoses são responsáveis pela redução na produtividade e mortalidade de búfalos, principalmente nos animais mais jovens. Este tema será abordado de forma mais profunda em trabalho que será apresentado neste evento em momento específico.

As demais doenças infecciosas já descritas e que comumente acomete bubalinos serão apresentadas a seguir.

Doenças a vírus

- **Febre catarral maligna**

A febre catarral maligna (FCM) é uma doença letal para muitas espécies de bovídeos e cervídeos (Anderson et al. 2007). Os agentes causadores desta doença são dois gamaherpesvírus similares, o Alcelaphine herpesvirus-1 (AHV-1) e o herpesvirus ovino-2 (OHV-2). Os ovinos são portadores assintomáticos do OHV-2 e podem transmiti-lo aos outros ruminantes (Roizman et al. 1992), dentre eles os búfalos. Os animais doentes manifestam febre, depressão, descarga de muco nasal, opacidade de córnea e manifestações nervosas. Esta doença foi diagnosticada em rebanhos bubalinos de vários países, os animais positivos devem ser eliminados do rebanho o mais rápido possível. São poucos os casos de FCM relatados em búfalos, porém especula-se que a doença esteja presente nos rebanhos, no entanto o diagnóstico não esteja ocorrendo em função da similaridade de sintomas desta doença com outras terminais.

- **Leucose Enzoótica Bovina**

A leucose enzoótica bovina é uma enfermidade caracterizada pela formação de linfossarcomas em bovinos e resulta da infecção por um *retrovírus*, o vírus da leucose bovina (BLV). Além de bovinos, outras espécies são susceptíveis à infecção experimental pelo BLV, como ovinos, bubalinos (*Bubalus bubalis*) e capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (Johnson e Kaneene, 1992). No Brasil, a Leucose Enzoótica Bovina está amplamente disseminada nos rebanhos bovinos, com taxas de infecção que chegam a 80%. Mas, embora bovinos e bubalinos sejam frequentemente criados em conjunto, são poucos os estudos para avaliar a infecção natural do BLV em búfalos e a possível transmissão entre as espécies. Apesar da comprovada susceptibilidade dos bubalinos à leucose, esta doença é de difícil comprovação nos búfalos utilizando as técnicas de imunodiagnóstico de referência para esta doença desenvolvida para bovinos. Molnár et al (2000) detectaram a infecção pelo BLV em 24,6% dos bubalinos testados pela técnica de imunodifusão em gel de Agar (IDGA) na região Amazônica brasileira.

- **Aftosa**

Os búfalos são susceptíveis a infecção pelo vírus da aftosa, o Aphthovirus nas variedades A, O e C, sendo a mais comum o diagnóstico da variedade O. Os bubalinos podem manifestar de forma menos intensos quando comparado com os bovinos. nos búfalos a maioria das lesões se concentram, na cavidade oral, porém existem relatos búfalos infectados com acometimento da glândula mamária, febre, lesões localizadas no espaço interdigital e na cavidade oral (Adlakha, 1992). Esta menor sensibilidade não permite negligenciar o controle desta doença nos países ainda positivos em decorrência do forte impacto econômico da doença sobre o país.

- **Rinotraqueíte infecciosa bovina**

A rinotraqueíte infecciosa bovina, também conhecida como IBR, é causada pelo herpesvírus bovínico tipo 1 (HVB-1) e também acomete bubalinos. A sintomatologia apresentada pelos animais infectados variam em função da quantidade de vírus inoculado na primeira infecção e do status imunológico do animal, podendo a doença se apresentar nas formas subaguda, aguda e crônica, onde os sintomas evoluem de uma hipertermia moderada com rinite e conjuntivite a febre elevada (41 a 42°C), hipertermia da mucosa nasal com focos de necrose associada a corrimento muco-purulento nos olhos e nariz (Láu, 1999). Os animais podem apresentar também sintomatologia nervosa com quadros de hiperexcitabilidade, sendo necessário o diagnóstico diferencial de outras doenças que acometem o sistema nervoso central, como a raiva, o botulismo e a febre catarral maligna. Os vírus pertencente a família herpesviridae são capazes de infectar os animais e permanecer em latência nos indivíduos saudáveis podendo ocasionar surtos quando se instala no rebanho alguma causa imunossupressora. A transmissão desta doença ocorre de forma aerógena direta entre os indivíduos e também através do sêmen contaminado.

Na Itália De Carlo et al. (2004) identificaram a presença de anticorpos específicos ao HVB-1 em dois bubalinos saudáveis não vacinados e induziram um quadro de imunossupressão dos animais para permitir que o vírus latente no organismo animal saísse do quadro de latência causando a sintomatologia clínica esperada para a doença, o que ocorreu e comprovou a presença do vírus no rebanho assim como a gravidade da doença nos bubalinos. No estado de Minas Gerais, Lage e colaboradores (1996) realizaram um inquérito sorológico no qual 14.7% dos animais apresentaram anticorpos contra o HVB-1

- **Diarréia bovina a vírus**

A Diarréia bovina a vírus (DBV), conhecida também como doença das mucosas e BVD, é um vírus que infecta ruminantes e causa problemas clínicos e reprodutivos. Estudos sorológicos evidenciam a presença de anticorpos específicos para o vírus da DBV em búfalos criados em vários países. Os animais positivos podem apresentar sintomatologia nervosa, diarréia ou serem assintomáticos. O motivo da ausência de sintomas em animais soropositivos ocorre em função do momento em que ocorreu a infecção durante a gestação, do tipo de amostra viral infectante e da susceptibilidade animal, onde animais assintomáticos positivos mantêm a doença nas propriedades, conhecidos como indivíduos persistentemente infectados (PI). Estes animais, os PI, não podem ser identificados através de exames sorológicos pois por não reconhecerem o vírus como agente patogênico externo não produzem anticorpos.

Martucciello e colaboradores (2009) identificaram a presença de vírus da DBV em fetos abortados e também no sangue materno, indicando seu envolvimento no aborto após infecção congênita. Nas Filipinas Mingala et al. (2009) também identificaram a presença do vírus em búfalos e analisam geneticamente a constituição da amostra encontrada para avaliar se ocorreram mutações.

- **Papilomatose**

Nos bovinos a papilomatose é uma doença caracterizada pela formação de massas tumorais fibrosas após a infecção do hospedeiro pelo vírus papilomavírus bovino (BPV). Ao do que ocorre m rebanhos bovinos, nos bubalinos esta doença apresenta baixa frequência.

Já foram descritas 10 diferentes espécies de BPV. Este vírus é espécie específico e pode infectar diferentes espécies animais e em diferentes tecidos. Silvestre et. al. (2009) fizeram a caracterização do virus coletado em papilomas cutâneos e perivulvar comprovando a participação do BPV-1, causador da doença nos bovinos, na papilomatose bubalina e a infecção interespecífica.

Doenças bacterianas

- **Brucelose**

A brucelose é causada por bactérias da espécie *Brucella abortus*, e apresenta como sintomatologia

abortos no terço final da primeira gestação após a infecção, repetição de cio, queda na fertilidade, produtividade, número de bezerros ao longo da vida da fêmea e acelera o descarte precoce de animais de alto valor zootécnico. As bactérias do gênero *Brucella* são medianamente sensíveis aos fatores ambientais, entretanto a resistência diminui quando aumentam a temperatura e a luz solar direta ou diminui a umidade. A pasteurização é método eficiente de destruição de *Brucella sp.*, assim como as radiações ionizantes.

No Brasil a presença da brucelose em rebanhos bubalinos vêm sendo relatada a muito tempo, Costa *et al.* (1973) encontrou 20, 6% de animais positivos no estado de Goiás, . Sandoval *et al.* (1979) 5,69% em São Paulo e Bastianetto *et al.* (2005) encontraram uma prevalência de 0 a 37,5% em Minas Gerais.

Guarin e Berdugo (2006) descreveram um comportamento anormal da brucelose em um rebanho positivo localizado na Colômbia, onde não houve concordância dos resultados encontrados utilizando os testes de diagnóstico sorológico para a presença de anticorpos anti *B. abortus* Rosa Bengala, soro aglutinação lenta, Elisa competitivo e PCR.

A utilização da vacina RB51 conforme indicada para os bovinos não apresenta eficiência protetora contra infecção por *B. abortus* (Fosgate, 2003), não podendo ser utilizada esta ferramenta nos rebanhos bubalinos não vacinados com a vacina amostra B19 na idade correta das fêmeas. O controle da brucelose nos rebanhos bubalinos deve ser baseado na vacinação das bezerras em idade correta com a vacina B19 associada à eliminação dos animais positivos aos testes oficiais de diagnóstico sorológico. Os animais adultos devem ser examinados até que sejam obtidos uma sequência de três resultados negativos de todos os animais com idade superior a 24 meses em intervalo de 6 meses entre cada exame.

- **Tuberculose**

Os búfalos possuem hábito gregário e gostam de permanecer reunidos em poços ou curso de água para obter conforto térmico, o que determina a constante proximidade entre os animais e facilita a transmissão da tuberculose entre eles.

Vários estudos demonstram a presença da tuberculose nos rebanhos bubalinos e a importância desta doença na bubalinocultura. O diagnóstico da tuberculose em bubalinos é realizado através da tuberculinização intradérmica com utilização dos parâmetros de interpretação desenvolvidos para bovinos, o que não é adequado. Ribeiro (2003) realizou estudo da prevalência da tuberculose em rebanhos bubalinos utilizando

como ferramenta de diagnóstico a prova tuberculinização intradérmica simples e comparada seguida do isolamento e identificação das cepas de *Mycobacterium sp.* Ao final do trabalho concluiu que faz-se necessário alterar o ponto de corte nas provas em bubalinos, estabelecendo padrão próprio para a espécie. Freitas (2001) analisando as lesões tuberculosas na carcaça de bubalinos encontrou alterações anatomopatológicas indistinguíveis daquelas da tuberculose bovina. Neste trabalho foram identificadas 49 cepas, das quais 33 (67,3%) eram de *Mycobacterium bovis*, duas (4,1%) de *M. gordonae*, oito (16,3%) de *M. fortuitum*, duas (4,1%) do complexo *M. avium* e quatro (8,2%) foram caracterizadas como cepas de crescimento rápido.

- **Mastite**

Quando comparado com a vaca, o úbere de a búfala possui conformação externa semelhante mas com diferenças anatômicas que conferem maior resistência aos processos infecciosos, como observa-se no teto a presença de está presente uma maior concentração de pigmentos de melanina. na camada epidérmica, maior espessura do epitélio estratificado queratinoso, a camada muscular do esfíncter é mais espessa e organizada com maior tônus, número de vasos sanguíneos e fibras nervosas, e o diâmetro do lúmen é menor. Todas as características citadas conferem maior resistência aos processos infecciosos (Carvalho, 2005).

Após estabelecido, o processos infeccioso e não infeccioso (traumático) da glândula mamária ocorrem na búfala de forma semelhante ao que ocorre na vaca, dando origem a inflamação da glândula. Apesar dos patógenos envolvidos serem os mesmos as manifestações clínicas e subclínicas das infecções podem apresentar variações, de forma que muitas vezes a causa originária da lesão não é diagnosticada corretamente e os produtores não dão importâncias às boas práticas de ordenha e manejo já conhecidas e desenvolvidas.

Vários trabalhos relatam a ocorrência de quadros de mamite sub-clínica onde estavam presentes bactérias dos gêneros *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Cornebacterium spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Pasteurela spp.* e *Lactococcus spp.* e as leveduras *Cândida spp.*, *Aspergillus spp.* e *Penicilium spp.*

Para obter sucesso no tratamento das fêmeas com mastite deve-se priorizar a retirada de todo o leite presente e produzido no quarto mamário afetado, esgota do leite cinco vezes ao dia, eliminando desta forma o substrato para o crescimento dos microorganismos envolvidos na infecção. É necessário avaliar de forma correta a

inclusão substância bactericida/bacteriostática à prática de tratamento para otimizar a eficiência da droga escolhida e minimizar a presença de resíduo de medicamento no leite.

- **Campilobacteriose**

A campilobacteriose é uma doença do trato reprodutivo da espécie bubalina assim como de outras espécies. É causada pela bactéria gram negativa *Campylobacter foetus* var. *veneralis* e está distribuído por todo o mundo. É responsável por episódios temporários de infertilidade, mortalidade embrionária e aborto, que normalmente ocorre entre o quarto e oitavo mês de gestação. Nos rebanhos positivos para esta doença os animais apresentam repetição irregular de cio e aumento do intervalo entre partos. A *Campylobacter* sobrevive no trato reprodutivo das fêmeas, na cérvix, e nos machos, prepúcio, sendo os machos mais velhos que apresentam um maior número de pregas na região interna do prepúcio os principais reservatórios e transmissores desta doença no rebanho, que ocorre no momento da cópula ou inseminação artificial. É possível fazer o controle desta doença com o auxílio de programas de vacinação, ao qual devem ser incluídas as vacas, novilhas e também os reprodutores (Adlakha, 1992). Zan Bar (2008) comprovou a interferência da presença de *Campylobacter foetus* na qualidade dos espermatozoides. O diagnóstico da presença de *Campylobacter* é feito através do cultivo e isolamento e amostras de lavado prepucial ao teste de Imunofluorescência Direta.

- **Leptospira**

As infecções por *Leptospira* sp na espécie bubalina comumente são determinadas pelos sorovares Hardjo, Wolffii, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola e Grippothyphosa. Nos bubalinos, assim como nos bovinos, o abortamento ocorre como seqüela de infecção sistêmica. Durante a fase de leptospiremia, há morte fetal com ou sem degeneração placentária, seguida de eliminação fetal algumas semanas após a infecção. Os abortamentos pelo gênero *Leptospira* em bubalinos ocorrem geralmente no terço final da gestação, e o sorovar Hardjo é reconhecido como o mais adaptado a essas espécies. Uma vez introduzido no rebanho, esse sorovar estabelece níveis variáveis de infecção, podendo persistir por longos períodos. A profilaxia da leptospirose em búfalos inclui a adoção de diferentes procedimentos, como o controle de roedores, a eliminação do excesso de água estagnada no ambiente, o isolamento e a terapia de animais doentes,

e a imunização sistemática dos animais. As vacinas comumente disponíveis no comércio para a profilaxia da leptospirose em búfalos e em bovinos são produzidas a partir de culturas bacterianas totais inativadas (bacterinas), cuja eficácia aumenta com a incorporação de substâncias adjuvantes ao antígeno. Em geral, o uso de vacinas contra leptospirose reduz a ocorrência da infecção, a severidade dos sintomas clínicos, os problemas reprodutivos e o impacto econômico da doença. A necessidade de revacinações é um fator preocupante na interpretação do sorodiagnóstico, em virtude de induzirem à formação de aglutininas pós-vacinais, dificultando a diferenciação de imunoglobulinas de origem vacinal das provenientes de infecção.

A vacinação contra leptospirose é considerada um dos mais importantes procedimentos de controle da doença em animais de produção. Entretanto, a menor imunidade conferida pelas bacterinas disponíveis comercialmente para vacinação de búfalos requer o inconveniente de reforços vacinais e revacinações, que podem dificultar a diferenciação de Ig de origem vacinal das Ig oriundas de infecção em provas sorológicas de rotina (Nardi, 2006).

No Brasil, Negrão e colaboradores (2002) encontraram uma prevalência de 45,49% de anticorpos contra *Leptospira sp.* onde a maioria dos anticorpos específicos identificados foram para a espécie *L. hardjo*.

Referências

1. ADLAKHA, S.C., SHARMA, S.N.. Infectious Diseases In: TULLOH, N.M.; HOLMES, J. H.G. *Buffalo production*. Amsterdam:FAO, 1992. Cap. 14, p. 282
2. ANDERSON I.E., BUXTON D., CAMPBELL I., RUSSELL G., DAVIS W.C., HAMILTON M.J. & HAIG D.M. 2007. Immunohistochemical study of experimental malignant catarrhal fever in rabbits. J. Comp. Pathol. v. 136, p. 156-166.
3. BASTIANETTO, E., AMARAL,F.R., CARVALHO, L.B., OLIVEIRA, D.A.A, LEITE, R.C.. Brucelose em rebanhos de búfalos criados na região do Alto São Francisco - Minas Gerais Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.29, n.1, p.55-56, jan./mar. 2005. Disponível em www.cbra.org.br
4. BASTIANETTO, E., LEITE, R.C. Controle do piolho (*Haematopinus tuberculatus*) em rebanhos de búfalos (*Bubalus bubalis*) para produção de leite e carne. Rev Bras

Reprod Anim, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.118-121, abril/jun. 2005. Disponível em www.cbpa.org.br

5. BORGHESE, A.; MAZZI, M. Buffalo Population and Strategies in the World In: BUFFALO PRODUCTION AND RESEARCH Cap. I, Roma: FAO, 2005. acesso em 20 de Março de 2009, Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/010/ah847e/ah847e00.htm>

6. CICERONI L, D'ANIELLO P, RUSSO N, PICARELLA D, NESE D, LAURIA F, PINTO A, CACCIAPUOTI B. **Prevalence of leptospire infections in buffalo herds in Italy.** The Veterinary record, v. 137, n. 8, P. 192-193, 1995.

7. DE CARLO E, RE GN, LETTERIELLO R, DEL VECCHIO V, GIORDANELLI MP, MAGNINO S, FABBI M, BAZZOCCHI C, BANDI C, GALIERO G. Molecular characterisation of a field strain of bubaline herpesvirus isolated from buffaloes (*Bubalus bubalis*) after pharmacological reactivation. The Veterinary record, v. 154, n. 6, p. 171-174, 2004.

8. FAO 2000 – Water Buffalo: Regional office for Asia and the Pacific. Bangkok, Thailand, 2000.

9. FOSGATE, G.T., ADESIYUN, A.A., HIRD, D.W., JOHNSON, W.O., HIETALA, S.K., SCHURIG, G.G., RYAN, J., DIPTEE, M.D. Evaluation of brucellosis RB51 vaccine for domestic water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Trinidad. Preventive Veterinary Medicine, v. 58, p. 211–225, 2003

10. FREITAS, J. A., GUERRA, J. L., PANETTA, J. C. Características da tuberculose observada em búfalos abatidos para consumo: aspectos patológicos e identificação de micobactérias Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. vol.38 no.4 São Paulo 2001

11. LAGE AP, CASTRO RS, MELO MI, AGUIAR PH, BARRETO FILHO JB, LEITE RC. Prevalence of antibodies to bluetongue, bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhea/mucosal disease viruses in water buffaloes in Minas Gerais State, Brazil. Rev Elev Med Vet Pays Trop. 1996;49(3):195-7

12. MARIANELLI C, TARANTINO M, ASTARITA S, MARTUCCIELLO A, CAPUANO F, GALIERO G. Molecular detection of *Leptospira* species in aborted fetuses of water buffalo. The Veterinary record, v. 161, n. 9, p. 310-312, 2007.

13. MARTUCCIELLO A., DE MIA, G.M., GIAMMARIOLI, M., DE DONATO, I., IOVANE, G, GALIERO, G. Detection of Bovine viral diarrhea virus from three water buffalo fetuses (*Bubalus bubalis*) in southern Italy. J Vet Diagn Invest. V.21, n.1, p. 137-140, 2009.

14. MINGALA, C.N., KONNAI, S., TAJIMA, M., ONUMA, M., OHASHI, K. Classification of new BVDV isolates from Philippine water buffalo using the viral E2 region. *Journal of basic microbiology*, Maio de 2009.
15. NARDI JÚNIOR, G., RIBEIRO, M.G., VASCONCELLOS, S.A., MEGID, J., JORGE, A.M., GERONUTTI, L., MORAIS, Z.M.. Perfil de aglutininas anti-Leptospira em bezerras búfalas vacinadas com bacterina pentavalente comercial contra leptospirose *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.3, p.299-304, 2006.
16. NEGRÃO, A.M.G., DIAS, H.L.T., COSTA, S.C., SILVA, E.B., SANTOS, W.R.R. Seroprevalence of the leptospirosis in herds buffaloes in the of Pará state , Brazil. *Anais do I Simpósio de Búfalos das Américas, APCB*, 1 a 8 de Setembro, Belém, Brasil, 2002.
17. RIBEIRO, A.C.C.L. Diagnóstico da tuberculose em búfalos (*Bubalus bubalis*). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Tese- 34p. 2003.
18. SILVESTRE, O., BORZACCHIELLO,G., NAVA, D., IOVANE, G., RUSSO, V., VECCHIO, D., D'AUSILIO, F., GAULT, E. A., CAMPO, M. S., PACIELLO, O. Bovine Papillomavirus Type 1 DNA and E5 Oncoprotein Expression in Water Buffalo Fibropapillomas *Vet Pathol* **46**:636-641 (2009).
19. ZAN BAR T, YEHUDA R, HACHAM T, KRUPNIK S, BARTOOV B Influence of *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* on ram sperm cell quality. *Journal of medical microbiology*, v. 57, n. 11, p. 1405-1410, 2008.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E CONTROLE DAS DOENÇAS PARASITÁRIAS EM BUBALINOS

Eduardo Bastianetto¹, Romário Cerqueira Leite²

Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

1 – Aluno do Curso de Doutorado em Ciência Animal da Escola de Veterinária

2 – Professor Associado II da Escola de Veterinária

Resumo

Os búfalos apresentam susceptibilidade a maioria dos parasitos já descritos parasitando bovinos além de outros específicos dos búfalos, como o *Haematopinus tuberculatus*, *Paracooperia nodulosa* e *Eimeria bareillyi*.

O conhecimento das características epidemiológicas e da patogenia de cada parasito é indispensável para estabelecer programas de controle parasitário eficientes nos rebanhos de búfalos em todo o mundo.

As propostas de controle que serão apresentadas consideram as características fisiológicas da espécie bubalina, como a estacionalidade reprodutiva, ambientação térmica e manejo. Os fármacos utilizados nos programas de controle carecem de detalhes relativos à farmacodinâmica das drogas e veículos que os compõe, de forma que as dosagens e vias de aplicação serão aquelas indicadas para a espécie bovina e que sabidamente são eficientes também para os bubalinos.

Introdução

Bubalinos e bovinos são acometidos por um grande número de parasitas de espécies comuns a esses hospedeiros. Ocorrem diferenças na prevalência, sintomatologia, intensidade das infecções e espécies exclusivas para cada hospedeiro. Este fato torna necessária a identificação e o estudo das doenças parasitárias separadamente (Griffiths, 1974; Bhatia, 1992).

A coloração preta da pele dos búfalos é determinada pela grande quantidade de melanina produzida pelas células basais da epiderme, que o protege dos raios solares ultravioletas, mas absorve aproximadamente 70 - 90% da incidência de radiação de luz visível o que causa um enorme desconforto. O sebo produzido e secretado pelas glândulas sebáceas reflete parte da radiação solar, protege a pele de substâncias tóxicas presentes na água e auxilia o búfalo a nadar (Campanile et al; 2002).

O ambiente alagadiço ao qual o búfalo se adapta em função das características fisiológicas de sua pele e do hábito gregário da espécie favorecem as infecções por

helminthos (Griffiths, 1974; Láu, 1999). Estas se agrupam em função de suas características biológicas, fisiológicas, e do local de parasitismo, que no conjunto causam a gastroenterite verminosa que será descrita.

Ectoparasitos

O piolho *Haematopinus tuberculatus* (Burmeister, 1839) (Anoplura: *Haematopinidae*), é específico dos búfalos (*Bubalus bubalis*), sendo o principal ectoparasita que acomete esta espécie (Láu, 1999). A presença do piolho no corpo do animal causa um intenso prurido e espoliação sangüínea, sendo o prurido a principal causa de diminuição na produtividade animal. O búfalo parasitado altera seus hábitos naturais de repouso, alimentação e reprodução, permanecendo por longos períodos coçando-se em trocos de árvores, paredes, cochos d'água e cercas.

Um trabalho realizado na Itália por Veneziano e colaboradores (2004) comprovou a influência do tratamento sobre a produção de leite onde foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) na produção de leite. O grupo de animais tratados apresentou maior produção de leite, com menor teor de proteína, igual teor de gordura e ingestão de matériaseca. Todo o ciclo do piolho se desenvolve no corpo dos búfalos, não havendo a sobrevivência por longos períodos do *H. tuberculatus* no meio ambiente.

Ciclo do piolho *H. tuberculatus* no hospedeiro

Relação macho/fêmea	3/1
Período médio de incubação	10 a 16 dias
Eclosão das ninfas	53,9 %
Estágio: ninfa 1; ninfa 2 e ninfa 3 (forma adulta)	4 dias
Período pré- ovoposição	2,7 dias
Período de postura	19,7 dias
Ciclo completo	21 a 27 dias

Chauduri e Kumar (1960)

Principais agentes químicos de combate ao piolho

As moléculas doramectina, ivermectina e abamectina pertencem ao grupo das lactonas macrocíclicas e são eficientes no combate ao *H. tuberculatus* (Bastianetto *et al.*, 2002). Elas atuam nos canais do íon cloro (Cl^+) interferindo na ação do neurotransmissor GABA (ácido gamaminobutírico), causando paralisia e morte dos

parasitos susceptíveis. Antiparasitários com estas moléculas não podem ser utilizados em animais em lactação, pois são excretados no leite por um longo período.

A eprinomectina também pertence ao grupo das lactonas macrocíclicas, porém pode ser utilizada em animais em lactação, pois não é excretada no leite como as demais moléculas deste grupo. A eficácia da eprinomectina foi de 99,8% no 7º dia após o tratamento, e de 100% do 14º ao 56º dia após o tratamento.

As demais drogas com ação antiparasitária e inseticida são eficientes no controle do *H. tuberculatus*, não existindo ainda relatos de resistência do parasito a nenhum tipo de droga.

Forma de controle do *Haematopinus tuberculatus*

Animais para produção de carne, bezerros, garrotes, novilhas e búfalas secas:

- Tratar todo o rebanho em um mesmo dia ou intervalo curto de tempo
- Usar um produto do grupo das lactonas macrocíclicas:
- Doramectina 1%, Ivermectina 1% ou Abamectina 1%, via subcutânea, na dose de 1 ml para cada 50 kg de peso vivo (200 mcg/kg PV)
- Eprinomectina, *pour-on*, na dose de 1 ml para cada 10 kg PV
- Os bezerros com peso inferior a 100 kg não podem ser tratados com Abamectina
- Por lei, estes medicamentos não podem ser aplicados nas búfalas em lactação em função de sua grande eliminação no leite. Deve-se respeitar o período de carência das diferentes moléculas para o consumo da carne.

Búfalas em lactação:

- Tratar todo o rebanho em um mesmo dia ou intervalo curto de tempo
- Fazer três banhos por aspersão, sendo o primeiro no mesmo dia do tratamento das outras categorias, e os demais intercalados de 15 dias, com o intuito de interromper o ciclo natural do piolho e diminuir acentuadamente a sua população no rebanho
- Usar produtos inseticidas organofosforados, piretróides, ou misturas de organofosforados e piretróides, com a diluição indicada na bula e com um volume mínimo de 5 litros da solução, por búfala.
- Diluir o produto corretamente e aplicar em todo o corpo do animal, com especial atenção para a vassoura da cauda, orelhas, pescoço e entre os membros posteriores, onde se concentra o maior número de piolhos

- Fazer a aplicação nas horas mais frescas do dia (manhã e ao entardecer), para diminuir a irritação da pele e evitar que as búfalas entrem em algum reservatório de água ou rio, em função do calor, e o produto seja
- Diluído e não faça efeito sobre os piolhos.

Animais parasitados ou não a serem introduzidos nos rebanhos devem ser tratados e submetidos a um período de quarentena. Este período é essencial para impedir a reintrodução desta parasitose no rebanho. O controle do *H. tuberculatus* deve ser feito em todos os animais do rebanho em um único dia ou em período curto, com os medicamentos, para cada categoria animal, mencionados no texto. A ausência de resíduos no leite e derivados lácteos é indispensável para a segurança alimentar humana.

Carrapatos

- *Ripicephalus Boophilus microplus*

Nos rebanhos bubalinos onde não existe a presença de animais da espécie bovina são raros os episódios de infestação dos animais por este carrapato dado a alta resistência dos bubalinos adultos o que dificulta a manutenção de colônias de *B. microplus* no ambiente.

Nas propriedades em que são criados bovinos e bubalinos em mesmo ambiente e os bovinos apresentam altas taxas de infecção é comum encontrar bezerros bubalinos parasitados.

- *Amblyomma cajennense*

O carrapato *Amblyomma cajennense* é um carrapato trioxeno. Tem como característica uma baixa especificidade parasitária, podendo parasitar várias espécies de animais domésticos e silvestres, embora os eqüídeos sejam os hospedeiros preferenciais (LOPES et al., 1998). Este ixodídeo ocasiona perdas econômicas importantes, em decorrência da queda de produtividade dos animais e dos gastos com o uso incorreto de carrapaticidas. Por apresentar baixa especificidade parasitária este carrapato pode ser encontrado parasitando búfalos jovens e adultos em propriedades em que animais parasitados da espécie eqüina permitem a sua sobrevivência. Nestes casos o controle deve ser realizado na tropa eqüina o que elimina também com o passar do tempo a parasitose nos bubalinos.

Endoparasitos

- Coccídeos

As coccidioses são responsáveis por altas taxas de mortalidade em bezerros bubalinos. Dentre os coccídeos parasitas do trato gastrointestinal de ruminantes destacam-se os gêneros *Eimeria sp.* e *Cryptosporidium sp.* (Kpahra & Singh, 1986)

O comportamento dos búfalos em permanecer nos ambientes sombreados, preferencialmente com disponibilidade de água, para reduzir o calor absorvido pela pele quando exposta à radiação solar direta, o torna altamente susceptível a infecção precoce por *Eimeria sp.* Com frequência, observa-se o contato da boca de animais recém nascido com matéria orgânica rica em oocistos esporulados presentes nos tetos, no momento em que estes animais procuram de forma espontânea a ingestão do colostro. Saralli et al. (2001) demonstrou o envolvimento a presença de *C. parvum* em episódios de diarreia em búfalos com idade inferior a 15 dias de idade. Neste estudo foi diagnosticado a presença de *C. parvum*, em bezerros com e sem diarreia, em 64,3% das propriedades estudadas na Itália.

A coccidiose em bubalinos geralmente é assintomática, mas pode manifestar-se de através de alterações intestinais seguidas de diarreia com muco ou sangue, desidratação, pêlos arrepiados, baixa conversão alimentar, anemia, debilidade e perda de peso (Bathia, 1992; Láu, 1999).

Dentre as espécies de *Eimeria* que acometem bovinos, duas são particularmente mais patogênicas: *E. Bovis* e *E. zuernii* (Ferreira et al., 2002). As espécies *Eimeria alabamensis*, *E. alburnensis*, *E. barellyi*, *E. bovis*, *E. brasiliensis*, *E. bukidonensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* e *E. zurnii* foram descritas em bubalinos. Com exceção da *E. barellyi*, todas as outras espécies são comuns em bovinos e bubalinos (Bhatia, 1992, Griffiths, 1974)

Cabral (1987) descreveu as espécies *E. auburnensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* e *E. zuernii* em bubalinos. As espécies *E. ellipsoidalis*, *E. zuernii* e *E. wyomingensis* foram as espécies mais freqüentes, sendo diagnosticadas durante todo o ano. A *E. ellipsoidalis* predominou na infecção coccídea em cinco meses do estudo, permaneceu com altos índices nos meses de janeiro e fevereiro. *E. zurnii* foi a espécie mais predominante durante quatro meses do ano e a *E. wyomingensis* não predominou em nenhuma ocasião.

Durante um estudo epidemiológico sobre a evolução da eimeriose em bezerros bubalinos naturalmente infectados a partir do nascimento até o 120º dia de vida,

realizado no Estado de Minas Gerais a primeira espécie identificada na cultura de fezes dos bezerros foi a *Eimeria bareillyi*. Posteriormente também foram identificadas outras espécies de *Eimeria* já descritas na literatura parasitando bubalinos.

Os animais que morreram durante o trabalho foram necropsiados, e apresentaram lesões macroscópicas na região ilíaca. Foram observadas, através de análise histológica do íleo, lesões de enterite necrótica aguda e a presença de *Eimeria* sp. em diferentes estágios de evolução. Infecções precoces por este parasito podem ser responsáveis por infecção bacteriana secundária através das lesões intestinais por ele causadas.

A utilização de medicação profilática e terapêutica específica para a eimeriose em bubalinos são necessárias para o bom desenvolvimento e sobrevivência dos animais dado a alta letalidade desta doença nos animais jovens.

Verminoses

As verminoses também são responsáveis pelo desenvolvimento de graves quadros de gastroenterite e nos bezerros bubalinos pode levar a morte. Abaixo estão apresentadas os principais agentes com a descrição de dados epidemiológicos já estudados para a espécie bubalina.

Ascaridiose

O *Toxocara vitulorum* (Goeze, 1782), sinonimizado por Travassos (1927) como *Neascaris vitulorum*, é um ascarídeo pertencente à ordem Ascarida e família Ascarididae de ampla distribuição em áreas tropicais. Esta espécie parasita a porção inicial do intestino delgado de bezerros bovinos e bubalinos. A prevalência e a intensidade de infecção tendem a serem maiores nos bubalinos em relação aos bovinos (Connan, 1985). O índice de mortalidade pode variar de 30 a 50% nos búfalos parasitados (Láu, 1999), sendo a presença do *T. vitulorum* um fator limitante para a exploração da bubalinocultura em algumas áreas tropicais (Griffiths, 1974)

O ciclo de vida e as formas de transmissão para os bezerros ocorrem da seguinte forma: em temperaturas de 27 a 30°C desenvolve-se a larva de 2º estágio no interior do ovo, tornando o mesmo infectante aos 17 dias (Levine, 1980). Temperaturas e umidade inferiores a 27,5°C e 80% de umidade relativa (UR) são críticas e os ovos morrem antes de tornarem-se infectantes (Enyni, 1969).

A larva de *T. vitulorum* desenvolve-se do segundo para o terceiro estágio na búfala, tornando-a fonte de infecção para o bezerro bubalino. A infecção do bezerro ocorre pela ingestão de larva de 3º estágio presente no leite materno (Mia et al, 1975; Starke et al.^a, 1992) ou através de infecção transplacentária (Refuerzo, 1954; Connan, 1985). Vidotto (1980) confirmou que a larva infectante está no terceiro estágio de desenvolvimento, durante o qual é conservada a cutícula das duas mudas realizadas. A infecção de bezerros através da ingestão forçada de ovos embrionados só ocorre quando é realizada em animais nascidos a poucas horas (Connan, 1985).

O período pré-patente médio do *T. vitulorum* é de $22,3 \pm 1,6$ para bezerros bubalinos que ingerem todo o leite produzido e de $27,7 \pm 2,2$ dias para bezerros que sofrem restrição alimentar. O aumento no período pré-patente do toxocara em bezerros que sofrem restrição de leite pode ser explicado pela diminuição de nutrientes disponíveis para seu crescimento (Roberts, 1990). A presença de ovos de *T. vitulorum* nas fezes pode ser diagnosticada da 2ª a 20ª semana de idade com maior concentração entre a 3ª e 4ª semanas (Connan, 1985). Após os quatro meses de idade ocorre a expulsão natural destes nematóides e, conseqüentemente, a queda brusca na contagem de ovos presentes nas fezes. Os ovos deste helminto podem ser identificados nas fezes dos bezerros do 6º ao 29º dia de vida. (Starke et al.^a, 1992).

Starke et al., (1992) demonstraram a via de transmissão transmamária do *T. vitulorum* pela presença de larvas no colostro/leite do parto até o 26º dia pós-parto. A maioria das búfalas do estudo realizado (54,8%) encontrava-se positivas com presença de larvas no leite, durante os primeiros 10 dias pós-parto. Exames de fezes quinzenais no período pré-parto diagnosticaram presença de ovos de *T. vitulorum* nas fezes de 24,4% das búfalas. Warren (1970) demonstrou experimentalmente a infecção de bezerros através da ingestão de larvas presentes no leite de mães infectadas com ovos no pré-parto.

O *T. vitulorum* pode causar pneumonia verminosa durante a migração, além de provocar, eventualmente, perfuração e obstrução intestinal (Levine, 1980). Búfalos jovens parasitados apresentam sintomatologia de inapetência, fraqueza, pelagem áspera, abdome flácido e dilatado, podendo apresentar diarreia com coloração escura de odor butírico (Satija, 1973; Griffiths, 1974; Levine, 1980; Láu 1999, Bhatia, 1992).

Starke et al. (1983) ao analisarem a contagem média de O.P.G. de bezerros bubalinos em Andradina – SP nascidos em dois períodos diferentes, maio a julho 1978, e julho a janeiro de 1979, concluíram que os nematóides *T. vitulorum* e *Strongyloides papillosus*

foram mais freqüentes em búfalos de um a quatro meses de idade independentemente da estação do ano.

Estrongiloidose

O nematóide *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) pertence à ordem Rhabdiasidea, família Strongyloididae. Parasita o intestino delgado, duodeno e jejuno, causando enterite catarral em búfalos jovens. (Bathia, 1992). Este parasita é citado por muitos autores como o de maior prevalência em bezerros jovens.

Starke et al. (1983) verificaram que os ovos de *S. papillosus* estavam presentes nas fezes dos bezerros até os 10 meses de idade, com pico máximo de concentração de ovos entre o 30º e 50º dia de vida. Posteriormente Starke et al. (1994) demonstraram a presença de larvas de *S. papillosus* através de análises de fezes das búfalas no pré-parto e pós-parto e do leite de 32 búfalas nos anos de 1989 e 1990, nos 30 dias subseqüentes ao parto. Foram realizados também exames de fezes nos bezerros. A presença de larvas de *S. papillosus* no leite foi detectada em 59,4% entre o 2º e 29º dia pós-parto, e de ovos de *S. papillosus* nas fezes em 4,4% das búfalas no pré-parto e 5,9% no pós-parto. Foi diagnosticada a presença de ovos de *S. papillosus* nas fezes de todos os bezerros, tanto em 1989 quanto em 1990. Permaneceram positivos 40% em 1989 e 47,3% em 1990 até os primeiros 10 dias de idade, 100% em 1989 e 1990 até os 20 dias de idade, e 93,3% em 1989 e 100% em 1990 até os 30 dias de idade.

A transmissão transcutânea do *S. papillosus* em bezerros bovinos ocorre através da penetração de larvas infectantes na pele através de fissuras, feridas e folículos pilosos. Ao penetrar no animal, as larvas chegam aos pulmões através de vasos sangüíneos. Nos pulmões as larvas rompem os alvéolos, migram na traquéia e passam para o esôfago onde são deglutidas. Os ovos produzidos pelas fêmeas adultas no intestino são eliminados nas fezes. No ambiente estes podem dar origem a larvas haplóides, diplóides ou triplóides que originarão respectivamente adultos machos de vida livre, fêmeas de vida livre e fêmeas triplóides com capacidade de realizar reprodução partogenética no ciclo direto. Os machos haplóide e fêmeas diplóides farão o ciclo indireto, se reproduzirão no ambiente dando origem a ovos triplóides (Freitas, 1976).

Após serem ingeridas as larvas triplóides atingem o intestino delgado e chegam à forma adulta 120 horas após a infecção. No intestino delgado as fêmeas realizam a reprodução através de partenogênese (Levine, 1980). É possível que o *S. papillosus*

realize a infecção transcutânea em búfalos, entretanto não foram encontradas citações bibliográficas.

O *S. papillosus* causa enterite catarral com hemorragias petequiais no duodeno e jejuno, levando o animal à diarreia e à redução no ganho de peso. (Morgan, 1949; Vergos e Porter (1950) e Vergors (1954), citados por Levine (1980); Griffiths, 1974; Bhatia, 1992).

Trichostrongilose

A trichostrongilose é uma infecção comum em ruminantes, é causada por nematóides biologicamente semelhantes, pertencentes à ordem Strongylidae, família Trichostrongilidae. Os trichostrongilídeos são os nematóides mais importantes e patogênicos que infectam os bovinos (Levine, 1980; Benz, 1985).

Os trichostrongilídeos agredem o organismo do animal parasitado, causam alterações na área e no número de vilosidades do tratogastrointestinal, redução no número de glândulas funcionais do intestino e permitem a infiltração de linfócitos e outros leucócitos na lâmina própria. Ocorre um aumento da permeabilidade vascular e diminuição da atividade das enzimas digestivas (Benz, 1985). Estas lesões são mais frequentes na mucosa do duodeno e na região proximal do jejuno devido à maior concentração dos trichostrongilídeos nesta região (Symons, 1969). As espécies animais susceptíveis aos trichostrongilídeos, quando parasitados, manifestam diarreia, anorexia, mucosas e membranas conjuntivas pálidas, perda de brilho dos pêlos, diminuição da conversão alimentar com emagrecimento progressivo, debilidade e edema submandibular (Benz, 1985; Gibbs, 1986; Freitas, 1976). Na forma aguda da doença, os bubalinos apresentam diarreia escura, anemia e inapetência (Láu, 1999).

Existem épocas do ano em que as condições de meio ambiente são favoráveis ao desenvolvimento e à migração de larvas nematóides nas pastagens em países de clima tropical e temperado. A disseminação dos trichostrongilídeos entre os ruminantes é facilitada pela umidade durante a estação chuvosa (Freitas, 1976; Melo, 1977; Willians, 1986). A variação anual do desenvolvimento e a disponibilidade das larvas nas pastagens causam uma flutuação estacional da população de helmintos, determinando épocas de maior prevalência das fases parasitárias em determinados meses do ano.

Ocorrência, localização, distribuição geográfica de trichostrongilídeos parasitas de búfalos no Brasil e respectivas referências.

Helminto	Localização no TGI	Cidade	Autor
<i>Skjabinagia boevi</i>	Abomaso	São Paulo	Starke et al (1980) Starke et al (1983)
<i>Skjabinagia sp</i>	Abomaso	São Paulo	Costa et al (1980)
<i>Trichostrongylus axei</i>	Abomaso	Paraná	Busetti et al (1983)
<i>Trichostrongylus axei</i>	Abomaso	São Paulo	Starke et al (1980) Starke et al (1983)
<i>Trichostrongylus columbriformis</i>	Intestino delgado	Paraná	Busetti et al (1983)
<i>Trichostrongylus columbriformis</i>	Intestino delgado	São Paulo	Starke et al (1980) Starke et al (1983).
<i>Cooperia curticei</i>	Intestino delgado	Pará	Freitas e Costa (1967)
<i>Cooperia curticei</i>	Intestino delgado	Paraná	Busetti et al (1983)
<i>Cooperia curticei</i>	Intestino delgado	São Paulo	Costa et al (1983)
<i>Cooperia pectinata</i>	Intestino delgado	Paraná	Busetti et al (1983)
<i>Cooperia oncophora</i>	Intestino delgado	Paraná	Busetti et al (1983)
<i>Cooperia punctata</i>	Intestino delgado	São Paulo	Starke et al (1980) Starke et al (1983)
<i>Cooperia sp</i>	Intestino delgado	Pará	Silva (1969)
<i>Ostertagia cincinnata</i>	Abomaso	Paraná	Busetti et al (1983)
<i>Ostertagia trifurcata</i>	Abomaso	Pará	Silva (1969)
<i>Paracooperia nodulosa</i>	Intestino delgado	São Paulo	Costa (1980) Oba (1981) Starke et al (1980) Starke et al (1983)
<i>Haemonchus contortus</i>	Abomaso	Paraná	Busetti et al (1983)
		São Paulo	Costa (1980) Starke et al (1980) Starke et al (1983)
<i>Haemonchus similis</i>	Abomaso	Paraná	Busetti et al (1983) Costa (1980) Starke et al (1980) Starke et al (1983)
<i>Haemonchus sp.</i>	Abomaso	Pará	Costa (1969)
<i>Nematodirus spatigher</i>	Intestino delgado	Paraná	Busetti et al (1983)

Modificado de Costa (1986)

Os manejos dos animais e da pastagem utilizados na propriedade também interferem diretamente na disponibilidade de larvas infectantes e na reinfecção dos animais. O desenvolvimento e eclosão da larva de primeiro estágio (L1) são

influenciados principalmente pela temperatura e umidade. Geralmente o processo fermentativo que ocorre no bolo fecal garante a temperatura necessária para o desenvolvimento e a eclosão larval. Os ovos e larvas presentes em um bolo fecal não evoluem em condições desfavoráveis, porém podem permanecer vivos por um longo período. Baixas temperaturas e exposição à luz solar direta matam ovos e larvas. A água é um importante veículo utilizado pelas larvas para a migração nas pastagem e infecção dos animais. As larvas também podem ser carregadas por tratores, patas de animais, transporte de esterco tornando-se disponíveis para infectar outros animais ou reinfectar o hospedeiro precedente (Greeve, 1985; Willians, 1986).

Starke et al.^b (1992), avaliando o desenvolvimento de ovos e larvas de strongilídeos em búfalos jovens, concluíram que nos períodos secos houve uma maior permanência do ovos nas massas fecais sem a evolução para larvas infectantes. Em um estudo realizado no Mato Grosso do Sul Starke et al. (1991) observaram um período de sobrevivência de larvas infectantes no capim de 10 a 17 semanas para os gêneros *Cooperia sp.*, *Haemonchus sp.* e *Paracooperia sp.*, e inferiores a nove semanas para os gêneros *Bunostomum sp.*, *Trichostrongylus sp.* e *Oesophagostomum sp.* no período seco. Na época das chuvas a sobrevivência das larvas no capim variou de três a 11 semanas para os gêneros *Cooperia sp.*, *Haemonchus sp.* e *Paracooperia sp.*, e inferiores a três semanas para os gêneros *Bunostomum sp.*, *Trichostrongylus sp.* e *Oesophagostomum sp.* A menor sobrevivência e a reduzida presença de larvas no período chuvoso foram atribuídas à intensidade de chuvas, que amoleceram e carregaram as larvas, e à presença de besouros coprófagos que removiam o bolo fecal na primeira semana após sua deposição. A temperatura e pluviosidade média no local possibilitaram a migração das larvas para o capim, mesmo nas épocas secas do período em que foi realizado este trabalho.

Com exceção do gênero *Paracooperia sp.* todos os demais gêneros, que de acordo com Gibbs (1986) acometem os bovinos, foram descritos em búfalos em diversos países. (Bhatia, 1992; Griffiths, 1974; Láu, 1993 e Láu, 1999).

O ciclo dos nematóides pertencentes à família Trichostrongilidae é similar, segundo Gibbs, (1986); Benz, (1985) e Levine, (1980). As fêmeas realizam a postura dos ovos no trato gastrointestinal, que são eliminados através das fezes para o meio ambiente. As células embrionárias de cada ovo evoluem L1 em um dia, esta eclode perde sua cutícula e evolui para L2. A larva de 2º estágio realiza a muda para L3, mas permanece com a cutícula de L2. Em condições ambientais favoráveis o

desenvolvimento do ovo até a formação de L3 pode ocorrer em 7 a 10 dias, segundo Benz (1985), e em 2,5 a 14 dias segundo Levine (1980). O 3º estágio larval é a forma infectante para o outro hospedeiro através da ingestão de alimentos ou água. Após serem ingeridas, as L3 penetram na mucosa do abomaso, perdem a cutícula do 2º estágio larval e depois penetram no intestino delgado ou intestino grosso. No interior das glândulas digestivas as L3 realizam a muda para o 4º estágio larval em um a dois dias. O helminto adulto eclode aproximadamente 10 dias após a ingestão de L3. Muitas espécies de tricostrongilídeos alcançam a maturidade sexual e iniciam a produção de ovos três semanas após a ingestão de L3 (Freitas, 1976; Benz, 1985).

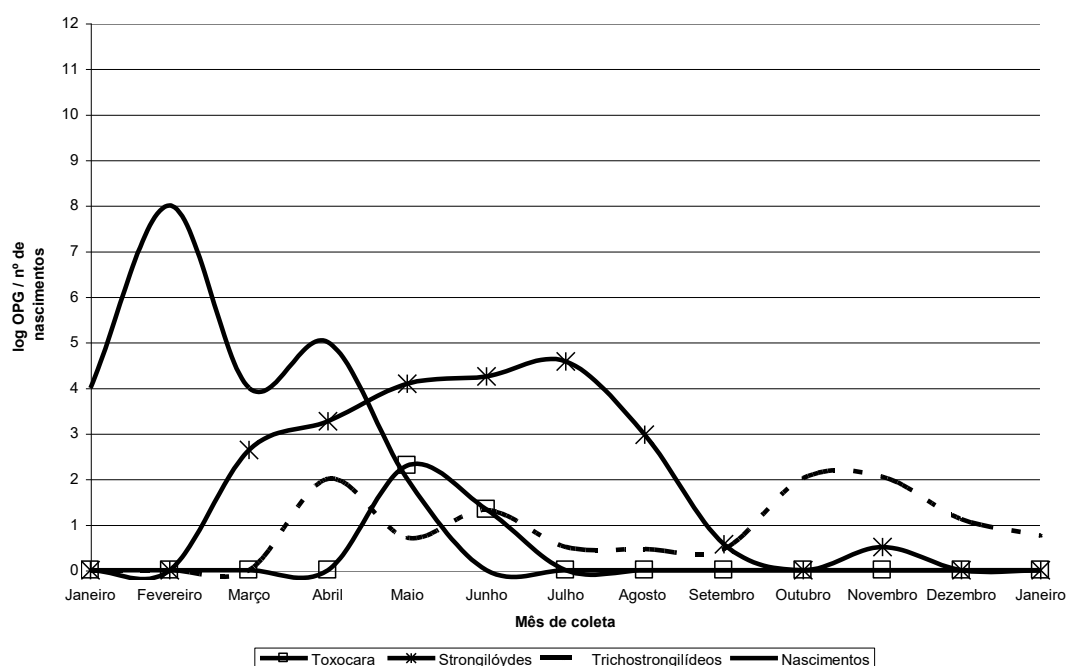
O desenvolvimento de processos patológicos a partir da infecção do hospedeiro varia em função da espécie de helminto, severidade e localização da infecção. As espécies de helmintos encontradas neste trabalho causam prejuízos ao hospedeiro através da competição pelo alimento, obstrução intestinal, ingestão de sangue e hemorragia, ingestão de parte dos tecidos do hospedeiro, destruição tecidual com a infecção secundária, secreção de toxinas, formação de nódulos, perfuração de mucosa (Morgan, 1949).

A *Paracooperia nodulosa* (Swartz, 1928) é um nematóide específico de bubalinos (Skrjabin, 1954). A *P. nodulosa*, helminto responsável pela formação de extensas nodulações na mucosa intestinal, é considerado o parasita mais patogênico do intestino delgado de bubalinos. Três espécies de *Paracooperia* foram descritas, *P. nodulosa*, *P. maltoffi* e *P. petrowi*, sendo a *P. nodulosa* a mais comum (Bhatia, 1992). Chauhan *et al.*^o. (1972) descrevem uma maior concentração de nódulos de *P. nodulosa*, estrutura formada durante o desenvolvimento até a fase adulta, na mucosa do íleo, jejuno e duodeno. Macroscopicamente os nódulos apresentam diâmetro de dois a cinco milímetros com distribuição difusa na serosa e mucosa do intestino delgado. O estudo histopatológico do corte transversal (imagens 1, 2 e 3) demonstrou a presença de larva da *P. nodulosa* de 300 micrômetros de diâmetro com acúmulo intenso de macrófagos epitelióides, linfócitos e infiltração multifocal de eosinófilos (Chauhan, 1972^o; Bastianetto *et al.*, 2005) com intensa proliferação de fibroblastos e substituição das áreas danificadas por tecido conjuntivo (Chauhan^o, 1972).(figuras1, 2 e 3)

A variação da quantidade de ovos presentes nas fezes e das espécies de tricostrongilídeos parasitas de bezerros búfalos coincide com a descrição de Láu (1993) no Pará, que relata a ocorrência de picos de O.P.G. nos meses de junho e dezembro, respectivamente início e final dos períodos com menor pluviosidade. A variação do

número de O.P.G. durante o ano reflete a menor quantidade ou a ausência de larvas infectantes em determinado período, sob condições ambientais desfavoráveis para o desenvolvimento, e a eclosão das larvas infectantes, assim como a migração destas para a pastagem (Costa, 1974; Melo, 1977; Willians, 1986; Starke et al., 1991).

A espécie bubalina é poliéstrica estacional de dia curto (Zicarelli, 1997), havendo concentração de nascimento de animais no término do período de verão e desmama no final da primavera, meses que coincidem com a alta disponibilidade de larvas de nematóides infectantes nas pastagens.



Nascimentos e número de ovos por grama de fezes de nematóides encontrados em animais naturalmente infectados criados em Dôres do Indaiá-MG.

Cronograma para a profilaxia parasitária em rebanhos bubalinos

Parasito	Ação	Categoria	Droga
Piolho (<i>H. tuberculatus</i>)	3 banhos com 15 dias de intervalo	Lactação	Produtos carrapaticidas
Eméria SP	Medicação	Bezerro lactente (após 7º dia de vida)	Amprólio, sulfaquinoxalina sódica, toltrazuril
<i>Toxocara vitulorum</i> E <i>Strongiloydes papillosus</i>	Vermifugação	Bezerros (1º, 4º e 8º semana de vida)	Fenbendazole, levamisole
Trichostrongilídeos	Vermifugação	Bezerros (120 dias e desmama)	Ivermectina (120 dias) Doramectina (desmama)
Trichostrongilídeos	Vermifugação	Novilho(a)s até 24 meses (Maio, Julho e Outubro)	Ivermectina (Maio) Benzimidazoles (Julho) Doramectina (Outubro)
Helmintos gastrointestinais	Vermifugação	Búfalas pré-parto (- 30 dias)	Ivermectina

Referências

1. BASTIANETTO E, BARBOSA VM, LEITE RC. Evaluation of the different avermectin bases in the control of *Haematopinus tuberculatus*. In: Simpósio de Búfalo das Américas, 1, 2002, Belém. *Anais...* Belém: [s.n.], 2002.
2. BENZ, G. W. Trichostrongylosis in Ruminants In: IN: GAAFAR, S. M.; HOWARD, W. E.; MARASH, R.E. *Parasite, Pest and Predators*. Amsterdam: Elsevier., 1985. cap 13, p,237 – 252.
3. BHATIA, B. B. Parasites of river buffaloes In: TULLOH, N.M.; HOLMES, J. H.G. *Buffalo Production*. Amsterdam:FAO, 1992, Cap. 15, p. 309-310.
4. CABRAL, D. D. Ocorrência de Coccídios em Búfalos da Micro-Região de Uberlândia, Minas Gerais. 1987. 62f. Tese (Mestrado) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
5. Chaudri RPE, Kumar P. The life history and habits of the buffalo louse *Haematopinus tuberculatus*(Burmeister) Lucas. *Indian J Vet Sci*, v.31, p.275-287, 1960.
6. CONNAN, R. M. Ascaridiose of Domesticated Animal IN: GAAFAR, S. M., HOWARD, W. E. MARASH, R. E. *Parasite, Pest and Predators* Amsterdam: ELSEVIER, 1985, cap 14, p, 253 – 265.
7. COSTA, H. M. A., GUIMARÃES, M. P., COSTA, J. O., FREITAS, M. G. Variação estacional de infecção por helmintos parasitos de bezerros em algumas áreas de produção leiteira em Minas Gerais - Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet Zoot.*, v.26, n. 1, p. 95-101, 1974.
8. FERREIRA, A. J. P., PIZZARO, L. D. C. R., DELL'PORTO, A. Agentes Antiprotozoários In: *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*, 3º ed., Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2002. p. 459-490.
9. GREEVE, J. H. Means of Dissemination of Parasite IN: GAAFAR, S. M.; HOWARD, W. E.; MARASH, R. E. *Parasite, Pest and Predators* . Amsterdam: ELSEVIER, 1985. cap 3, p, 29 – 47
10. GRIFFITHS, R. B. In: COCKRILL W, R. *The Husbandry and Healt of Domestic Buffalo*. Roma:FAO, 1974. cap, 10 p 236-275.
11. KPAHRA, S.; S., SINGH, J. Coccidiosis in Buffaloes: Calves and its Treatment. *Buffalo Bulletin*, v. 5, n. 1, p. 9-17, 1986.

12. LÁU, H. D. Doenças em *Búfalos no Brasil: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle*. Brasília; Belém : Embrapa-CPATU, 1999 p 27-31.
13. LEVINE, N. D. *Nematode Parasites of domestic animals and of man* Mineapolis:Burgues Publishing Co, 1980. Cap. 8.
14. LOPES, C.M.L., LEITE, R.C., LABRUNA, M.B., OLIVEIRA, P.R., BORGES, L.M.F., RODRIGUES, Z.B., CARVALHO, H.A., FREITAS, C.M.V., VIEIRA, C.R.Jr. Host specificity os *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with comments on the drop-off rhythm. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. v. 93, n.3, p.347-351, 1998.
15. MIA, S.; DEWAN, M. L.; UDDIN, M.; CHOWDHURY, M. U. A. The route infection of buffalo calves by *Toxocara (neoascaris) vitulorum*. *Tropical Animal Healt Production* v.7, p. 153-156, 1975.
16. MORGAN, B. B.; HAWKINS, P. A. *Veterinary Helmintology* Minneapolis:Schiller 1949 383p.
17. REFUERZO, P.G.; ALBIS-JIMENEZ, F.S. Studies on *Neoascaris vitulorum* III, Further observations on inoculation of calves with notes on prenatal infection. *Animal J. Veterinary Research* v.15, p. 532-534, 1954.
18. ROBERTS, J.A. The egg production of *Toxocara vitulorum* in Asian buffalo (*Bubalus bubalis*) *Veterinary Parasitology*. v. 37, p. 113 – 120, 1990.
19. SANTIJA, K.C.; GERA, K.I.; SHARMA, S. S. Ascaridiosis in Buffalo calves. *Indian Veterinary J.* v. 80, n. 9, p. 868-871, 1973.
20. STARKE, W. A.; MACHADO, Z. R. Helmentíases em Búfalos I – Desenvolvimento de ovos e larvas de strongilídeos parasitas de búfalos jovens, no Município de Selvíria, MS, nas estações secas e chuvosas. *Arq. Bras. Med. Vet Zoot.* v. 43, n. 4, p. 315-327, 1991.
21. STARKE, W. A.; MACHADO, Z. R.; HONER, M. R.; ZOOCOLLER M. C. Curso Natural de Helmintoses Gastrintestinais em Búfalos no Município de Andradina (SP). *Arq. Bras. Med. Vet Zoot.* v. 35, n. 5, p. 651 –654, 1983.
22. STARKE, W. A.; ZOOCOLLER, M. C.; MACHADO, R. Z. Transmammary passage of gastrointestinal nematode larvae to Buffalo calves, I, *Strongyloides papillosus* In: ANAIS DO IV CONGRESSO MUNDIAL DE BÚFALOS São Paulo, 1994 v. 2, p. 330-331.
23. STARKE, W. A.^a; MACHADO, Z. R.; ZOCOLLER, M. C. Transmissão transmamária de larvas de nematóides gastrintestinais a bezerros búfalos, II Larvas de

Toxocara vitulorum, Arq. Bras. Med. Vet Zoot., v.44. n 2. Belo Horizonte 1992, p.98 – 104.

24. STARKE, W. A^b; ZOOCOLLER M. C.; MACHADO, Z. R.; MONTENEGRO, E. L. Helminthíases em Búfalos II – Sobrevivência de larvas de nematódeos parasitos de búfalos jovens nas fezes depositadas em pastagens no município de Selvíria, MS, nos períodos secos e chuvosos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.*, v. 1, n. 1, p.7-15, 1992.

25. SYMONS, L. E. A. Pathology of Gastrointestinal Helminthíases. *International Review of Tropical Medicine.* v. 3 Londres 1969, 100 p.

26. Veneziano V, Rinald, Grassi C, Neglia G, Campanile G, Cringoli G. Eficacia della eprinomectina pour-on contro *Haematopinus tuberculatus* nel bufalo di razza Mediterranea Italiana (*Bubalus bubalis*) ed influenza del trattamento sulla produzione di latte. *Bubalus bubalis*, v.2, p.56-65, 2004.

27. VIDOTTO, O. *Considerações sobre o estágio evolutivo da larva infestante de Neascaris vitulorum (Goeze, 1782) Travassos, 1927, nematódeo parasita de ruminantes*, 1980. 28 f. Dissertação (Mestrado) Instituto de ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo.

28. WARREN, E. G. Observations on the migration and development of *Toxocara vitulorum* in natural and experimental hosts. *Int. J. Parasitology.* v. 1, p. 85-99, 1971.

29. WILLIAMS, J. C. Epidemiologic Patterns of Nematodiasis in Cattle. In: Gbbis, H, C, *The Veterinary Clinics of North America*, Philadelphia:Sauders Company, 1986. v. 2, p. 235-246

Lista de figuras



Figura 1 –Corte histológico de nódulo de *Paracooperia nodulosa* e mucosa do intestino delgadoID (aumento 3,12x)

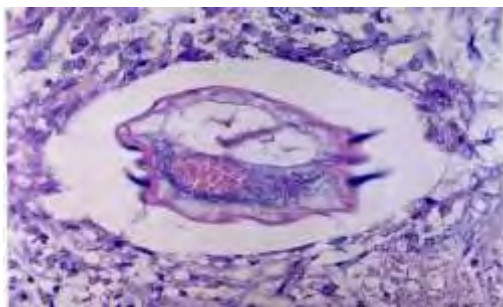


Figura 2 –Corte histológico do nódulo com larva de *Paracooperia nodulosa* (aumento 100x).



Figura 3 – Serosa do duodeno com nódulos de *Paracooperia nodulosa*.

NEUROPATIAS BOVINAS EMERGENTES

Claudio S. L. Barros

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Laboratório de Patologia Veterinária (LPV)

claudioslbarros@uol.com.br

Introdução

Doenças que causam distúrbios nervosos em ruminantes assumiram grande importância após o diagnóstico de encefalopatia espongiforme bovina (BSE) na Inglaterra (Wells et al 1987) e da possível relação dessa doença com a nova variante da doença de Creutzfeldt-Jakob (vCJD) em humanos (Will et al 1996, Almond 1997). Autoridades sanitárias internacionais estão solicitando dos países exportadores de carne, como é o caso do Brasil, que apresentem evidências de que seus rebanhos são livres de BSE. Isso equivale a dizer que os países devem estar capacitados a identificar as doenças que afetam o SNC de bovinos, mesmo na ausência de casos de BSE.

Em um levantamento de 6.706 necropsias realizadas em bovinos em nosso laboratório (LPV) no período de 1965 a 2008, 655 (9.76%) apresentaram lesões do sistema nervoso central (SNC). Esse dado é semelhante aos obtidos por outros laboratórios e, com exceção de algumas características regionais, as doenças do SNC diagnosticadas em bovinos são aproximadamente as mesmas em todo o Brasil, embora existam variações regionais em suas frequências. Por exemplo, de 1986 a 1995, o botulismo causou a morte de mais de 6 milhões de bovinos adultos no Brasil (Dutra 2001) e essa doença foi bastante frequente no estado de Mato Grosso do Sul; por conta disso, naquele estado o índice de alterações do sistema nervoso em bovinos é estimado em 47,38% (Lemos et al. 1998).

É aparente, portanto, que o surgimento da BSE induziu à procura por doenças neurológicas em bovinos, resultando no incremento do relato de doenças já existentes e no relato de novas doenças antes não diagnosticadas. O foco dessa palestra, será revisar essas doenças, tendo como base o levantamento de doenças do SNC de bovinos diagnosticadas no LPV.

Doenças do sistema nervoso central em bovinos diagnosticadas no LPV de 1965-2008

Como mencionado anteriormente dos 6.706 bovinos necropsiados no LPV num período de 44 anos (1965-2008), 655 (9,76%) apresentaram doenças associadas ao sistema nervoso central (SNC). As principais doenças diagnosticadas aparecem na Fig. 1 e, em ordem de frequência decrescente de aparecimento, na Tabela 1.

Tabela 1. Doenças do sistema nervoso central diagnosticadas em 655 bovinos no sul do Brasil

Doença	Número de casos
Raiva	197
Encefalopatia hepática	162
Meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5	57
Meningoencefalite não supurativa inespecífica	47
Babesiose cerebral	40
Intoxicação por <i>Solanum fastigiatum</i>	
Febre catarral maligna	21
Polioencefalomalacia	20
Abscessos	18
Associados ao uso de tabuleta para desmame	07
Associados a onfaloflebite	5
Associados a ruminite	5
Origem não determinada	1
Trauma	18
Tétano	15
Doenças hereditárias	7
Botulismo	6
Listeriose	3

Apenas três doenças a vírus são responsáveis por casos de encefalite não-supurativa em bovinos no Brasil; a saber: raiva, meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) e febre catarral maligna (FCM). Essas três doenças corresponderam em nosso levantamento a 275 casos ou, aproximadamente, 42% de todas as doenças do sistema nervoso central. Raros casos de doença de Aujeszky têm sido descritos causando encefalite em bovinos no Brasil (Barros et al. 2006).

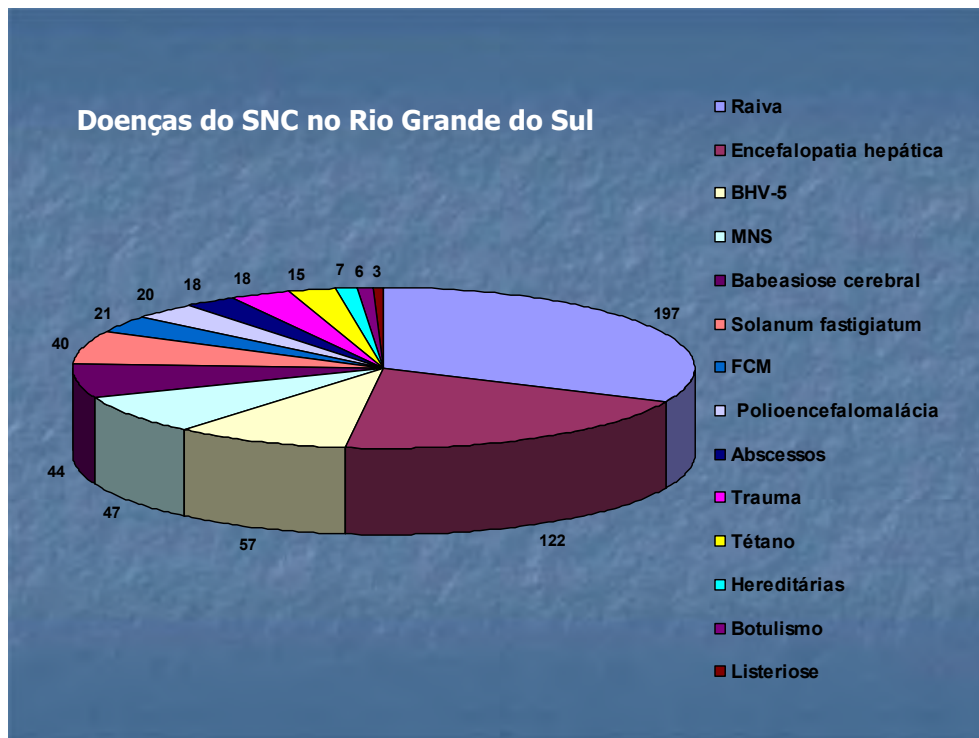


Figura. 1. Doenças do sistema nervoso central diagnosticadas em 655 bovinos no sul do Brasil. Abreviaturas usadas: BHV-5 = Meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5, MNS = meningoencefalite não-supurativa; Solanum fastigiatum = intoxicação pela planta tóxica *S. fastigiatum*; FCM = febre catarral maligna. Dados do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

Raiva

A raiva, a doença do sistema nervoso mais comum em bovinos (197 casos ou 30% das doenças do SNC de bovinos em nosso levantamento) pode ser considerada uma doença em re-emergência, possivelmente em razão do relaxamento nas medidas de controle do morcego *Desmodus rotundus*, vetor da doença. Em nosso levantamento (Fig. 2) a raiva mostrou um comportamento cíclico.

A raiva tende a ser cíclica, reaparecendo com periodicidade de aproximadamente 7 anos, devido ao maior número de morcegos infectados durante os picos de aparecimento dos casos clínicos nos herbívoros. Como todos os morcegos infectados morrem, ocorrem períodos de declínio, correspondentes ao tempo necessário para repovoar e re-infectar a colônia. Como cada fêmea tem apenas um filhote por ano, o crescimento da colônia é lento. O desaparecimento cíclico da raiva não representa controle efetivo da doença (Mori 1998)

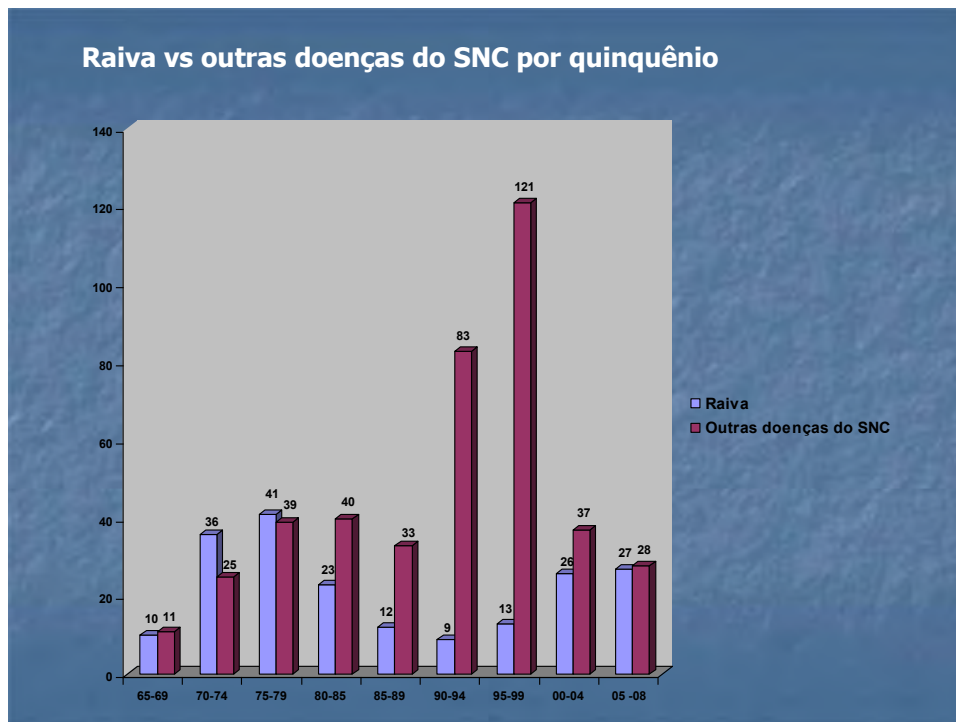


Figura 2. A frequência da raiva comparada à frequência das outras doenças do sistema nervoso central em bovinos. Observa-se uma ocorrência cíclica da doença. Dados do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

A raiva é causada por um vírus RNA envelopado, gênero *Lyssavirus*, família Rhabdoviridae. A vasta maioria dos casos de raiva bovina é contraída pela mordedura de um morcego infectado. Após a inoculação, o vírus replica nas células musculares, no local da mordedura, e entra para o sistema nervoso periférico (axônios dos nervos), através do fuso neuromuscular (células musculares modificadas) ou das placas motoras terminais. Por fluxo axoplasmático retrógrado (migração centrípeta), o vírus alcança a medula espinhal ou o tronco encefálico. A progressão do ponto de inoculação ao SNC pode ser rápida ou demorar meses. Do SNC há disseminação centrífuga ao longo dos nervos periféricos para vários órgãos. O vírus replica no epitélio das glândulas salivares e é eliminado na saliva. Os bovinos são hospedeiros terminais da raiva, porque a dispersão periférica do vírus pela saliva é escassa e porque, ao contrário dos carnívoros com raiva furiosa, em geral o bovino não fica agressivo durante a doença.

Em áreas enzoóticas de raiva transmitida por morcegos hematófagos, como a América Latina, estima-se que a população de bovinos sob risco é de aproximadamente 70 milhões, com uma mortalidade anual de 100.000 a 500.000 animais e um prejuízo de 50 milhões de dólares americanos para a indústria pecuária (King 1993).

Como a doença é transmitida a bovinos por morcegos hematófagos, condições

climáticas favoráveis, existência de abrigos naturais (morros, cavernas, ocos de árvores) ou artificiais (túneis, bueiros, pontes, minas, fornos para carvoarias, construções abandonadas) e a distribuição da população de morcegos são responsáveis pela extensão e estabilidade enzoótica da raiva em uma região. Não há predisposição de raça, sexo ou idade; uma prevalência maior observada ocasionalmente em bezerros com menos de um ano de idade pode estar relacionada ao estado imune, uma vez que, nessa faixa etária, ocorre o declínio da imunidade passiva e ainda não ocorreu a primeira vacinação anti-rábica ou o primeiro reforço vacinal. Na maioria dos focos, a morbidade é inferior a 10%, mas coeficientes superiores a 30% são também observados. A letalidade é invariavelmente 100%.

O quadro clínico da raiva bovina é variável, e muitos dos sinais clínicos são comuns a outras enfermidades do SNC em bovinos. A variabilidade dos sinais clínicos e a seqüência de sua progressão são determinadas principalmente pela concentração do inóculo viral, pela patogenicidade da cepa infectante, pela distância entre o local da inoculação e o encéfalo e pelo estado imune dos bovinos. O período de incubação em bovinos é de 2-12 semanas, mas períodos mais longos têm sido relatados. Geralmente, os casos espontâneos ocorrem 30-60 dias após a infecção. Dessa forma, as feridas resultantes de mordeduras de morcegos nem sempre são observadas no bovino com raiva, por serem pequenas e puntiformes ou por terem cicatrizado antes do desenvolvimento dos sinais clínicos. O curso clínico médio da raiva é de 5 dias, variando de 2-10 dias. A doença caracteriza-se por uma forma clínica parálitica e outra furiosa. Em bovinos, no Brasil, predomina a forma parálitica caracterizada por paresia e paralisia ascendentes. Os sinais clínicos observados com maior freqüência são incoordenação dos membros pélvicos, evoluindo para paresia e paralisia, relaxamento do esfíncter anal com protrusão do ânus, ausência de reflexo anal, paralisia da cauda, tremores da cabeça, diminuição da visão, opistótono, bruxismo, salivação, que pode ser abundante e espumosa, fezes ressequidas e escassas, retenção ou incontinência urinária e mugidos roucos (dando a impressão de que o animal está engasgado). Na forma furiosa, há mugidos constantes e roufenhos (ocasionalmente violentos, a ponto de produzir enfisema subcutâneo), agressividade, hiperexcitabilidade, hiperestesia, prurido intenso e manifestações de irritação cutânea (o bovino constantemente se lambe ou se roça contra árvores e cercas)

As lesões da raiva são, em geral, limitadas ao SNC e perceptíveis apenas ao exame histológico. No entanto, hiperemia das leptomeninges é freqüentemente encontrada.

Lesões secundárias ao comprometimento neurológico ocorrem ocasionalmente e incluem broncopneumonia por aspiração (aspiração de alimento causada por disfagia neurológica e distensão da bexiga por paralisia resultante da mielite viral).

Histologicamente, há inflamação do encéfalo e seus envoltórios (meningoencefalite), da medula e seus envoltórios (meningomielite), dos gânglios (ganglionite) e nervos (neurite) cranianos e espinhais. A inflamação na raiva é classificada como "não-suprativa" (ou não-purulenta) porque os neutrófilos (as células do exsudato purulento) não fazem parte do infiltrado inflamatório, que consiste de células mononucleares (linfócitos e plasmócitos). As células inflamatórias se dispõem nos espaços ao redor dos vasos, aspecto referido como "manguitos" perivascularares. Outra característica histológica da raiva é a presença de gliose (proliferação de células da glia, principalmente micróglia) focal ou difusa. Em cerca de 70% dos casos de raiva bovina, ocorrem inclusões acidofílicas intracitoplasmáticas em neurônios, denominadas corpúsculos de Negri. Ganglioneurite associada a corpúsculos de inclusão e vacuolizações intracitoplasmáticas é freqüente em neurônios do gânglio do nervo trigêmeo, o gânglio de Gasser. A intensidade das lesões é variável, mas degeneração e necrose de neurônios nunca são achados comuns na raiva. Em um estudo da distribuição das lesões realizado no encéfalo de 25 bovinos com raiva (Langohr 2003), o mielencéfalo (bulbo), o metencéfalo (ponte e cerebelo) e a medula espinhal cervical estiveram afetados mais vezes e mais intensamente que o diencéfalo (incluindo o tálamo) e o telencefalo (incluindo o hipocampo). Como a ganglionite é freqüente na raiva, o exame histológico do gânglio de Gasser é um método indicado para a confirmação do diagnóstico, pois as alterações inflamatórias (e, muitas vezes, corpúsculos de Negri).

A imunofluorescência direta (IFD) é o teste de escolha para o diagnóstico pela sua rapidez e acurácia; a possibilidade do diagnóstico da raiva (sensibilidade do teste) pela IFD é de 80-100% e sua eficiência depende do treinamento do técnico e da qualidade dos reagentes utilizados. A prova biológica é considerada segura para o diagnóstico da raiva, mas tem a desvantagem de ser demorada (ao redor de 3 semanas). Imuno-histoquímica realizada em material fixado em formol tem-se demonstrado uma técnica eficiente em nosso laboratório.

A época mais indicada para a vacinação de bovinos contra a raiva é a que antecede o período de maior freqüência de focos, e os bovinos devem entrar nesse período devidamente imunizados, já com o reforço vacinal. A vacinação anti-rábica

pode ser indicada para bezerros a partir de dois meses de idade, condicionada à necessidade do reforço vacinal, independentemente do estado de vacinação materno. O reforço vacinal em bovinos de qualquer idade deve ser realizado 30 dias após a primeira dose da vacina.

Meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5)

A meningoencefalite por BoHV-5, é uma neuropatia emergente (57 casos ou 8,70% das doenças do SNC de bovinos em nosso levantamento) do sistema nervoso de bovinos no Brasil e tem sido descrita em várias regiões do país (Rissi et al. 2006, 2007). A doença era praticamente desconhecida até o final dos anos 1980 (Riet et al. 1989, Weiblen et al. 1989) e sua frequência tem-se incrementado desde então (Fig. 3). No

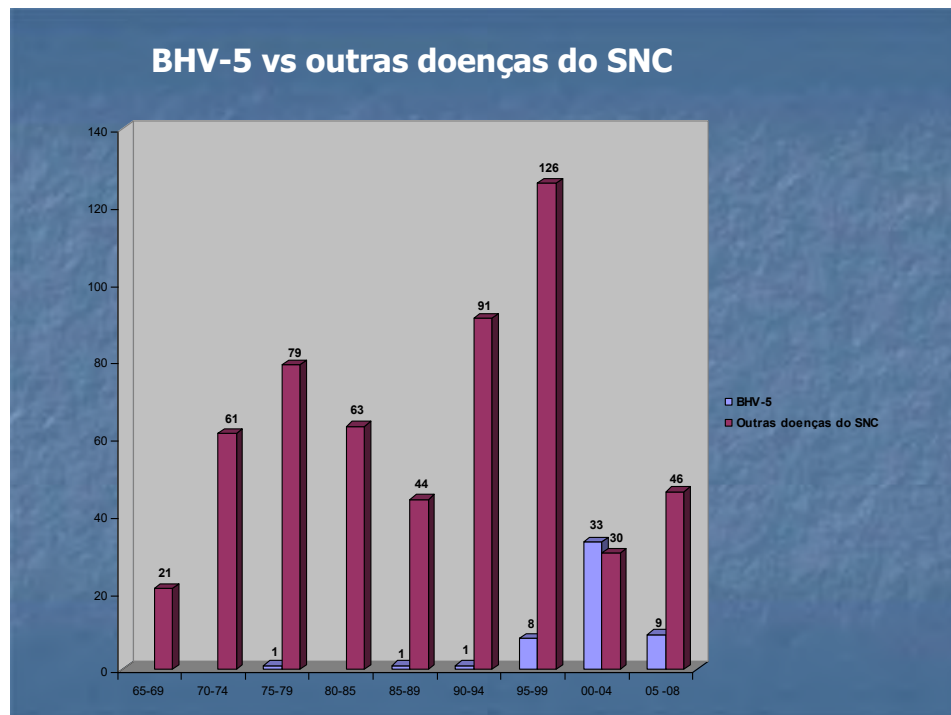


Figura 3. A frequência da meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5 (BHV-5) comparada à frequência das outras doenças do sistema nervoso central em bovinos. Observa-se baixa incidência antes do quinquênio 95-99. Dados do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

A meningoencefalite por BoHV -5 é uma doença infecciosa viral aguda e altamente fatal descrita em diversos países, caracterizada por sinais neurológicos corticais e associada à inflamação do encéfalo e meninges com necrose do córtex telencefálico. Os bovinos são considerados os hospedeiros naturais de BoHV-5; casos espontâneos da enfermidade têm sido descritos apenas nessa espécie, mas anticorpos para BoHV -5

foram detectados no soro de ovinos, e a doença foi reproduzida experimentalmente em ovinos e coelhos. Infecções sistêmicas com viremia pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV -1) podem causar meningoencefalite em bovinos (Rissi et al. 2008). BoHV-5 é um vírus DNA de cadeia dupla, envelopado, família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae, gênero *Varicellovirus*, com capacidade de estabelecer latência em neurônios de gânglios sensoriais após a infecção aguda. O período de incubação é, em geral, de 10-15 dias, mas o vírus pode ficar latente, e a doença pode ocorrer vários meses após a infecção. A distribuição de BoHV-5 no encéfalo de bezerros avaliada por reação em cadeia de polimerase (PCR) demonstrou que o DNA do vírus ocorre consistentemente no gânglio trigêmeo, mesencéfalo, tálamo, córtex olfatório e, com menor frequência, na ponte, cerebelo e córtex occipital. A eliminação de BoHV-5 corre até o 17º dia pós-infecção (PI) nas secreções nasais e até o 9º dia PI nas secreções orais; o pico de eliminação viral ocorre 4-7 dias PI.

Embora previamente atribuídos a BoHV-1, surtos de meningoencefalite por BoHV-5 têm sido descritos em diversos países, como Austrália, Estados Unidos, Canadá, Argentina, Uruguai e Brasil. No Brasil, a doença foi diagnosticada em bovinos do Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás e Rondônia. A prevalência e a distribuição geográficas da infecção por BoHV -5 são pouco conhecidas, mas casos clínicos e meningoencefalite por BoHV-5 parecem apresentar distribuição geográfica restrita, com maior frequência de casos no hemisfério sul, principalmente no Brasil e na Argentina, do que no hemisfério norte.

A idade dos animais afetados é muito variável (2 meses a 3 anos), mas a maioria dos casos ocorre em animais jovens de 13-18 meses. A doença ocorre na forma de surtos, de casos isolados ou de surtos com morbidade baixa (0,05%-5%), embora coeficientes de morbidade de 22%-25% sejam observados quando se consideram apenas os animais do lote em que estão ocorrendo os casos (e não da população total de bovinos da propriedade). A letalidade é alta (75%-100%). Condições de estresse, como desmame, transporte dos animais, vacinações, castrações, troca de pastos, mudanças na alimentação ou intempéries são relacionadas à ocorrência de surtos. Alguns relatos indicam que bovinos criados extensivamente em regime de pastejo são mais frequentemente afetados, embora, em algumas regiões do Rio Grande do Sul, a maioria dos surtos ocorra em bezerros de 6-8 meses, semiconfinados após desmame.

Febre catarral maligna (FCM)

FCM ocorreu em 21 dos 655 casos (3,20%) de doenças dos sistema nervoso central em bovinos estudadas em nosso levantamento. A FCM é uma doença infecciosa, viral, pansistêmica, altamente fatal, com distribuição geográfica ampla. Além de bovinos, afeta mais de 30 espécies de ruminantes (Garmatz et al. 2004), incluindo diversas espécies de cervídeos, bisões e búfalos (Costa et al. 2009) e, ocasionalmente, suínos. Caracteriza-se por febre alta, depressão, corrimento nasal e ocular, erosões e ulcerações na mucosa do trato respiratório superior, ceratoconjuntivite, linfadenopatia, enterite hemorrágica, diarreia, encefalite, exantema cutâneo e artrite. As lesões macro e microscópicas envolvem principalmente os tratos digestivo, respiratório superior e urinário, linfonodos, fígado, olhos e encéfalo. As lesões histológicas características consistem vasculite, infiltrados mononucleares em vários órgãos, hiperplasia linfóide e necrose dos epitélios de revestimento. O "grupo de vírus da FCM" pertence ao gênero *Rhadinovirus* da família Gammaherpesvirinae. A maioria das espécies de ruminantes, domésticos ou selvagens, possui seu radinovírus específico e é bem adaptada a ele, i.é, esses vírus induzem pouco ou nenhum efeito em seus hospedeiros naturais, mas podem causar doença quando afetam espécies diferentes pouco adaptadas. Até o momento, foram identificados quatro vírus do grupo da FCM que causam doença em animais. A forma africana, ou FCM gnu-associada (FCM-GA), é induzida pela cepa alcelaphine herpesvírus 1 (AlHV-1) AlHV-1 é transmitido por gnus (*Connochaetes taurinus* e *C. gnu*, subfamília Alcelaphine). Em locais onde não há gnus ocorre a forma denominada FCM não associada a gnus ou FCM ovino-associada (FCM-OA), pois ovinos são implicados como portadores do agente etiológico, denominado herpesvírus ovino-2 (OvHV-2). As manifestações clínicas e patológicas das formas induzidas por AlHV-1 e OvHV-2 são as mesmas, mas há diferenças epidemiológicas entre as duas. Um terceiro vírus desse grupo induz a FCM clássica no veado-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*); além desses, um vírus endêmico em cabras domésticas, provisoriamente denominado herpesvírus caprino-2 ou CpHV-2, tem sido associado com alopecia, dermatite, perda de peso crônica e diarreia em veados sika (*Cervus nippon*) e veados-de-cauda-branca. Ao contrário de AlHV-1, que já foi isolado em cultura, os outros três agentes patogênicos da FCM são detectados apenas por técnicas moleculares como a reação em cadeia de polimerase - PCR (Garmatz et al. 2004). Atualmente, a técnica da PCR tem sido usada para o diagnóstico da FCM-AO. A FCM tem sido relatada em bovinos de várias regiões do Brasil (Garmatz et al. 2004, Rech et al. 2005, Macêdo et al.

2007). Na maior parte das vezes a FCM afeta bovinos de forma esporádica. Em um levantamento realizado em casos de FCM ocorridos no Rio Grande do Sul entre 1973 e 2003 (Rech et al. 2005) em bovinos de 15 fazendas os seguintes dados foram observados: em nove ocasiões (60%), a doença ocorreu de forma esporádica, afetando 1-3 bovinos por rebanho, enquanto, em seis fazendas (40%), a FCM ocorreu de forma epizootica, afetando vários bovinos em cada rebanho. As taxas de morbidade variaram de 2,4% a 20%, e as taxas de letalidade foram de 83,3% a 100%. Bovinos de todas as idades e ambos os sexos foram afetados. Nos casos em que foi possível obter essa informação (9 fazendas), sempre havia ovinos em contato com os bovinos afetados, e o maior número de casos de FCM ocorreu na primavera e verão. A doença clínica foi aguda ou subaguda, e os sinais clínicos incluíam febre, corrimento nasal e ocular, conjuntivite, salivação excessiva, hematúria, necrose das papilas bucais que se tornavam rombas, linfadenopatia, diarreia e distúrbios neurológicos. Os achados de necropsia incluíam opacidade da córnea, erosões e ulcerações em várias membranas mucosas do trato alimentar, respiratório, urogenital e conjuntiva; aumento de volume e hemorragia em linfonodos e múltiplos focos brancos nos córtices renais e nas tríades portais hepáticas. Dermatite crostosa foi observada em alguns casos. Os principais achados histopatológicos incluíam vasculite, necrose dos epitélios de revestimento e acúmulos de células inflamatórias em vários órgãos, inclusive no SNC. A vasculite era associada com necrose fibrinóide da túnica média das artérias e acompanhada de infiltrado inflamatório constituído por linfoblastos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos.

Encefalopatia Hepática

A lesão de encefalopatia hepática faz parte de um grupo de condições não inflamatórias do SNC e periférico conhecido como *mielinopatias*, nas quais o evento primário está relacionado a um distúrbio na formação, manutenção ou estabilidade da mielina e inclui diversas subcategorias. Nas *mielinopatias espongiformes*, o aspecto dominante é a vacuolização sem degradação significativa ou fagocitose da mielina. Quando observada na microscopia de luz, essa alteração é denominada degeneração esponjosa (DS) ou *status spongiosus* (Barros et al. 2006) e pode resultar de vacuolização (edema) intramielínica. A DS pode ser *primária*, i.é, causada por um agente atuando diretamente no SNC, ou *secundária*, quando o agente atua sobre um outro órgão, e os efeitos daí resultantes refletem-se no SNC. Nas DS secundárias estão incluídas doenças secundárias a lesões hepáticas crônicas, como intoxicação por *Senecio* spp. e *Crotalaria*

spp. que são por isso conhecidas como *encefalopatias hepáticas* (EHs).

A patogênese da DS na EH é complexa, mas resulta da incapacidade metabólica do fígado em destoxificar diversas substâncias com conseqüente acúmulo de amônia, ácidos graxos e mercaptanos no encéfalo e no líquido, além de alterações nas concentrações de neurotransmissores. Entretanto, a hiperamonemia (resultante da insuficiência hepática) é considerada o evento mais significativo na patogênese da EH.

A DS secundária à lesão hepática crônica (encefalopatia hepática) é extremamente comum no Sul do Brasil, principalmente no Rio Grande do Sul e Santa Catarina. A principal causa de encefalopatia hepática nesses casos é a ingestão prolongada de *Senecio* spp., espécies de planta que causam cirrose hepática. Em nosso levantamento de lesões do SNC de bovinos, 192 de 655 (29,31%) de doenças do SNC eram de DS era secundária à insuficiência hepática crônica (encefalopatia hepática) associada à intoxicação por *Senecio* spp.

Nos casos de EH secundária à cirrose hepática por *Senecio* spp. em bovinos, há depressão ou agressividade, pressão da cabeça contra objetos, ranger de dentes, tenesmo e prolapso de reto. Após o estabelecimento dos sinais neurológicos, a letalidade é virtualmente de 100%, e a evolução clínica, ao redor de 48 horas.

Achados macroscópicos na intoxicação por *Senecio* spp incluem fígado firme, com cápsula espessa que dá um tom cinza à superfície do órgão. Na superfície de corte, observam-se múltiplas linhas finas e brancas de tecido fibroso que podem, ocasionalmente, ser acompanhadas de nódulos regenerativos. A vesícula biliar está distendida, há edema da parede e, em cerca de 1/3 dos casos, há nódulos polipóides na mucosa. Edema do mesocólon e das pregas do coagulador são achados freqüentes. Em todos os casos de DS, as lesões encefálicas são observadas apenas no exame histológico. Localizam-se na substância branca, geralmente na interface com a substância cinzenta e consistem de vacúolos ovais ou alongados, de 5-40 µm em diâmetro; a coalescência desses vacúolos é freqüente. No caso da intoxicação por *Senecio* spp. e *Crotalaria* spp., lesões histológicas específicas são encontradas no fígado e consistem de fibrose, megalocitose de hepatócitos e hiperplasia de ductos biliares.

Babesiose Cerebral

Babesiose bovina é um distúrbio hemolítico causado por várias espécies de protozoários do gênero *Babesia* que parasitam eritrócitos e induzem anemia hemolítica intravascular associada à febre, icterícia e hemoglobinúria. *Babesia* spp. são

transmitidas por várias espécies de carrapatos. No Brasil, *Babesia bovis* e *B. bigemina* são as duas espécies responsáveis pela doença em bovinos, e *Boophilus microplus* é o seu único vetor. A babesiose faz parte de um complexo de três doenças conhecido como tristeza parasitária bovina (TPB) que inclui ainda anaplasmoses. Na infecção por *B. bovis* em bovinos, ocorre seqüestro de eritrócitos parasitados nos capilares da substância cinzenta do encéfalo (Rodrigues et al. 2005a). Isso provoca eventos químicos e imunológicos que induzem uma manifestação clínica distinta, caracterizada por sinais neurológicos e conhecida como babesiose cerebral; a infecção por *B. bovis* é a única das três doenças do complexo TBP capaz de causar babesiose cerebral. A babesiose cerebral em bovinos é semelhante à forma cerebral da malária falcípara (infecção por *Plasmodium falciparum*) em pessoas; nessa doença também ocorre seqüestro de eritrócitos na microvasculatura do encéfalo.

Uma proporção dos bovinos infectados por *B. bovis*, desenvolvem-se manifestações neurológicas acentuadas. Essas incluem incoordenação motora, hiperexcitabilidade, opistótono, cegueira, tremores musculares, paralisia dos membros pélvicos, movimentos de pedalagem, pressão da cabeça contra objetos, andar em círculos, agressividade e coma. Durante essa fase de perturbação neurológica, os animais podem introduzir a cabeça embaixo de cercas, valos ou vegetação cerrada. Tais casos neurológicos quase invariavelmente têm um desenlace fatal após um curso clínico agudo ou superagudo que dura desde alguns minutos até 24-36 horas. Outros sinais clínicos encontrados em associação à manifestação neurológica incluem hemoglobinúria, anorexia, febre, taquicardia, taquipnéia e queda na produção de leite.

No levantamento apresentado aqui a babesiose ocorreu em 40 (6,10%) dos 655 casos de doenças observadas no sistema nervoso de bovinos. Na doença aguda produzida por *B. bovis*, as mucosas, tecido subcutâneo, fâscias musculares e íntima das artérias estão amarelas (icterícia). Em casos agudos ou superagudos (que incluem os casos de babesiose cerebral), a icterícia pode ser bastante discreta ou estar ausente. Na necropsia, todas as vísceras da cavidade abdominal estão embebidas por hemoglobina, e o fígado está tumefeito, castanho-amarelado e com bordos arredondados, tanto na superfície capsular quanto na superfície de corte; a vesícula biliar está acentuadamente distendida por bile verde-escura. O baço está aumentado de volume, macio e escuro; a cápsula esplênica está tensa, e a polpa vermelha protrui quando a cápsula é cortada. Os linfonodos estão aumentados de volume, vermelhos e úmidos. Pode haver edema do mesentério. A lesão encefálica é característica: há uma cor cereja em toda a substância

cinzenta do encéfalo, que inclui o córtex telencefálico e cerebelar e os núcleos basais.

Botulismo

O botulismo é uma intoxicação não febril, geralmente fatal, caracterizada por paresia e paralisia flácida, envolvendo a musculatura da locomoção, mastigação e deglutição. Nos bovinos, é causado pela ingestão das neurotoxinas C ou D de *Clostridium botulinum*, previamente formadas em matéria orgânica vegetal ou animal decomposta; é uma das principais causas de mortalidade bovina nos sistemas de produção de corte e leite nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do país (Barros et al. 2006). Os ovinos, caprinos, eqüinos, aves e esporadicamente os suínos também são acometidos. A enfermidade tem curso clínico variável, na dependência da quantidade de toxina ingerida, e o quadro patológico é caracterizado pela ausência de lesões.

C. botulinum é um microrganismo anaeróbio esporulado e putrefativo, encontrado ubiquitariamente no solo, água e trato digestivo de diversas espécies animais e do homem. Em condições ideais, o microrganismo produz a neurotoxina botulínica, que é classificada em sete tipos sorologicamente distintos (A-G), mas que têm ação farmacológica semelhante. Os bovinos se intoxicam quando ingerem material contaminado, geralmente constituído por restos de cadáveres, água ou alimentos. Após sua absorção da luz intestinal, a neurotoxina distribui-se pela circulação linfática e sanguínea, agindo sobre as terminações nervosas periféricas, cujo neurotransmissor é a acetilcolina; essa ação resulta em paralisia flácida progressiva. Ao se ligar nas terminações nervosas, a toxina não pode mais ser neutralizada pela antitoxina homóloga. Não há envolvimento do sistema nervoso central, e a morte decorre da parada respiratória.

A intoxicação botulínica é considerada uma importante causa de mortalidade bovina em diversos países do hemisfério Sul. No Brasil, foi registrada primeiramente na região de Campo Maior, Estado do Piauí, no final da década de 1960, sendo denominada na ocasião de "doença da mão dura". Os surtos de botulismo estão associados à ingestão da toxina previamente formada em cadáveres decompostos, alimentos indevidamente armazenados (milho, silagem, feno, ração), cama de frango, ou ainda pela veiculação hídrica. Bovinos criados em pastos deficientes de fósforo, com suplementação inadequada de mineral, freqüentemente apresentam osteofagia, esses fatores em conjunto com a contaminação ambiental por *C. botulinum* e presença de cadáveres nas pastagens, são fatores determinantes na ocorrência do botulismo na pecuária extensiva.

Os sinais clínicos da intoxicação botulínica incluem inicialmente a dificuldade na locomoção e estado mental aparentemente normal. Com a evolução, intensifica-se a paralisia flácida parcial ou completa da musculatura dos membros, acentuadamente dos pélvicos, seguida de decúbito esternal ou lateral; a percepção sensorial se mantém mesmo após estabelecer-se a paralisia muscular esquelética. Com frequência, os bovinos assumem a posição de auto-auscultação e apóiam o queixo no solo. A intensidade e a rapidez dessa sucessão de eventos diminuem dos casos superagudos para os crônicos. A diminuição dos movimentos da cauda, do tônus da musculatura da língua, midríase, ptose e bradicardia podem ser evidenciadas em parte significativa dos animais intoxicados, mas não necessariamente em todos. Não ocorrem lesões macro ou microscópicas primárias associadas à intoxicação botulínica, uma vez a toxina age na sinapse neuromuscular.

Polioencefalomalacia

Polioencefalomalacia (PEM) é um termo descritivo que indica o diagnóstico morfológico para necrose com amolecimento (*malacia*) da substância cinzenta (pólio) do encéfalo. O uso desse termo tem gerado controvérsia. Em 1956, no Colorado, EUA, ele foi empregado para designar não somente uma lesão, mas uma doença específica de ruminantes, presumivelmente causada por deficiência de tiamina, e caracterizada por necrose do córtex telencefálico. Desde então, PEM tem sido usada como sinônimo dessa condição em ruminantes. No entanto, nem todos os casos de PEM estão associados a distúrbios da tiamina, e várias outras etiologias também produzem essa lesão. No Brasil, o termo PEM tem sido empregado para definir doenças específicas sem que, na maioria dos casos, a etiologia tenha sido investigada, e não há certeza de que se trate da mesma doença ou de várias doenças com a mesma lesão. Nos últimos anos, a maioria dos casos de PEM diagnosticados em bovinos tem sido atribuída ao alto consumo de enxofre, nas formas de sulfato, sulfito e sulfeto nos alimentos na água. Nesses casos, as concentrações de tiamina são normais, mas há também recuperação de animais tratados com tiamina. Esses fatores colocam em dúvida que a PEM seja realmente causada por um distúrbio primário no metabolismo da tiamina. Na PEM causada pela alimentação com melado, os animais afetados apresentam também níveis normais de tiamina nos tecidos e, nesses casos, acredita-se que a doença é causada por altos níveis de enxofre contidos no melado.

No Brasil, a PEM tem sido observada em bovinos adultos em pastejo extensivo, em

vários estados, ao contrário do que é descrito na literatura internacional, que menciona a doença principalmente em bezerros de 8-12 meses de idade, em condições de confinamento ou submetidos a mudanças bruscas de alimentação. Na maioria desses casos, a etiologia não foi determinada, mas alguns aparentemente são relacionados a uma intoxicação por cloreto de sódio associada à privação de água e à ingestão de enxofre.

Os sinais clínicos caracterizam-se por andar incoordenado, cambaleante, em círculos, tremores musculares, cegueira total ou parcial, paralisia da língua, opistótono e nistagmo. Os animais afastam-se do rebanho, e muitos são encontrados em decúbito lateral ou esternal. Quando em decúbito lateral, o bovino afetado pode apresentar convulsões. Nas fases iniciais, o animal pode apresentar certa agressividade e excitação. Se os animais não forem tratados com tiamina, a morte ocorre, geralmente, 2-3 dias após o aparecimento dos sinais clínicos. Entretanto, alguns animais morrem poucas horas após, e outros permanecem até 10 dias em decúbito. A cegueira é um sinal clínico importante e ocorre virtualmente em 100% dos casos. Macroscopicamente, O encéfalo está tumefeito por edema com achatamento dos giros cerebrais e hemiação da porção caudal do telencéfalo, sob a tenda do cerebelo e do verme do cerebelo pelo forâmen magno. As lesões no córtex telencefálico variam desde uma pequena alteração na cor (marrom-amarelada) da substância cinzenta afetada durante os estágios iniciais, até necrose caracterizada por amolecimento (malacia) e alteração acentuada na cor do córtex telencefálico, com liquefação do tecido afetado, após 8-10 dias. Nas fases iniciais, a lesão é auto fluorescente e pode ser visualizada sob a luz ultravioleta. Encéfalos de animais que sobrevivem por um período de tempo maior têm tamanhos reduzidos e apresentam áreas quase totalmente (ou totalmente) desprovidas de córtex. Nessas áreas, apenas uma camada fina de córtex ou apenas as leptomeninges fazem contato com a substância branca.

Microscopicamente, o córtex telencefálico apresenta necrose neuronal (neurônios vermelhos) freqüentemente com distribuição laminar. Há também graus variáveis de edema perivascular e perineuronal tanto no córtex como na substância branca imediatamente subjacente e hipertrofia do endotélio. Com o tempo (após 8 a 10 dias), há necrose de liquefação do córtex telencefálico afetado que termina com remoção do tecido cortical necrótico por macrófagos espumosos, conhecidos no sistema nervoso como células *gitter*.

Tripanossomíase

A tripanossomíase causada por *T. vivax* é descrita em bovinos em várias regiões do Brasil, mas a forma neurológica pode ser considerada uma doença emergente como causadora de lesões encefálicas em bovinos. Um surto de tripanossomíase causada por *T. vivax* foi descrito no semiárido da Paraíba (Batista et. al. 2007). Neste surto 64 vacas de um lote de 130 foram afetadas e vários animais morreram com sinais clínicos neurológicos. As principais lesões histológicas no cérebro consistiam de meningoencefalite e malacia, lesões que são semelhantes às descritas no cérebro de eqüinos na infecção por *T. vivax* (Rodrigues et al. 2005b, 2009).

Referências

1. ALMOND J. & PATTISON J. 1997. Human BSE. Nature 389:437-438.
2. BARROS C.L.S., DRIEMEIER D., DUTRA I.S. & LEMOS R.A.A. 2006. Doenças causadas por vírus e príon, p.21-28. In: Ibid (Eds), Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil. Coleção Vallée, São Paulo.
3. BATISTA J.S., RIET-CORREA F., TEIXEIRA M.M.G., MADRUGA C.R., SIMÕES S.D.V E MAIA T.F. 2007. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. Vet. Parasitol.143:174–181.
4. COSTA E.A., BASTIANETTO E., VASCONCELOS A.C., BOMFIM M.R.Q., FONSECA F.G., GOMES A.D., LEITE R.C. & RESENDE M. 2009. An outbreak of malignant catarrhal fever in Murrah buffaloes in Minas Gerais, Brazil. Pesq. Vet. Bras. 29:395-400.
5. DUTRA I.S. 2001. Epidemiologia, quadro clínico e diagnóstico pela soroneutralização em camundongos do botulismo em bovinos no Brasil, 1989-2000. Tese de Livre Docência. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Campus de Araçatuba, Araçatuba. 133p.
6. GARMATZ S.L., IRIGOYEN L.F., RECH R.R., BROWN C.C., ZHANG J. & BARROS C.S.L. 2004. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: transmissão experimental para bovinos e caracterização do agente etiológico. Pesq. Vet. Bras. 24:93-106.
7. KINGA.A. & TUMERG.S. 1993. Rabies:A review. J. Comp. Pathol.108:1-39.

8. LANGOHR I.M., IRIGOYEN L.F., LEMOS R.A.A. & BARROS C.S.L. 2003. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. *Ciência Rural* 33: 125-131.
9. LEMOS R.A.A., BRUM K.B., BEMARDO K.C., KATAYAMA K.A., MORI A.E., BONILHA M.M. & CAVALLERO J.C.M. 1998. Aspectos epidemiológicos das principais enfermidades caracterizadas por sintomatologia nervosa em bovinos, diagnosticadas no Mato Grosso do Sul. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande. Relatório de Bolsa de Iniciação Científica do CNPq. 16p.
10. MACÊDO J.T.S.A., RIET-CORREA F., SIMÕES S.V.D., DANTAS A.F.M. & NOBRE V.M.T. 2007. Febre catarral maligna em bovinos na Paraíba. *Pedsq. Vet. Bras.* 27:277-281.
11. MORI A.E. & LEMOS R.A.A. 1998. Raiva, p. 47-58 In: LEMOS R.A.A. (ed.) Principais enfermidades de bovinos de corte do Mato Grosso do Sul: reconhecimento e diagnóstico. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
12. RECH R.R., SCHILD A.L., DRIEMEIER D., GARMATZ S.L., OLIVEIRA F.N., RIET-CORREA F. & BARROS C.S.L. 2005. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. *Pesq. Vet. Bras.* 25:97-105.
13. RIET-CORREA F., VIDOR T., SCHILD A.L. & MÉNDEZ M.C. 1989. Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos por herpesvírus bovino-1. *Pesq. Vet. Bras.* 9:13-16.
14. RISSI D.R., OLIVEIRA F.N., RECH R.R., PIEREZAN F., LEMOS R.A.A. & BARROS C.S.L. 2006. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 26:123-132.
15. RISSI D.R., PIEREZAN F., SILVA M.S., FLORES E.F. & BARROS C.S.L. 2008. Neurological disease in cattle in southern Brazil associated with bovine herpesvirus infection. *J.Vet. Diagn. Invest* 20:346-349.
16. RISSI D.R., RECH R.R., FLORES E.F., KOMMERS G.D. & BARROS C.S.L. 2007. Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 27:251-260.
17. RODRIGUES A., FIGHERA R.A., SOUZA T.M., SCHILD A.L., & BARROS C.S.L. 2009. Neuropathology of naturally occurring *Trypanosoma evansi* infection of horses. *Vet. Pathol.* 46:251-258.
18. RODRIGUES A., RECH R.R., BARROS R.R., FIGHERA R. & BARROS C.S.L.

- 2005a. Babesiose cerebral e bovinos: 20 casos. *Ciência Rural* 35:121-125.
19. RODRIGUES A., FIGHERA R.A., SOUZA T.M., SCHILD A.L., SOARES M.P., MILANO J. & BARROS C.S.L. 2005b. Surtos de tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* em eqüinos no Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. *Pesq. Vet. Bras.* 25:239-249.
20. WEIBLEN R., BARROS C.S.L., CANABARRO T.F. & FLORES E.F. 1989. Bovine meningo-encephalitis from IBR virus. *Vet. Rec.* 124:666-667.
21. WELLS G.A.H., SCOTT, A.C., JOHNSON C.R., GUNNING R.F., HANCOCK RD., JEFFREY M., DAWSON M. & BRADLEY R. 1987. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet. Rec.* 121:419-420.
22. WILL R.G., IRONSIDE J.W., ZEIDLER M., COUSENS S.N., ESTIBEIRO K., ALPEOVITCH A, POSER S., POCCHIARI M., HOFMAN A & SMITH P.G. 1996. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 347:921-925.

EPIDEMIOLOGIA DO *Trypanosoma vivax* NO BRASIL

Cláudio Roberto Madruga

Universidade Federal da Bahia
Pesquisador Visitante - Escola de Medicina Veterinária
Av. Ademar de Barros, 500, Ondina
Salvador –Bahia – CEP 40150-250
e-mail: crmadruga@ufba.br

Existem relatos que sugerem que a introdução do *T. vivax* na América Latina ocorreu por ocasião da colonização espanhola nesse continente, mesmo que isso tenha ocorrido, a importação de bovinos do Senegal a Guiana Francesa em 1830 deve ter contribuído para introdução e difusão desse hemoprotozoário na América do Sul, que posteriormente infectou animais em outros países desse continente (Jones & Dávila 2001). Antes da primeira referência no Brasil em 1946, em bovinos do estado do Pará (Boulhosa, 1946), a presença do *T. vivax* foi registrada na Venezuela (1920), Colômbia (1931), Suriname e Guiana, (1939) (Jones & Dávila, 2001). Entretanto, é considerado o primeiro registro oficial de *T. vivax*, o diagnóstico em búfalos nas cercanias de Belém realizado por Shawn & Larson (1972). Na região norte, posteriormente no final da década de 1970 e início de 1980 houveram vários diagnósticos desse parasito em bovinos, bubalinos e ovinos dos estados do Pará e Amapá (Serra-Freire, 1981). Somente em 1995 foi realizada identificação desse parasito fora da região norte do país no Pantanal da região de Poconé, estado de Mato Grosso (Silva et. al, 1995). Esse surto se caracterizou por manifestações de febre, anemia profunda, lacrimejamento, queratite, edema, perda de peso que resultaram em morte (Silva et. al, 1996). Outros surtos no Pantanal se sucederam com quadros clínicos severos que além dos sintomas já mencionados também foram descritos diarreia, aborto, nascimento de bezerros fracos com morte perinatal (Osório, et al., 2009). Em decorrência do número de surtos e o surgimento destes no Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul (Paiva et al., 1997), houve crença que a entrada e difusão do *T. vivax* no Pantanal era recente e que poderia estar relacionada ao comércio de gado incrementado pela abertura de rodovias interligando as regiões norte e centro-oeste e também ao advento da mosca dos chifres nessa região, que havia difundido da região norte para o sul. Entretanto, levantamento sorológico realizado nos anos de 1975-1976 em bovinos do então estado de Mato Grosso por imunofluorescência indireta demonstrou que mais da metade da população apresentava anticorpos contra *T. vivax* (Wells et al.,1977).

Nas áreas endêmicas para *T. vivax* da América Latina como nas terras baixas da Colômbia, as manifestações clínicas são esporádicas, sem uma clara identificação dos fatores desencadeantes desses episódios (Otte et al, 1994).

Levantamento soroepidemiológico com teste ELISA em diversas regiões do Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul e no estado do Pará evidenciou prevalências variáveis entre as microregiões, e uma ampla distribuição do *T. vivax* nessas áreas geográficas (Madruga et al.,2006).

Tabela 1. Prevalência de *Trypanosoma vivax* em bovinos de corte na região do Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul determinado por imunoadsorção enzimática (ELISA)

Região	Número bovinos	Número Positivos	Prevalência
Corumbá	548	394	71,9
Miranda	214	127	59,3
Aquidauana	516	359	69,6
Rio Negro	501	141	28,1
Rio Verde	579	298	51,5
Porto Murtinho	150	86	57,3
Total	2508	1405	56,0

Fonte: Madruga et al.,2006

A maior prevalência da região do Pantanal do MS ocorreu possivelmente, porque a maioria das microregiões das amostragens, possuíam terras baixas alagadiças, enquanto que no Pará, apenas parte da região de Belém e principalmente a ilha de Marajó (tabela 2). Esses resultados estão em consonância com dados obtidos em outras áreas de terras baixas como os Lhanos Orientales da Colômbia (Otte et al., 1994), pois entre os fatores que influenciam a transmissão do *T. vivax* na América Latina está a população de insetos hematófagos que são maiores em áreas pantanosas.

Tabela 2. Prevalência de *Trypanosoma vivax* em bovinos de diferentes regiões do estado do Pará determinado por imunoadsorção enzimática (ELISA).

Região	Número bovinos	Número Positivos	Prevalência
Marajó	101	394	69,3
Região Belém	213	127	44,1
Sudoeste	117	141	30,8
Nordeste	116	298	24,1
Sudeste	509	86	18,9
Total	1056	324	30,7

Fonte: Madruga et al.,2006

No Pantanal dos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, a epidemiologia do *T. vivax*, esta diretamente associada aos períodos de seca e inundação do Pantanal. Nos três a cinco meses de enchente que ocorre anualmente há uma redução da área de pastagem e consequentemente aumento da densidade animal por área. Esses fatores provocam problemas nutricionais tornando os animais mais susceptíveis tripanosomíase, decorrente da infecção de *T. vivax* transmitida principalmente por tabanídeos que nesse período tem a população aumentada (Barros & Foil 1999) ou por recidiva da infecção em animais portadores depauperados, pois esse hemoprotozoário é um organismo oportunista. A maior incidência do *T. vivax* em animais do pantanal nesse período foi demonstrada por Dávila et al. (2003) Essa dinâmica de infecção também ocorre em áreas alagadiças semelhantes como os Lhanos Orientales da Colombia (Otte & Abuabara, 1991), e provavelmente na ilha de Marajó que ainda não tem estudos epidemiológicos.

Nos sistemas de produção dos estados de Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, a região do Pantanal concentra a fase de cria e recria de bovinos e a fase de engorda ou mesmo de recria em algumas ocasiões, são efetuadas no planalto desses estados ou em fazendas de engorda de outros estados como Goiás, São Paulo e Paraná. Consequentemente há deslocamento de bovinos portadores do Pantanal para outras áreas.

Durante dois anos foi investigada a dinâmica de infecção em bovinos transferidos das terras baixas do pantanal para área de planalto. Para atender esse

objetivo três grupos distintos foram formados e monitorados; o primeiro de bovinos portadores com parasitemia e com anticorpos anti- *T. vivax* detectados por teste ELISA, o segundo grupo com sorologia positiva apenas, e o terceiro grupo composto de animais negativos no exame parasitológico e sorológico. Com base no número de animais soropositivos no teste ELISA foi verificada maior incidência de *T. vivax* no período de menor precipitação pluviométrica dos dois anos de monitoramento, embora nenhum surto com manifestações clínicas tenha ocorrido (Martins et al., 2008). Isso também foi observado em área não pantanosa da Guiana Francesa (Desquesnes & Gardiner 1993).

Uma possível explicação estaria relacionada as condições nutricionais, pois no período de chuvas as pastagens proporcionariam uma alimentação de melhor qualidade aos bovinos, enquanto que no período seco seria inferior. A favor dessa hipótese existem as constatações de que os animais com boa alimentação controlam o desenvolvimento de parasitemia do *T. vivax* evitando que essas sejam elevadas o suficiente para causar anemia, isto é essa enfermidade adquire caráter benigno (Paiva et al. 2000, Schenk et al. 2001) e não há expressão clínica da enfermidade (Katunguka-Rwakishaya et al. 1999). Na área em que os bovinos foram mantidos ocorreu a presença de diversos tabanídeos (tabela 3), inclusive *T. importunus* que já foi identificado como transmissor mecânico de *T. vivax* (Otte & Abuabara 1991).

Tabela 3. Espécies de tabanídeos capturados em planalto adjacente as terras baixas do Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul.

Espécies de Tabanídeos	Porcentagem
<i>Tabanus occidentalis</i>	62,2
<i>T. sorbilans</i>	4,7
<i>T. palpalis</i>	4,2
<i>T. claripennis</i>	3,8
<i>T. importunus</i>	3,3
<i>Lepiselaga crassipes</i>	7,2
<i>Fidena aureosericea</i>	3,1

Martins et al., 2008

Portanto, o maior número de bovinos com sorologia positiva no período de seca pode ser devido a recidivas de animais portadores ou transmissão pelos insetos

hematófagos, que apesar da menor população com relação ao período chuvoso é suficiente para manter a transmitir o *T. vivax*. Isso é factível, porque esse hemoprotozoário é sequestrado no sistema nervoso e humor aquoso onde o sistema imune não atua (Whitelaw et al. 1988), tornando o animal portador. A prevalência de animais soropositivos no final do período de monitoramento indicou que o manejo satisfatório do rebanho evitou a expressão da doença apesar da persistência de animais portadores. Portanto, caso esses animais sejam submetidos a um acentuado stress podem apresentar tripanosomíase por *T. vivax*. Os episódios de tripanosomíase verificados em várias regiões do território brasileiro devem ser decorrentes dessa situação em que há introdução de animal portador com parasitemia, população de vetores mecânicos suficientes para efetuar a transmissão e animais susceptíveis a infecção do *T. vivax*.

Na região Nordeste, o primeiro surto de tripanossomíase por *T. vivax* foi diagnosticado em 2002, no município de Catolé do Rocha, Paraíba. Neste surto, os bovinos manifestaram sintomatologia semelhante a aquelas apresentadas nos surtos descritos no Pantanal, inclusive com mortalidade (Batista et al. 2007). A fonte de infecção que proporcionou esse surto possivelmente foram animais oriundos do estado do Maranhão que foram introduzidos na propriedade segundo informações pessoais dos autores. Embora apenas 2003 tenha sido efetuado o primeiro diagnóstico parasitológico de *T. vivax* no município de Itacru-Mirim desse estado, em rebanho de gado de leite que apresentou manifestações clínicas de tripanosomíase e mortalidade (Guerra et al., 2008), devido a proximidade geográfica do estado do Pará e das condições climáticas, o Maranhão também deve apresentar uma ampla difusão desse hemoprotozoário com uma população significativa de animais portadores.

O exame sorológico por meio do teste ELISA confirmou que houve a introdução do *T. vivax* que resultou no surto da fazenda do sertão da Paraíba, pois em sorologia prévia a esse episódio nenhum animal evidenciou anticorpos contra *T. vivax*, o que indica ausência da infecção deste hemoprotozoário no rebanho. Por outro lado, a sorologia efetuada dois anos após o surto (2004) indica a presença de bovinos portadores com capacidade de controlar a infecção, pois o parasito não foi encontrado no exame de Woo e os parâmetros hematológicos estavam normais (Batista et al. 2007).

O relevante papel do estado de portador e o surgimento de condições predisponentes a recidiva com parasitemia como é o caso de stress nutricional destes animais, no surgimento de novos focos de tripanosomíase é demonstrado por surtos que ocorreram em rebanho leiteiro no sertão da Paraíba. Devido a pouca disponibilidade de

forragem, bovinos da propriedade em que havia ocorrido surto de *T. vivax* (Batista et al., 2007) foram deslocados a uma propriedade com melhores condições de pastagens durante o período seco (agosto-dezembro). Coincidentemente nesse período foi constatado também o aumento da população de mutucas (*Tabanus* spp.) e moscas dos estábulos (*Stomoxys calcitrans*) o que deve ter contribuído na propagação da infecção do *T. vivax* no rebanho (Batista et al. 2008)

A existência de bovinos portadores com parasitemia, e aumento da população de vetores mecânicos poderiam ter sido a fonte de infecção de *T. vivax* para ovinos e caprinos que resultaram em surtos verificados em 2008 nessa mesma região (Batista et al., 2009). A real prevalência de *T. vivax* nos ovinos e caprinos nas propriedades rurais estudadas poderia ser significativamente maior que o percentual de positivos no exame parasitológico (tabela 4), pois os portadores crônicos possuem parasitemias não detectáveis por esse exame diagnóstico. Portanto essa região do estado da Paraíba possui bovinos, caprinos e ovinos que podem difundir o *T. vivax* para outras áreas, bem como esses rebanhos infectados podem apresentar recidivas e novos surtos, quando fatores predisponentes ocorrerem nas propriedades.

No estado de Tocantins também houve descrição de surto de tripanosomíase por *T. vivax* em um rebanho bovino da raça Brahman, provenientes de São Paulo (Linhares et al., 2006). Nesse caso possivelmente houve a introdução de animais susceptíveis por advirem de área livre para área enzoótica. No estado de Minas Gerais também há relato de infecção de *T. vivax* em bovino que apresentava sintomatologia semelhante a descrita em casos clínicos de tripanosomíase (Carvalho et al., 2007). Portanto a descrição de novos focos de tripanosomíase em áreas em que o *T. vivax* não havia sido detectado anteriormente esta baseada na introdução de animais portadores em áreas livres ou vice versa, manejo inadequado dos bovinos e a presença dos vetores mecânicos. Com relação a estes há um risco potencial de difusão de *T. vivax* em áreas em que há desequilíbrio ambiental devido a exploração da cana de açúcar. Aumento considerável da população do *Stomoxys calcitrans* (mosca dos estábulos) foi verificado em decorrência do substrato formado pelo vinhoto subproduto da cana de açúcar que contribui para viabilidade biológica desse muscídeo que comprovadamente é vetor mecânico do *T. vivax*.

Tabela 4. Prevalência de *Trypanosoma vivax* em ovinos e caprinos na região do semi-árido da Paraíba, em dois levantamentos executados em maio e outubro de 2008.

Áreas Rurais	Fazenda	Ovinos				Caprinos			
		Levantamento1		Levantamento2		Levantamento1		Levantamento2	
		Nº Animais	Animais positivos (%)	Nº Animais	Animais positivos (%)	Nº Animais	Animais positivos (%)	Nº Animais	Animais positivos (%)
Belém do Brejo do Cruz	1	22	5 (22,7%)	24	4 (16,6%)	14	6 (42,8%)	16	5 (31,2%)
	2	30	10 (33,3%)	33	8 (24,2%)	18	7 (27,7%)	20	6 (30,0%)
Catolé do Rocha	3	28	8 (28,8%)	31	7 (22,5%)	32	7 (21,8%)	35	5 (14,7%)
	4	38	7 (18,4%)	42	6 (14,2%)	20	5 (25,0%)	22	4 (18,1%)
Total		118	30 (25,4%)	130	25 (19,2%)	84	25 (29,7%)	93	20 (21,5%)

Batista et al., 2009

Conclusões

O diagnóstico do *T. vivax* que inicialmente estava restrito a áreas alagadiças do Brasil da região Norte e posteriormente Pantanal tem sido identificado em surtos de tripanosomíase de regiões inesperadas como o sertão do nordeste. Devido as características da infecção que produz um estado de portador, e apresenta recidivas sob condições de stress há o potencial de difusão para áreas até o momento consideradas livres. O desequilíbrio ambiental com aumento da população de insetos hematófagos como *Stomoxys calcitrans*, vetor mecânico do *T. vivax* também poderá contribuir para a difusão desse hemoprotozoário que causa significativo impacto na produtividade de bovinos, ovinos e caprinos durante os surtos dessa enfermidade.

Referências

1. BARROS, T., FOIL, L. Seasonal occurrence and relative abundance of Tabanidae (Diptera) from the Pantanal region. Mem. Entomol. Int. v.14,p.387-396,1999.
2. BATISTA, J.S., BEZERRA, F.S.B., LIRA, R.A., CARVALHO, J.R.G., NETO A.M.R., PETRI, A.A., TEXEIRA, M.M.G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. Pesq. Vet. Bras.v.28, p.63-69, 2008
3. BATISTA, J.S., OLIVEIRA, A.F., RODRIGUES, C.M., DAMASCENO, C.A., OLIVEIRA, I.R., ALVES, H.M., PAIVA, E.S., BRITO, P.D., MEDEIROS, J.M., RODRIGUES, A.C., TEIXEIRA, M.M. Infection by *Trypanosoma vivax* in goats and sheep in the Brazilian semiarid region: From acute disease outbreak to chronic cryptic infection. j.vetpar.2009.07.005 doi:10.1016/
4. BATISTA, J.S., RIET-CORREA, F., TEIXEIRA, M.M., MADRUGA, C.R., SIMÕES, S.D., MAIA, T.F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. Vet Parasitol.v.143(2),p.174-181, 2007
5. BOULHOSA J. Informação Científica, Boletim Técnico Ministério da Agricultura, p. 21-26, 1946.
6. CARVALHO, A.U., ABRÃO, D.C.; FACURY FILHO, E.J., PAES, P.R.O., RIBEIRO, M.F.B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. v.60 (.3) 2008
7. DAVILA, A.M.R., HERRERA, H.M., SCHLENBINGER, T, SOUZA, S.S., TRAUB-CSEKO, Y.M. Using PCR for unraveling the cryptic epizootiology of livestock trypanosomiasis in the Pantanal, Brazil. Vet Parasitol v.117,p.1-13, 2003
8. DESQUESNES, M., GARDINER, P.R. Épidémiologie de la trypanosome bovine (*Trypanosoma vivax*) en Guyana Française. Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop. v.46, p.463-470, 1993.
9. GUERRA, R.M.S., FEITOSA-JUNIOR, A.B., SANTOS,H.P., SILVA, A.L.A., SANTOS C.G. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. .Cienc. Rural.v38,p.833-835, 2008
10. JONES, T.W., DÁVILA, A.M., Trypanosoma vivax out of África. Trends in Parasitol. v.17, p.99-101, 2001

11. KATUNGUKA-RWAKISHAYA, E., MURRAY, M., HOLMES, P.H. The influence of energy intake on some blood biochemical parameters in Scottish blackface sheep infected with *Trypanosoma congolense*. Vet. Parasitol.v.84,p.1-11, 1999.
12. MADRUGA,C.R., ARAÚJO, F.R., CAVALCANTE-GOES, G., MARTINS, C., PFEIFER, I.B., RIBEIRO, L.R., KESSLER, R.H., SOARES C.O., MIGUITA, M., MELO, E.P.S., ALMEIDA, R.F.C., LIMA JR., M.S.C. The development of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Trypanosoma vivax* antibodies and its use in epidemiological surveys. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. v.101, p.801-807, 2006
13. MARTINS, C.F., MADRUGA, C.R, KOLLER, W.W., ARAÚJO, F.R., SOARES, C.O., KESSLER, R.H., MELO, E.S.P., RIOS, L.R., ALMEIDA, R.C.F., LIMA JR, M.S.C., BARROS, A.T.M., MARQUES, L.C. *Trypanosoma vivax* infection dynamics in a cattle herd maintained in a transition area between Pantanal lowlands and highlands of Mato Grosso do Sul, Brazil. Pesq.Vet. Bras.v.28,p.51-56, 2008.
14. OSÓRIO, A.L.A.R., MADRUGA, C.R., DESQUENES, M., SOARES, C.O.,RIBEIRO, L.R.R., DA COSTA, C.G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World- A Review Memórias Inst. Oswaldo Cruz .v.103,p.1-13, 2008
15. OTTE, M.J., ABUABARA, J.Y. Transmission of South American *Trypanosoma vivax* by the neotropical horsefly *Tabanus nebulosus*. Acta Trop. 49:73-76, 1991.
16. OTTE, M.J., ABUABARA, J.Y., WELLS, E.A. *Trypanosoma vivax* in Colômbia: epidemiology and production losses. Trop.Anim.Health Prod., v.26, p.146-156, 1994
17. PAIVA, F., LEMOS, R.A.A., NAKASATO, L., MORI, A.E., BRUM, K.B., BERNARDO, K.C., Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. I. Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. Rev. Bras. Parasitol. Vet. v.9,p.135–141, 2000.
18. PAIVA, F., LEMOS, R.A.A., OSHIRO, E.T., SALVADOR, S.C., NAKASATO, L. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* em bovinos do estado de Mato Grosso do Sul. Rev. Bras.Parasitol Vet.v.6 (Supp.1),p.349, 1997
19. SCHENK, M.A.M., MENDONÇA, C.L., MADRUGA, C. R., KOHAYAGAWA, A., ARAÚJO, F.R. Avaliação clínico laboratorial de bovinos Nelore infectados experimentalmente com *Trypanosoma vivax*. Pesq.Vet. Bras.v.21,p.157-161, 2001

20. SERRA FREIRE, N.M. Oiapoque—outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. Rev. Bras. Med. Vet. v. 4,p.30–31, 1981
21. SHAW, J.J, LAINSON R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. Ann Trop Med Parasitol. v 66,p. 25-32, 1972.
22. SILVA, R.A.M.S., SILVA, J.A., SCHNEIDER, R.C., FREITAS, J., MESQUITA, D., MESQUITA, T., RAMIREZ, L., DÁVILA, A.M.R., PEREIRA M.E.B. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal, Brazil. Memórias Inst. Oswaldo Cruz .v.91(5),p.561-562, 1996
23. WELLS, E.A. Serological evidence for the geographical distribution of *Trypanosoma vivax* in the New World. Transactions Royal Soc, Trop. Med. Hyg.v.71, p.448-449, 1977
24. WHITELAW, D.D., GARDINER, P.R., MURRAY M. Extravascular foci of *Trypanosoma vivax* in goats: the central nervous system and aqueous humor of the eye as potential sources of relapse infections after chemotherapy. Parasitology.v. 7, p.:51-61, 1988.

SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA BRUCELOSE BOVINA NO BRASIL: BASES PARA AS INTERVENÇÕES

José Soares Ferreira Neto
Universidade de São Paulo - USP
Professor Titular da FMVZ
Comitê Científico Consultivo do PNCEBT-MAPA

Introdução

A brucelose e a tuberculose bovinas são doenças bacterianas de caráter crônico causadoras de perdas econômicas à exploração pecuária de leite e carnes que podem ser transmitidas para o homem. Em vários países do mundo têm sido alvos de programas de controle desde o início do século XX, alguns dos quais conseguiram erradicá-las. As estratégias de combate para ambas as doenças são bastante parecidas e conhecidas, havendo um grande número de registro de sucessos e fracassos na literatura especializada. Os programas bem estruturados e conduzidos atingem bons níveis de controle, com diminuição importante das freqüências das doenças depois de aproximadamente 20 anos de trabalho. São programas laboriosos, demandando ações bem coordenadas dos serviços oficiais e privados, que trazem como resultado não só a eliminação das duas doenças, mas também a organização, fortalecimento e amadurecimento dos serviços de defesa sanitária animal, bem como a modernização das cadeias produtivas de carne e leite.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) brasileiro, verificando a ineficácia das medidas até recentemente adotadas, elaborou e lançou, no início de 2001, o Programa Nacional de Controle Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Trata-se de um programa harmonizado com as condutas preconizadas por organismos internacionais e suficientemente flexível a ponto de permitir sua implementação nos heterogêneos Estados brasileiros (BRASIL, 2006).

Tanto a brucelose (*Brucella abortus*) quanto a tuberculose (*Mycobacterium bovis*) grassam em todo o território nacional, porém sua prevalência e distribuição regional não estão bem caracterizadas. Sabe-se que a brucelose atinge tanto rebanhos de corte quanto de leite, enquanto a tuberculose está mais concentrada nas explorações leiteiras. Ambas afetam a população de bubalinos. A Tabela 1 traz os resultados de estudos de freqüência da

brucelose bovina no Brasil, iniciando com os dados do último diagnóstico de situação em nível nacional, realizado em 1975.

Tabela 1: Resumo dos estudos sorológicos estaduais para diagnóstico da brucelose bovina realizados no Brasil a partir de 1975.

Unidade Federativa	frequência de animais sororeatores (%)						
	data	1975	1980	1986	1989	1996	1998
NORTE		4,1					
Rondônia							
Acre							
Amazonas							
Roraima							
Pará		11,6					
Amapá							
Tocantins							
NORDESTE		2,5					
Maranhão		1,3					
Piauí		0,2					
Ceará		0,6					
Rio Grande Norte		0,8					
Paraíba		0,8					
Pernambuco		1,5					
Alagoas		0,9					
Sergipe		10,5					
Bahia		6,2					
SUDESTE		7,5					
Minas Gerais		7,6	6,7				
Espírito Santo		9,6					
Rio de Janeiro		4,6					
São Paulo		6,8					
SUL		4,0					
Paraná		9,9			4,6		
Santa Catarina		0,2				0,6	
Rio Grande Sul		2,0		0,3			
CENTRO OESTE		6,8					
Mato Grosso		6,25					
Mato Grosso do Sul							6,3
Goiás							
Distrito Federal							

Fonte: PAULIN, FERREIRA NETO, 2003

Os dados de notificações oficiais, publicados nos Boletins de Defesa Sanitária Animal, indicam que a prevalência de animais soropositivos para brucelose manteve-se entre 4% e 5%, no período de 1988 a 1998.

Os dados de notificações oficiais de tuberculose bovina indicam uma prevalência média nacional de 1,3% de animais infectados, no período de 1989 a 1998. Estudo bem conduzido, realizado em 1999, em sete regiões do Estado de Minas Gerais, envolvendo aproximadamente 1.600 propriedades e 23.000 animais, estimou a prevalência de animais infectados em 0,8%. No mesmo estudo foram detectadas 5% de propriedades com animais reagentes, sendo importante destacar que este valor subiu a 15% no universo de propriedades produtoras de leite com algum grau de mecanização da ordenha e de tecnificação da produção (BELCHIOR, 2000).

O conhecimento da real situação epidemiológica de ambas as doenças por Estados e regiões é de extrema importância quando se pretende implementar um programa de controle e erradicação, por duas razões principais: 1) Permite escolher as melhores estratégias, pois essas podem diferir dependendo da frequência e padrão de distribuição das doenças nas sub-populações estudadas; 2) O conhecimento da situação inicial permite acompanhar o andamento do programa e julgar, racionalmente, se há necessidade de promover correções, evitando o desperdício de tempo e recursos.

Dada a importância do PNCEBT para as cadeias produtivas de carne e leite, para os consumidores de produtos de origem animal, para a imagem que o país projeta nos mercados mundiais e tendo em vista os altos custos inerentes aos procedimentos necessários para se atingir os objetivos do programa, julga-se necessária a realização de estudos que visem elucidar a situação epidemiológica dessas duas zoonoses nos plantéis bovinos brasileiros, com objetivo precípuo de permitir a escolha das melhores condutas e estratégias para os vários Estados e regiões e criar um mecanismo racional de verificação da efetividade das ações implementadas.

Para tanto, foi estabelecido um termo de cooperação técnica entre o MAPA e a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, publicado no Diário Oficial da União em 1 de janeiro de 2003, cujo objetivo foi desenvolver estudos epidemiológicos no âmbito do PNCEBT, sendo um deles a caracterização da situação

epidemiológica da brucelose e da tuberculose bovinas nas unidades federativas (UF) brasileiras. A Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília também integrou o grupo, e é necessário destacar que, em vários estados, houve a colaboração importante de laboratórios estaduais e de pesquisadores de outras universidades, nas quais estes estudos deram origem a projetos bem sucedidos de pós-graduação.

Esse relato trata especificamente dos resultados até então alcançados para a o estudo da situação epidemiológica da brucelose bovina.

A adesão das UF ao estudo de caracterização epidemiológica da brucelose bovina foi espontânea e o aporte de recursos federais ocorreu sempre que necessário. O ritmo do trabalho de campo foi sempre ditado pela capacidade operacional de cada UF e em todos os casos desenvolveu-se com rapidez e eficiência. Hoje, já foram concluídos os estudos em 15 UF, a saber: Bahia, Santa Catarina, Espírito Santo, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Rondônia, São Paulo, Sergipe e Tocantins, cujos resultados serão publicados em número especial do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia ainda este ano. Excetuando o Estado do Mato Grosso do Sul, todas as demais UF realizaram os trabalhos de campo entre outubro de 2001 e dezembro de 2004. Mato Grosso do Sul optou por aproveitar os resultados do trabalho de campo realizado em 1998.

Apesar do tempo decorrido desde o início das operações de campo, é bastante razoável agrupar os resultados das UF em uma única publicação, dadas as características epidemiológicas da doença, que é de difusão lenta, além da complexidade e dos custos envolvidos nesses estudos, inéditos na história da saúde animal brasileira. Mais ainda, o respeito às limitações das UF para aderir ao projeto foi fundamental para o sucesso das atividades até então desenvolvidas.

Material e métodos

O estudo foi planejado por técnicos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, da Universidade de São Paulo e da Universidade de Brasília, em colaboração com os técnicos dos Serviços Veterinários Oficiais dos Estados. O trabalho de campo foi realizado por técnicos dos Serviços Veterinários Oficiais dos Estados.

Para que fossem conhecidas as diferenças regionais nos parâmetros epidemiológicos da brucelose bovina, os Estados foram divididos em quatro circuitos produtores de bovinos, levando em consideração os diferentes sistemas de produção, práticas de manejo, finalidades de exploração, tamanho médio de rebanhos e sistemas de comercialização. A divisão do Estado em regiões correspondentes a circuitos produtores também levou em conta a capacidade operacional e logística do serviço veterinário oficial do Estado para a realização das atividades de campo, baseando-se nas áreas de atuação das suas unidades regionais.

Em cada circuito produtor, estimou-se a prevalência de propriedades infectadas pela brucelose bovina e a de animais soropositivos por meio de um estudo amostral em dois estágios, dirigido para detectar focos da doença. No primeiro estágio, sorteou-se, aleatoriamente, um número pré-estabelecido de propriedades com atividade reprodutiva (unidades primárias de amostragem). No segundo, sorteou-se um número pré-estabelecido de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses (unidades secundárias de amostragem).

Nas propriedades rurais onde existia mais de um rebanho, foi escolhido o rebanho bovino de maior importância econômica, no qual os animais estavam submetidos ao mesmo manejo, ou seja, sob os mesmos fatores de risco. A escolha da unidade primária de amostragem foi aleatória, baseada no cadastro de propriedades rurais com atividade reprodutiva de bovinos. A propriedade sorteada que, por motivos vários, não pôde ser visitada, foi substituída por outra, nas proximidades e com as mesmas características de produção. O número de propriedades selecionadas por circuito foi estimado pela fórmula para amostras simples aleatórias (Thrusfield, 2007). Os parâmetros adotados para o cálculo foram: nível de confiança de 0,95, prevalência estimada de 0,25 e erro de 0,05. A capacidade operacional e financeira do serviço veterinário oficial do Estado também foi levada em consideração para a determinação do tamanho da amostra por circuito.

O planejamento amostral para as unidades secundárias visou estimar um número mínimo de animais a serem examinados dentro de cada propriedade de forma a permitir a sua classificação como foco ou não foco de brucelose. Para tanto, foi utilizado o conceito de sensibilidade e especificidade agregadas (Dohoo et al., 2003). Para efeito dos cálculos foram adotados os valores de 95% e 99,5%, respectivamente, para a sensibilidade e a

especificidade do protocolo de testes utilizado (Fletcher et al., 1988) e 20% para a prevalência estimada. Nesse processo foi utilizado o programa Herdacc versão 3, e o tamanho da amostra escolhido foi aquele que permitiu valores de sensibilidade e especificidade de rebanho iguais ou superiores a 90%. Assim, nas propriedades com até 99 fêmeas com idade superior a 24 meses, foram amostrados 10 animais e nas com 100 ou mais fêmeas com idade superior a 24 meses, 15 animais. A escolha das fêmeas dentro das propriedades foi casual sistemática.

O protocolo do sorodiagnóstico foi composto pela triagem com o teste do antígeno acidificado tamponado (Rosa Bengala), seguida do reteste dos positivos com o teste do 2-mercaptoetanol, de acordo com as recomendações do PNCEBT (Brasil, 2006). Os testes sorológicos foram realizados por várias instituições: LANAGRO ou Laboratórios dos Serviços Veterinários Estaduais ou então de Universidades.

A propriedade foi considerada positiva quando se detectou pelo menos um animal positivo. As propriedades que apresentaram animais com resultado sorológico inconclusivo, sem nenhum positivo, foram classificadas como suspeitas e excluídas das análises. O mesmo tratamento foi dado aos animais com resultados sorológicos inconclusivos.

O planejamento amostral permitiu determinar as prevalências de focos e de fêmeas adultas ($\geq 24m$) soropositivas para brucelose no Estado e também nos circuitos produtores. Os cálculos das prevalências aparentes e os respectivos intervalos de confiança foram realizados conforme preconizado por Dean et al. (1994). Os cálculos das prevalências de focos e de animais no Estado, e de prevalências de animais dentro das regiões foram feitos de forma ponderada (Dohoo et al., 2003).

O peso de cada propriedade no cálculo da prevalência de focos no Estado foi dado por

$$P_1 = \frac{\text{propriedades na região}}{\text{propriedades amostradas na região}}$$

O peso de cada animal no cálculo da prevalência de animais no Estado foi dado por

$$P_2 = \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses na propriedade}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses amostradas na propriedade}} \times \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses na região}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses nas propriedades amostradas na região}}$$

Na expressão acima, o primeiro termo refere-se ao peso de cada animal no cálculo das prevalências de animais dentro das regiões.

Em cada propriedade amostrada, além da coleta de sangue para a sorologia, foi também aplicado um questionário epidemiológico, elaborado para obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas.

As variáveis colhidas e analisadas foram: tipo ou sistema de exploração (carne, leite e misto), tipo de criação (confinado, semiconfinado, extensivo), uso de inseminação artificial, raças predominantes, número de vacas com idade superior a 24 meses, número de bovinos na propriedade, presença de outras espécies domésticas, presença de animais silvestres, destino da placenta e dos fetos abortados, compra e venda de animais, vacinação contra brucelose, abate de animais na propriedade, aluguel de pastos, pastos comuns com outras propriedades, pastos alagados, piquete de parição e assistência veterinária.

As variáveis foram organizadas de modo a apresentarem-se em escala crescente de risco. Quando necessário, realizou-se a recategorização dessas variáveis. A categoria de menor risco foi considerada como base para a comparação das demais categorias. As variáveis quantitativas foram recategorizadas em percentis.

Foi feita uma primeira análise exploratória dos dados (univariada) para seleção daquelas com $p \leq 0,20$ para o teste do χ^2 ou exato de Fisher e, subsequente, oferecimento dessas à regressão logística. Os cálculos foram realizados com o auxílio do programa SPSS, versão 9.0.

Todas as informações geradas pelo trabalho de campo e de laboratório foram inseridas em um banco de dados específico, utilizado nas análises epidemiológicas.

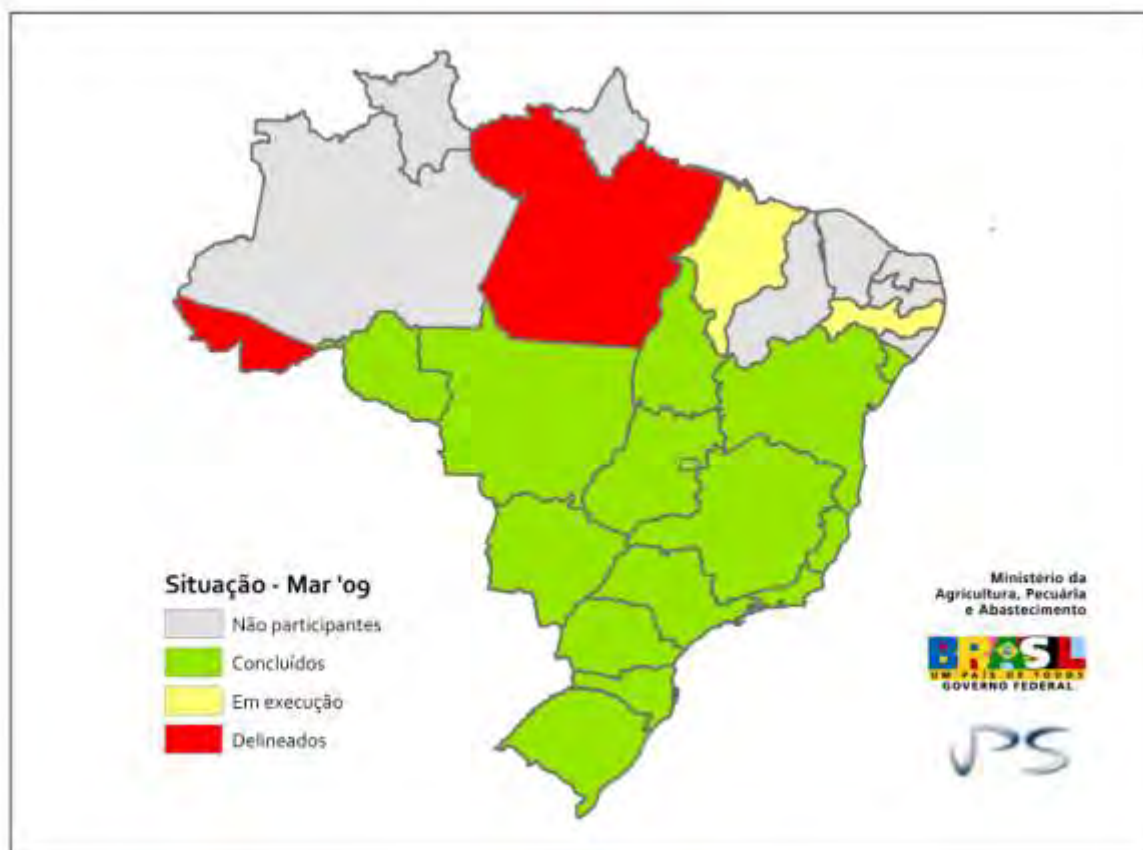
Resultados

O andamento do estudo no Brasil está sumarizado no Mapa 1.

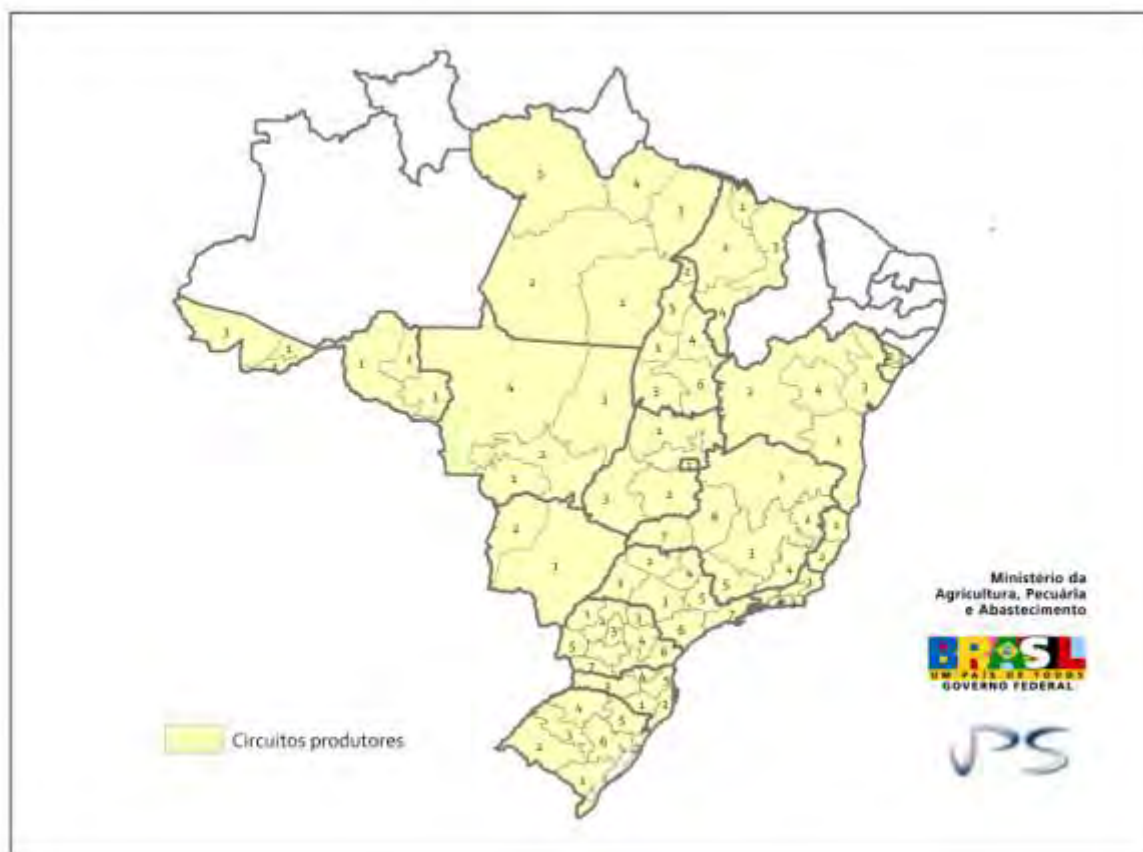
O Mapa 2 traz a divisão das Unidades Federativas em regiões ou circuitos produtores ou pecuários.

As Unidades Federativas nas quais o estudo já foi concluído detêm 82% dos bovinos brasileiros de corte e leite (Tab. 1). A Tab. 2 mostra a data da realização do trabalho de campo pelas Unidades Federativas.

Os Mapas 3 e 4 trazem as prevalências de focos e de animais consolidadas para as Unidades Federativas e os Mapas 5 e 6 mostras essas mesmas prevalências por regiões ou circuitos produtores.



Mapa 1: Situação atual dos estudos da situação epidemiológica da brucelose no Brasil.



Mapa 2: Divisão das Unidades Federativas brasileiras em circuitos produtores.

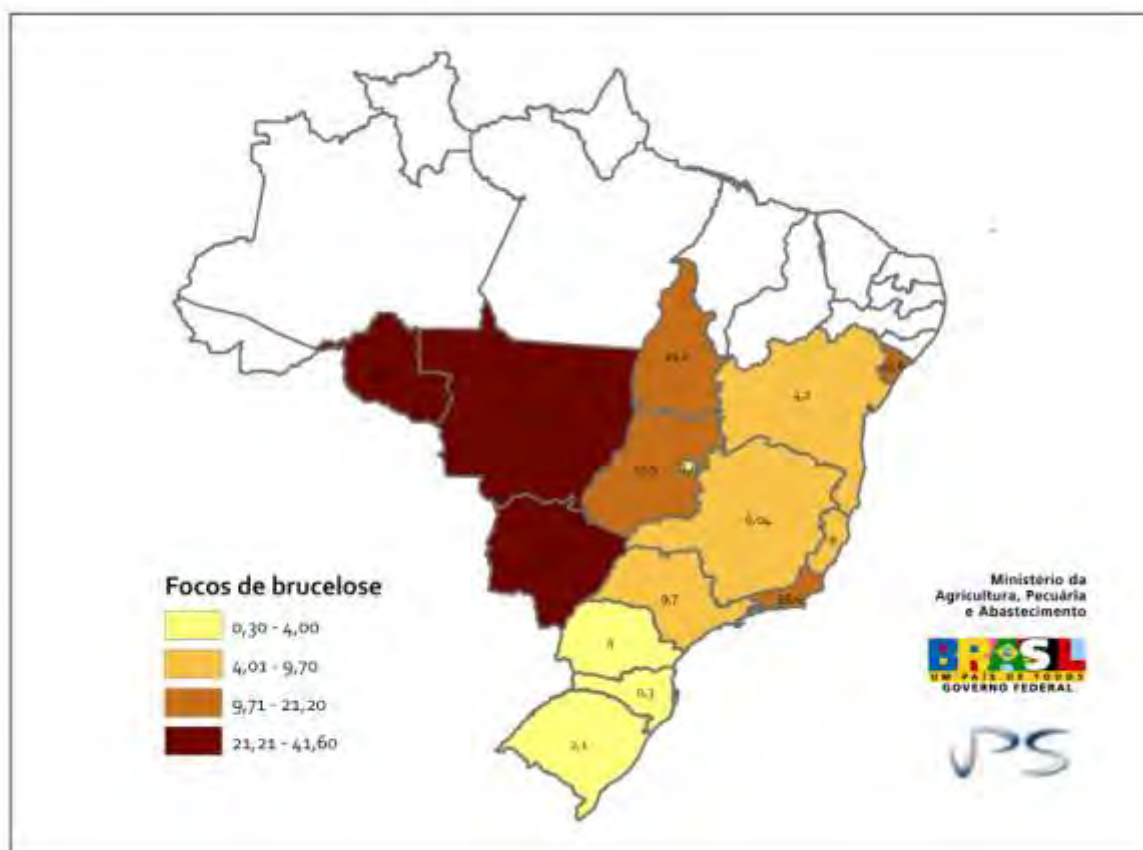
Tabela 1:

Efetivo bovino - IBGE, 2007

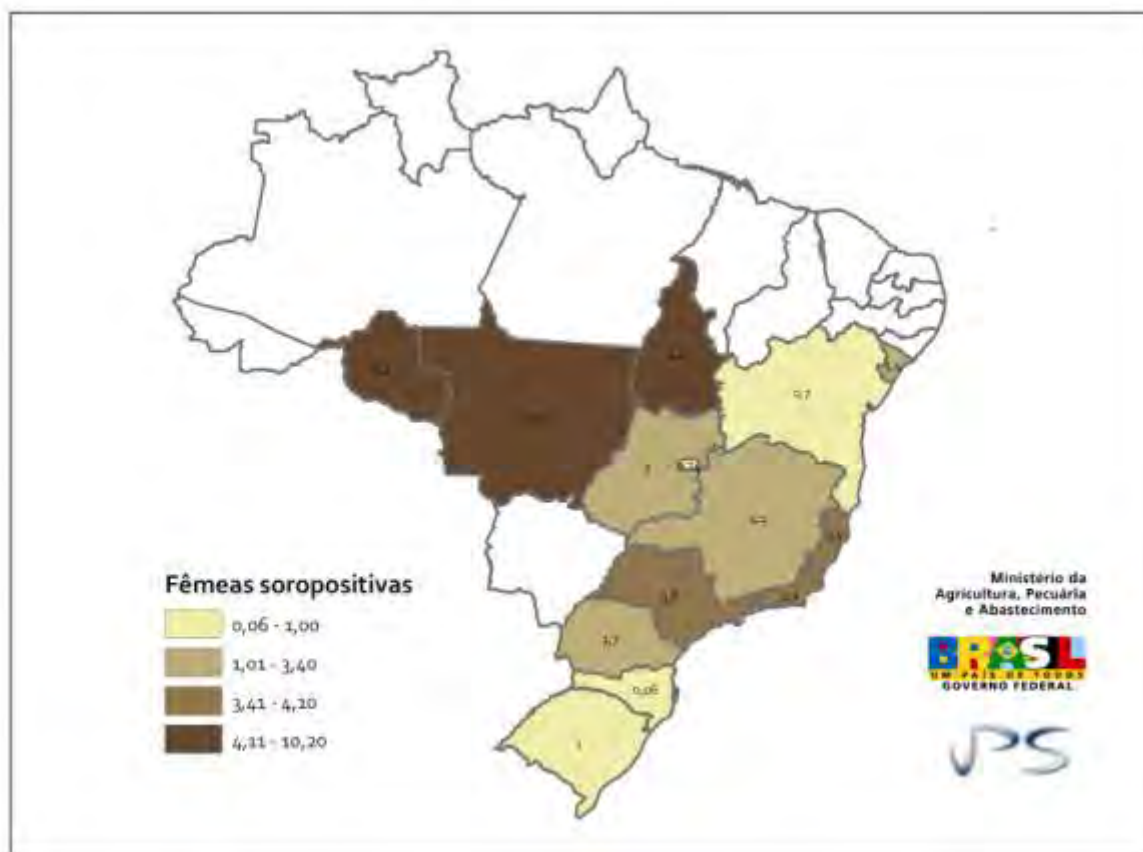
Brasil	199.752.014	100%
Região estudada		
RO	11.007.613	
TO	7.395.450	
BA	11.385.723	
SE	1.073.692	
Sul	26.500.261	
Sudeste	38.586.629	
Centro Oeste	68.088.112	
total	164.037.480	82,12%

Tabela 2: Data da realização do trabalho de campo pelas Unidades Federativas.

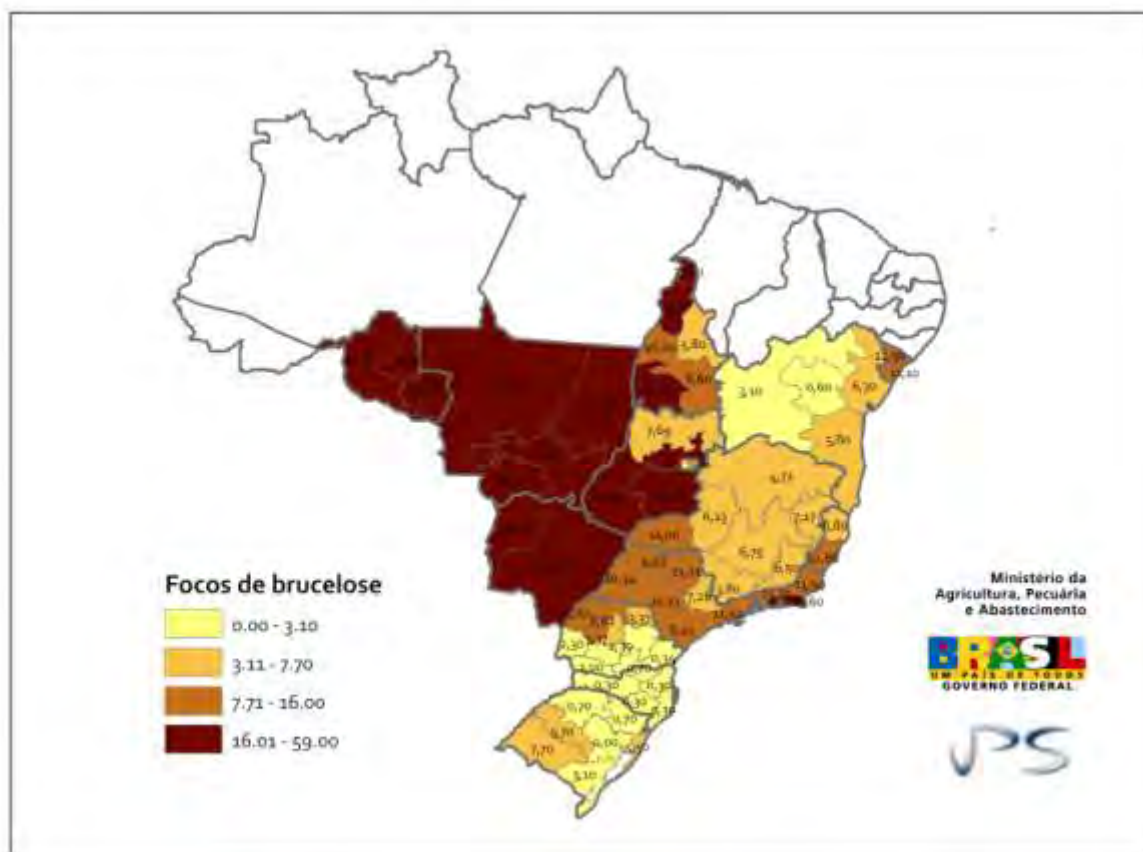
ano	1998	2001	2002	2003	2004
mês	JFMAMJJASOND	JFMAMJJASOND	JFMAMJJASOND	JFMAMJJASOND	JFMAMJJASOND
MS	xxxxxxxxxxx				
SP/SC		xxx			
PR		xxxxxxxxxxx			
GO		xxxxxxxxxxx			
ES		xxxxxxxxxxxxxxxxxxx			
TO		xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx			
MG		xxxxxxx			
MT			xxxxxxxxxxxxxxxxxxx		
SE			xxxxxxxxxxxxxxxxxxx		
DF				xxxxxxxxxxxxxxxxxxx	
RJ				xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx	
BA					xxxxxxxxxxxxxxxxxxx
RO					xxxxxxx
RS					xx



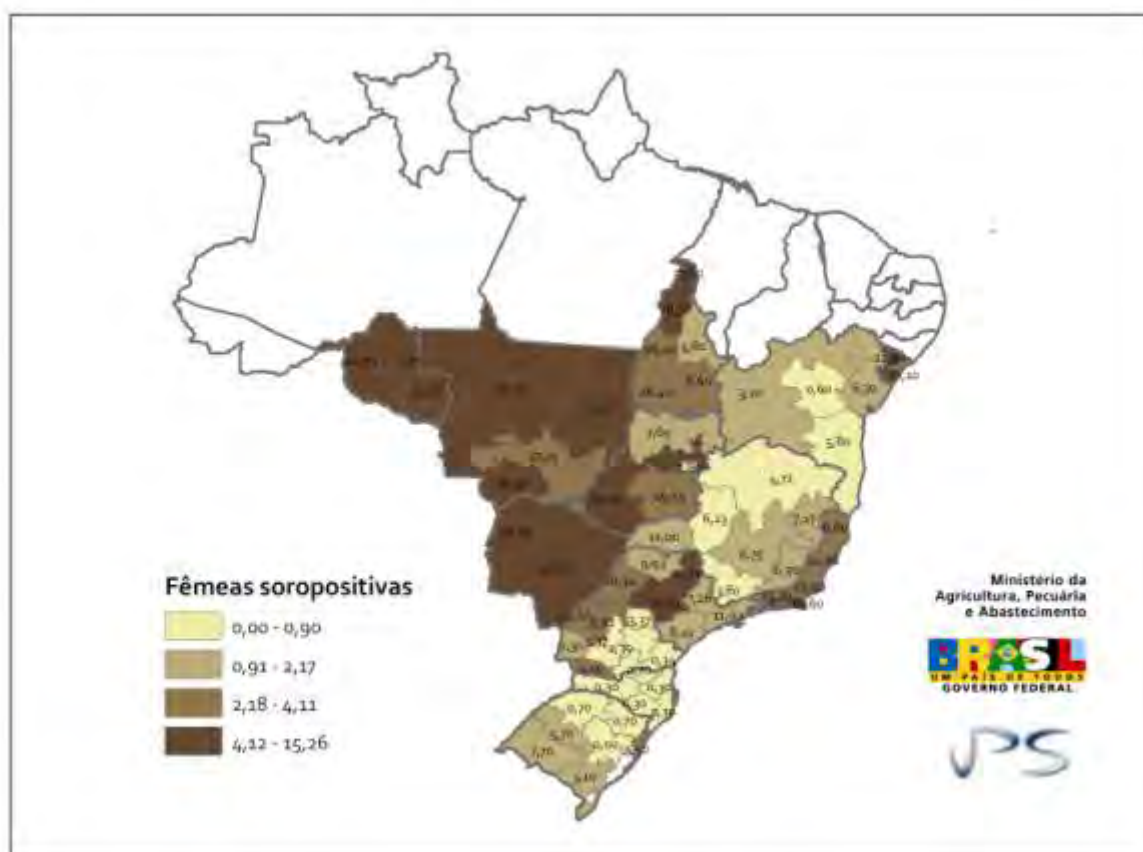
Mapa 3: Prevalência de focos de brucelose bovina nas Unidades Federativas brasileiras.



Mapa 4: Prevalência de animais soropositivos para brucelose bovina nas Unidades Federativas brasileiras.



Mapa 5: Prevalência de focos de brucelose bovina nos circuitos produtores brasileiros.



Mapa 6: Prevalência de animais soropositivos para brucelose bovina nos circuitos produtores brasileiros.

Para a maioria das Unidades Federativas, a introdução de reprodutores foi o principal fator de risco. Além disso, também emergiram como fatores de risco o contato indireto com outros rebanhos e o uso da inseminação artificial. A vacinação de bezerras com a B19 mostrou-se como fator protetor, indicando que a vacina produzida e comercializada no país realmente protege contra a brucelose.

Esses resultados indicam que é necessário desencorajar a introdução de animais e a inseminação artificial quando realizadas sem os devidos cuidados sanitários e que também é preciso evitar o contato indireto entre propriedades.

Conclusões

Os estudos de prevalência indicaram que:

1) A situação epidemiológica da brucelose bovina é heterogênea entre as Unidades Federativas brasileiras e também dentro delas.

2) As prevalências tendem a ser mais altas nas tradicionais regiões produtoras de carne.

3) Para a maioria das Unidades Federativas é interessante buscar baixar a prevalência através da vacinação de bezerras com a B19, perseguindo, todos os anos, coberturas vacinais mínimas de 80%.

4) Todo o Estado de SC, parte sul do PR e norte do RS compõem uma grande área de prevalências muito baixas, onde a vacinação com a B19 não faz mais sentido e onde poderiam ser implementadas estratégias de erradicação da brucelose bovina. Essa experiência serviria de exemplo para o restante do País.

Os estudos dos fatores de risco indicaram que é necessário desencorajar a introdução de animais e a inseminação artificial quando realizadas sem os devidos cuidados sanitários e que também é preciso evitar o contato indireto entre propriedades. Além disso, mostraram também que vacina B19 produzida e comercializada no país é de boa qualidade e realmente protege contra a brucelose.

Referencias

1. BELCHIOR, A. P. C.. *Prevalência, distribuição regional e fatores de risco da tuberculose bovina em Minas Gerais*. Tese (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Área de concentração: Medicina Veterinária, 2000.
2. BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual técnico*. Brasília, 2006. 184p.
3. CHRISTIE, T.E. Eradication of brucellosis in northern Ireland: Field problems and experiences. *Vet. Rec.*, v.85, p.268-269, 1969.

4. CRAWFORD, R.P.; HUBER, J.D.; ADAMS, B.S. Epidemiology and surveillance. In: NIELSEN, K.; DUNCAN, J.R. (Ed.). *Animal brucellosis*. Boca Raton: CRC Press, 1990. p.131-151.
5. DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; COLOMBIER, D. et al. *Epi-Info, version 6: A word processing database and statistics program for epidemiology on microcomputers*. Atlanta: CDC, 1994. 601p.
6. DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. *Veterinary epidemiologic research*. Charlottetown, Canadá: Atlantic Veterinary College, 2003. 706p.
7. FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. *Clinical epidemiology: The essentials*. 2.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. 246p.
8. THRUSFIELD, M. *Veterinary epidemiology*. 3.ed. Oxford: Blackwell Science, 2007. 610p.

BINÔMIO: SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA E PRODUÇÃO LEITEIRA

Elizabeth Oliveira da Costa

Universidade de São Paulo

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária, que interfere diretamente na produção leiteira tanto em quantidade quanto em qualidade, determinando modificações na composição do leite. Estas alterações estão relacionadas ao grau de lesão e extensão do processo inflamatório, que é dependente da patogenicidade do agente etiológico. A mais constante manifestação é a redução da produção de leite na glândula mamária acometida, devido aos danos no tecido secretor, alteração na permeabilidade capilar, que acarreta um comprometimento da capacidade de síntese e, portanto, uma diminuição dos constituintes do leite que são sintetizados na glândula mamária, tais como: gordura, caseínas, lactose. Por outro lado, ocorre um aumento dos elementos de origem sanguínea, como: albumina, imunoglobulinas, células de defesa, cloreto, sódio, ácidos graxos livres. As alterações prejudicam a qualidade nutricional do leite para o consumo e para produção de derivados.

O leite e seus derivados ocupam um importante papel na nutrição do homem. Um litro de leite por dia supre todas as necessidades de proteína de crianças até 6 anos de idade, mais de 60 50% das necessidades protéicas dos adultos. Em relação ao cálcio, o consumo de 1 l de leite diário supre 100% das necessidades. A Organização Mundial de Saúde recomenda o consumo *per capita* diário de leite de 500 mL e anual de 200 litros, no Brasil o consumo médio diário per capita é de 170 mL e 62, 5 litros anuais, isto é, um total de cerca de 10 milhões e seiscentos mil litros.

Na atualidade o leite é o sexto produto do agronegócio brasileiro, superou o café. É o responsável por mais de três milhões de empregos diretos A produção de leite nacional é da ordem de 24 bilhões de litros/ano, sendo o sexto maior produtor mundial em volume de leite produzido.

A mastite além alterar qualidade do leite comprometendo o valor nutricional do leite é responsável por determinar elevados prejuízos no agronegócio lácteo. De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos o prejuízo produzido pela mastite constitui cerca de 25% de todas as

enfermidades de importância econômica. EUA relataram que 40% das vacas em lactação apresentam mastite subclínica em pelo menos um quarto mamário, no Brasil pesquisas referiram índices de ocorrência em vacas da ordem de 72% de mastite subclínica e 17,5 % de mastite clínica.

Estimativas internacionais calculam que as perdas por mastite sejam da ordem de 10 a 15% da produção total de um país. A produção anual brasileira sendo da ordem de 24 bilhões de litros perde-se com a mastite mais de 2 bilhões e 400 milhões de litros, ou seja montante superior à toda a produção de Goiás, o segundo maior produtor.

Estudo realizado no Brasil, avaliando os prejuízos acarretados pela mastite subclínica, estimou o custo anual médio por vaca/ano e por rebanho leiteiro/ano, em população de 2.208 vacas leiteiras na região sudeste do País. **O custo da prevenção de mastite foi em média de US\$ 23,98/vaca/ano enquanto, em média, as perdas por mastite subclínica foram de US\$ 317,38/vaca/ano.** O custo total da prevenção de mastite em média para o produtor foi estimado em US\$ 1.558,59/rebanho leiteiro/ano. Os prejuízos devido aos casos de mastite subclínica para os produtores, nos rebanhos estudados, foram em média de US\$ 20.611,32/rebanho leiteiro/ano. Os resultados do estudo realizado na região sudeste do País permite estimar que o prejuízo determinado pela mastite na pecuária leiteira nacional seja superior aos registrados em outros países, como, por exemplo, nos Estados Unidos, que registraram perdas da ordem de US\$ 180,00 a US\$ 200,00/vaca/ano.

Deve-se referir que o custo é um dos elementos do processo de produção e em qualquer análise econômica não pode estar dissociado da renda, uma vez que esta deve pagar o custo da produção leiteira, conviver com altos índices de mastite no rebanho representa significa que a renda estará de tal forma comprometida que poderá não cobrir os custos. Esta constatação tem evidenciado a necessidade da profissionalização na gestão de produção leiteira, adequando-se o ótimo produtivo ao ótimo econômico. Na busca deste equilíbrio vários conceitos arraigados mereceram análises e muitos já foram derogados. Estudos realizados em Minas Gerais, maior produtor brasileiro de leite, revelaram índices reduzidos de vacas em lactação no rebanho, em torno de 23 a 30%, ou seja, apenas 1/3 dos animais estavam gerando renda. Um rebanho com bom gerenciamento, conferindo rentabilidade no processo de produção deve ter acima de 50% das vacas produzindo leite, sendo que para se alcançar os índices recomendados como ideais, de cerca de 80%, as vacas do rebanho deveriam

ter intervalos entre partos de 12 meses e persistência de dez meses na lactação. Outro fator é a produtividade por área, países eficientes na produção leiteira são capazes de manter quatro ou mais vacas em lactação por hectare, enquanto que em estudo realizado em Minas Gerais, estado brasileiro de maior produção leiteira, a média é de 0,28 por hectare. Sob o ponto de vista de um bom gerenciamento para produção de leite o rebanho ideal seria aquele em que as novilhas teriam o primeiro parto aos 28 meses, a mortalidade seria menor que 5% e o descarte inferior a 20% ao ano e 85 % das vacas estariam em lactação com persistência de 10 meses, 15% estariam secas, em período entre partos não superior a 60 dias. Seriam mantidas cerca de 50% entre novilhas e bezerras para reposição do plantel. Desta forma num compito geral teríamos Cerca de 60% do rebanho produzindo leite o ano todo, uma propriedade rentável e lucrativa.

Dever-se-á ressaltar os inconvenientes e prejuízos na prática comum no País, de se manter bezerros mamando ao pé da vaca, que representa um consumo de 500 a 600 litros de leite por bezerro, que significa perda de renda na fazenda de 300 a 400 reais. Paralelamente, já foi demonstrado em estudos brasileiros realizados em propriedade leiteira do estado de São Paulo, que adotavam manejo de ordenha com bezerros ao pé, que vacas da raça Holandesa e mestiças apresentaram altos índices de mastite subclínica e clínica (respectivamente, 83,3% e 51,4%). Deve-se ressaltar que esta prática também poderá ser um dos fatores predisponentes para o problema de novilhas primíparas logo após parto apresentarem quartos mamários com mastite clínica.

Estima-se que em média, o produtor brasileiro, perde 15% de renda dentro da fazenda por não vender o leite produzido, sendo que em algumas foi detectado até 30%. Na essência falta controle não só das rendas e custos como dos fatores de produção, manter animais improdutivos na fazenda compromete diretamente o gerenciamento, paralelamente para otimizar a relação dever-se-á ter em foco que para se ter animais produtivos é imprescindível mantê-los saudáveis, fornecendo alimentação e instalações adequadas, minimizando condições estressantes, que permitam um bom manejo reprodutivo e produtivo.

As considerações acima trazem ao foco um tripé de extrema importância para se alcançar eficiência na produção leiteira: ambiência, reprodução e nutrição. O conforto dos animais de produção é preocupação internacional e pesquisadores têm demonstrado que muitas vezes o preconizado internacionalmente precisaria ser re-

avaliado nas condições brasileiras, onde prevalecem climas: tropical e subtropical úmido. Assim, evitar-se-iam gastos desnecessários, que além de não trazerem os benefícios almejados, podem em alguns casos até prejudicar a produtividade. Alguns estudos brasileiros com ambiência têm obtido resultados relevantes que comprovaram a necessidade de adequação às nossas condições ao invés de meramente se importar e implantar soluções.

O animal necessita reproduzir para produzir e as são condições de conforto total (manejo ambiental, nutricional) que permitem que um animal saudável tenha um desempenho reprodutivo satisfatório. A concepção e o estabelecimento da prenhez são eventos interrelacionados com o desenvolvimento folicular resultando na ovulação, fecundação do ovócito, transporte e desenvolvimento do embrião, reconhecimento materno da gestação e implantação (nidação). Para obter animais com a ciclicidade e a fertilidade otimizadas dever-se-á fazer manejo nutricional adequado, respeitando-se as exigências alimentares. Entre fatores nutricionais que exercem influência na reprodução em bovinos leiteiros destaca-se o Balanço Energético Negativo (BEN), o atraso na primeira ovulação após o parto e aumento nos dias para concepção está diretamente associado ao status energético da vaca, ou seja, quanto maior o BEN, maior o tempo para a primeira ovulação. Durante as últimas semanas da gestação e início da lactação as vacas leiteiras apresentam um período de Balanço Energético Negativo (BEN) porque a energia utilizada para manutenção e produção de leite é maior que a energia adquirida pela alimentação isto ocorre em decorrência do fato do pico da produção leiteira se estabelecer 4 a 5 semanas antes do pico de ingestão de matéria seca pelo animal em início de lactação. A restrição alimentar afeta padrões do ciclo estral e de ciclicidade, por reduzir concentrações de glicose e insulina entre outros. Por outro lado, alta ingestão alimentar está relacionada a um metabolismo elevado dos hormônios esteróides. O efeito positivo na reprodução de vacas leiteiras apresentado por alimentação rica em ácidos graxos poliinsaturados, durante estação de monta refletiu-se em taxas de concepção, taxas de prenhez superior a 56,5%, e proteína na proporção adequada, recomenda-se que 35% da proteína bruta (PB) sejam na forma não degradável no rumem e 65% na forma degradável. Deve-se ressaltar que alta concentração de PB na dieta tem sido associada a uma redução no desempenho reprodutivo.

Diversas pesquisas têm sido dirigidas para estabelecer níveis de nutrientes

adequados não só para o desempenho reprodutivo, mas também com o objetivo da prevenção e controle de mastite, tais como selênio, vitaminas A e E entre outros. Estudos têm demonstrado a relevância de diversos nutrientes apesar de alguns resultados controvertidos, têm se verificado que embora a administração nenhum destes por si só represente uma solução, é a deficiência destes elementos que constitui o real problema, que deverá ser corrigido pela administração em níveis adequados, pois o excesso pode agravar e mesmo ocasionar outros problemas na produção e na esfera reprodutiva e na sanidade dos animais. Pesquisas brasileiras apresentadas internacionalmente têm evidenciado esta assertiva.

Paralelamente, não se pode deixar de ressaltar que só se atinge desempenho reprodutivo satisfatório com um bom controle sanitário do rebanho. Além das clássicas doenças infecciosas e parasitárias da reprodução, como brucelose, leptospirose, campilobacteriose venérea, trichomonose, listeriose, IBR-IPV, neosporidiose, entre outras, **é perfeitamente conhecido desde o início da década de 1990 que a mastite bovina pode determinar morte embrionária, repetição de cio e mesmo em alguns casos até abortamento,** na dependência da intensidade da resposta inflamatória desencadeada, do número dos quartos mamários acometidos no animal e no tipo de agente etiológico.

Em relação à intensidade do processo inflamatório elido a mastite pode ser clínica ou subclínica. A forma clínica pode ser aguda, subaguda e crônica. As formas de evolução clínica aguda e subaguda apresentam na glândula mamária a sintomatologia clássica do processo inflamatório, facilmente evidenciáveis pela inspeção: edema, dor, calor, rubor. Na clínica subaguda a intensidade dos sintomas de inflamação na glândula mamária é discreta, mas há modificações visíveis no leite, observam-se grumos, filamentos, pus e às vezes, secreção apresenta-se sanguinolenta. Na forma clínica crônica observa-se modificação na textura da glândula, há fibrosamento pela substituição do tecido glandular produtivo por conjuntivo e observam-se alterações na secreção do leite. De sintomatologia não tão evidente, a mastite subclínica caracteriza-se pela diminuição da produção leiteira, sem que, contudo, se observem sinais de processo inflamatório ou fibrosamento. Esta forma de manifestação da mastite é a responsável pelos maiores prejuízos na produção leiteira; **estima-se que, para cada vaca com mastite clínica, existam em média sete, ou mais, com mastite subclínica. A proporção entre casos de mastite clínica e subclínica varia com os agentes**

etiológicos de mastite prevalentes no rebanho, assim quando predominam mastites por microrganismos ambientais esta proporção é menor, podendo ser de até de 1:2, quando predominam contagiosos a proporção pode chegar a 1:23, ou seja para um caso clínico poder-se-á verificar a ocorrência de 23 casos subclínicos.

Entre as mastites, a infecciosa é a mais importante devido aos aspectos econômicos e de saúde pública, pela veiculação de patógenos pelo leite, por não ser autolimitante, ser contagiosa e apresentar baixa porcentagem de cura espontânea, podendo evoluir eventualmente para um quadro de septicemia e, em alguns casos, determinar a morte do animal do acometido.

Os principais microrganismos (agentes etiológicos) da mastite foram convencionalmente classificados, quanto à sua origem e modo de transmissão, em dois grupos: microrganismos contagiosos ou transmissíveis, transmitidos principalmente durante a ordenha, que são aqueles também chamados “vaca-dependentes”, presentes principalmente no corpo do animal com ou sem mastite; e os chamados microrganismos ambientais, ubiqüitários, presentes no ar, cama, água e fezes.

Estão incluídos no primeiro grupo: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus* e outros *Staphylococcus* spp e *Corynebacterium bovis*.

No segundo grupo encontram-se: *Streptococcus uberis* e os outros estreptococos, à exceção dos já citados, bactérias da família Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Enterobacter* sp, *Klebsiella* sp, *Serratia* sp etc.), *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas* sp e outros microrganismos ubiqüitários tais como fungos, principalmente leveduras e ainda algas aclorofiladas (*Prototheca* sp).

A determinação da etiologia da mastite em rebanhos leiteiros permite estabelecer os pontos críticos e, portanto, a partir deste conhecimento poder-se-á estabelecer medidas de prevenção efetivas para o controle da afecção.

No Brasil predominam as mastites de etiologia contagiosa o que indica que o principal momento de transmissão é a ordenha, portanto, adoção de medidas preventivas efetivas corrigindo eventuais falhas no manejo na ordenha, obter-se-ia redução da prevalência e incidência a níveis internacionalmente desejáveis.

Um programa efetivo de controle da mastite deve estar baseado principalmente nas medidas de prevenção. A terapia deve ser utilizada como um elemento no controle da mastite. Em cerca de 20% dos casos de mastite há cura

espontânea, mas é importante utilizar o tratamento, com o objetivo de auxiliar as defesas específicas e inespecíficas do animal na eliminação do microrganismo invasor. O sucesso terapêutico deve ser avaliado mais pela redução dos sintomas clínicos que pela total eliminação do patógeno da glândula. O melhor parâmetro da eficácia do tratamento é, em última análise, a produção de leite.

A adoção da antibioticoterapia para mastite deve visar a eficácia terapêutica e benefícios econômicos, tanto do ponto de vista do aumento da produção como na redução de fontes de infecção (quartos infectados).

O tratamento medicamentoso ideal da mastite seria aquele que pudesse controlar todos os processos infecciosos do úbere e não deixasse resíduos no leite. O tratamento efetivo e de curta duração depende do uso correto dos medicamentos e, portanto, para isso há necessidade de um sólido conhecimento das propriedades farmacológicas dos antimicrobianos.

A antibioticoterapia em vacas em lactação reduz o número de microrganismos patogênicos no leite após o tratamento, aumenta o número de quartos que retornam à normalidade em mais curto espaço de tempo e aumenta o número de quartos sadios. Além disso, melhora o bem-estar do animal, reduzindo o número de vacas infectadas na propriedade leiteira que funcionam como fontes de infecção para os animais sadios do rebanho, disseminando microrganismos contagiosos. O aumento da taxa de cura contribui para a longevidade do animal na propriedade leiteira e determina um maior retorno econômico do proprietário. Conseqüentemente, todos esses benefícios irão contribuir positivamente para melhorar a qualidade do leite, reduzindo a fonte potencial de microrganismos e determinando um decréscimo no nível de células somáticas.

Sob o ponto de vista custo/benefício, o número de dias de tratamento de mastite clínica com antimicrobianos, sistêmicos e/ou intramamários não deve ultrapassar a 5, uma vez que no intervalo de 3 a 5 dias ocorrem os maiores índices de cura clínica. Deve-se acrescentar a isso o benefício paralelo de um menor período de descarte de leite. Aqueles casos em que não se obtém sucesso nesse esquema de tratamento devem ser reavaliados, sendo as amostras de leite submetidas aos exames microbiológicos, tanto para realizar antibiogramas, como para estabelecer a natureza dos microrganismos (bactérias, fungos ou algas) envolvidos nas mastites resistentes aos tratamentos utilizados, uma vez que esses fatores podem estar interferindo diretamente com a eficácia terapêutica.

As propriedades físico-químicas dos medicamentos são levadas em consideração na farmacocinética, por influírem na concentração que atinge a glândula. Assim, antimicrobianos injetados pelo canal do teto difundem-se rapidamente e, em consequência, atingem toda a glândula e podem ser absorvidos do úbere para a corrente sanguínea e vice-versa, dependendo do grau de ligação às proteínas e pK_a do medicamento.

Outra característica a ser considerada é a farmacodinâmica, que relaciona interação do medicamento com o microrganismo, dentro do compartimento alvo; por exemplo, a ação antimicrobiana dentro do tecido glandular mamário inflamado, que é diferente do tecido glandular normal. Assim, **o pH do leite normal é de 6,4 a 6,8, portanto ligeiramente ácido; na glândula mamária com mastite, pelo aumento da permeabilidade vascular, o pH torna-se ligeiramente alcalino, aproximando-se do pH do plasma, de 7,2 a 7,4. Por outro lado, quando a mastite é causada por microrganismos fermentadores de lactose, na dependência do número destes microrganismos na glândula, o pH pode apresentar-se mais ácido ou não apresentar alteração.**

Estas considerações são importantes quando se analisa o problema de resíduos de antimicrobianos no leite de consumo. Uma vez que a farmacocinética e farmacodinâmica são avaliados em animais normais o que impede o estabelecimento dos períodos de carências seguros após a utilização destes medicamentos em animais com mastite. Alguns antibióticos preconizados para utilização em animais em lactação, considerados como não eliminados pelo leite, quando usados em animais com mastite são detectados no leite em níveis superiores aos permitidos pela legislação. Também os períodos de carência descritos nas informações técnicas (bulas) muitas vezes não eliminam o risco de resíduos de antimicrobianos no leite de consumo, pelas mesmas razões acima descritas. **Deve-se ressaltar que também o tratamento intramamário em um dos quartos mamários, não elimina o risco de resíduo no leite de quartos não tratados, pois apesar de não haver passagem de um quarto mamário para outro, o antimicrobiano é absorvido alcança circulação e por via sanguínea retornando ao úbere e sendo eliminado também pelos quartos mamários não tratados,** é fácil entender, pois, passam pela glândula mamária cerca de 670 litros de sangue para cada 1 litro de leite produzido. Os resíduos de antimicrobianos no leite constituem risco à saúde do consumidor e comprometem a qualidade e mesmo a

elaboração de derivados lácteos, muitas vezes inviabilizando a produção destes e, conseqüentemente, causando também sérios prejuízos econômicos.

A importância da mastite na produção e qualidade do leite reflete a preocupação que vem merecendo na atualidade, a questão da “qualidade e segurança” dos alimentos. A legislação brasileira que trata especificamente do assunto leite e seus derivados passou por um processo de modernização, pela criação da Instrução Normativa número 51 do Ministério da Agricultura, para acompanhar as tendências mundiais e introduzi-las no setor nacional como um todo. A Instrução Normativa 51 foi assinada em setembro de 2002, em substituição à legislação de 1952. As novas normas que entraram em vigor em julho de 2005, nos Estados do Sul, Sudeste e Centro-Oeste, e a partir de julho de 2007 para os demais Estados, estabeleceram índices mais rígidos de contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana e detecção de resíduos de antimicrobianos (antibióticos e quimioterápicos) no leite. **A presença de resíduos de antimicrobianos no leite está estreitamente associada ao tratamento de mastite, e o aumento de células somáticas no leite reflete a ocorrência de mastite.**

O leite de uma glândula mamária normal contém macrófagos, neutrófilos e linfócitos, em geral menos de 50.000 célula/mL, não ultrapassando 200.000 células/ml de leite. Foi verificado em estudos recentes que o melhor limiar de positividade a ser adotado para diagnóstico de mastite bovina subclínica individual seria de 100.000 células/mL, ou seja, considerando-se CCS do leite como parâmetro individual de normalidade para glândulas mamárias bovinas, o nível seria de menos de 100.000 células/mL. No leite de animais com mastite, ou seja, quando há processo inflamatório, este número aumenta, principalmente devido ao maior afluxo de polimorfos nucleares neutrófilos (PMN). **Assim, em casos de mastite clínica, podem chegar a mais de 5.000.000 células/ml de leite, estudos internacionais tem demonstrado média de 2.300.000 células por mililitro de leite.**

Na atualidade tem sido estudada a seleção de resistência à mastite com base em CCS. Alguns autores defendem a hipótese que a seleção para redução da CCS pode reduzir a susceptibilidade à mastite (PHILIPSSON ET AL 1995). A hipótese é controversa, pois outros autores consideram que sendo o aumento da CCS é defesa do hospedeiro para defender a glândula mamária de patógenos, a seleção para CCS muito baixas poderia debilitar a resistência dos animais à mastite (SURIYASATHAPORN ET AL 2000).

A mastite conhecida e estudada desde o século XVII continua representando um dos mais difíceis problemas da produção leiteira mundial. Durante estes anos, soluções simples têm permitido muitas vezes controlar pontualmente sua ocorrência em alguns rebanhos. Observa-se, entretanto, que como um todo continua causando sérios prejuízos ao agronegócio leite. Novos agentes etiológicos vêm assumindo papel relevante e há o reaparecimento de antigos e quase esquecidos microrganismos. Também algumas das soluções adotadas foram desmistificadas e foram em alguns casos responsáveis pelo surgimento de outros fatores predisponentes e agravantes.

Estudos recentes evidenciaram que determinadas linhagens de *S. aureus*, caracterizadas por técnicas de biologia molecular (PFGE) apresentavam maior capacidade de produção de biofilme, que constitui fator de virulência por permitir a instalação e maior persistência do microrganismo na glândula mamária e consequentemente maior infectividade e capacidade de dispersão, inter e intra-rebanhos, determinando verdadeiros surtos, como os observados em alguns rebanhos. Maior capacidade na produção de biofilme, entretanto, não significa maior patogenicidade, uma vez que, em relação à intensidade do processo inflamatório, avaliado, pela CCS, não foram observadas diferenças significantes em relação aos pulsotipos estudados.

O advento de novas ferramentas, tais como, a aplicação de técnicas de biologia molecular têm propiciado um melhor conhecimento na relação parasita-hospedeiro-meio ambiente, que permitiram elucidar certos aspectos ainda obscuros, espera-se que em futuro próximo ou pelo menos, não remoto, tenha-se êxito no controle desta afecção.

Referências

1. ANDRADE, L.M.; FARO L.E.; CARDOSO, V. L.; ALBUQUERQUE, L.G.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P. F. Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. R. Bras. Zootec. Viçosa, v.36 n.2 . 2007.
2. ARCARO, J. R. P. Efeitos do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em *free-stall* sobre a produção, a fisiologia comportamento e ocorrência de mastite em vacas em lactação. 2005. 123f. Tese doutorado (Nutrição Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

3. BENITES, N.R. Estudos dos aspectos microbiológicos e histopatológicos da mastite infecciosa bovina. São Paulo, 1996. 169 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
4. BENITES, N. R.. Estudo morfométrico de mastite bovina em vacas naturalmente infectadas. 1999. Tese (Patologia Animal) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia) - Universidade de São Paulo
5. BOOTH, J.M. The importance and costs of mastitis in Europe. In: ATTI INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE MASTITIS, Milão, 1992. p.8-11.
6. BRABES, K. C. S.. Detecção de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp e produtores de enterotoxinas em leite de bovinos leiteiros com mastite.. 1999. Dissertação de mestrado (Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras
7. BRAMLEY, A.J.; DODD, F.H. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control progress and prospects. Journal of Dairy Research, v.51, p.481-512, 1984.
8. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de produção, identidade e qualidade do leite de cabra. **Diário Oficial da União**. Brasília: 2002. 55p.
9. BRITO, J. R. F. Qualidade e segurança mitos e realidade. Balde Branco. v.539, p.52-58, 2009.
10. BRITO, M.A.V.P., BRITO, J.R.F., RIBEIRO, M.T., *et al.* Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, n.2, p.129-135, 1999
11. CHALOULT, Y. & HILLCOAT, G. **Planejamento e Políticas Públicas**. IPEA. Brasília, Nº13. Junho 1996.
12. COELHO, V.; COSTA, E. O Evaluation of antibiotic residue risk in untreated quarters adjacent to quarters treated for mastitis by intramammary route. In: **Le Médecine Vétérinaire, du Quebec**, v. 34 (1 et 2) p. 130-131, 2004.

13. CRISPIM, L.S.. Estudo de marcadores e fatores de virulência em cepas do gênero *Prototheca* isolados de casos de mastite bovina.. 1998. Tese (Microbiologia) ICB-Universidade de São Paulo
14. COSTA, E. O.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; TEIXEIRA, C.M. Sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos de bactérias isoladas de mastite bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 5:65-9, 1985.
15. COSTA, E. O.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; TEIXEIRA, C.M.; GAMBALE, W.; GANDRA, C.R.P.; PIRES, M.F.C. Etiologia bacteriana da mastite bovina no Estado de São Paulo. *Revista Microbiologia*, 17:107-12, 1986.
16. COSTA, E.O. Importância econômica da mastite bovina. *Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v.15, p. 21-6, 1991.
17. COSTA, E.O.; GANDRA, C.R.P.; GAMBALE, W; PIRES, M.F.C.; COUTINHO, S. D. A.; CASTILHO, W. Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the State of São Paulo, Brazil.. ***Mycopathologia***, v.124, p.13-7, 1993.
18. COSTA, E.O.; VIANI, F.C; MASCOLI, R. OLIVEIRA, P.L.J.; HIRATA., A.N.; WHITE, C.R.;. Evaluation of the carrier in epidemiology of infectious bovine mastitis. *Braz. J.Vet. Res. Anim, Sci.v.30*, p86, 1993.
19. COSTA, E.O.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; PARDO, R.B.; SILVA, J.A.B., SANCHES, R.B. An increased incidence of mastitis caused by *Prototheca* species and *Nocardia* species on a farm in São Paulo, Brazil. ***Veterinary Research Communications***, v.20, p.237-41, 1996.
20. COSTA, E.O.; RIBEIRO, A.R.; MELVILLE, P.A.; PRADA, M.S.; CARCIOFI, A.C.; WATANABE, E.T. Bovine mastitis due to algae of the genus *Prototheca*. ***Mycopathologia***, v.133, p.85-8, 1996.
21. COSTA, E.O. Importância da mastite na produção leiteira do país. *Revista Educação Continuada CRMV-SP*, 1:3-9, 1998.

22. COSTA, E.O.; BENITES, N.R.; CARCIOFI, A.C.; MELVILLE, P.A.; PRADA, M.S.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Survey on the etiology of intramammary infections in dairy cattle. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 18., Bolonha, Itália., 1994a. Proceedings. p.853-5.
23. COSTA, E.O.; BENITES, N.R.; MELVILLE, P.A.; PARDO, R.B.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v.17, n.4, p.156-8, 1995.
24. COSTA, E.O.; CARCIOFI, A.C.; MELVILLE, P.A.; PRADA, M.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E. Bovine mastitis due to algae of the genus *Prototheca* sp. Mycopathologia, v.133, p.85-8, 1996.
25. COSTA, E.O.; CARCIOFI, A.C.; MELVILLE, P.A.; PRADA, M.S.; SCHALCH, U.; PAULA, C.R.; CORREA, B.; GAMBALE, W. *Prototheca* sp. outbreak of bovine mastitis. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 13, Santiago, 1992. Anais. p.92.
26. COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; VIANI, F.C.; WHITE, C.R. Dinâmica da resistência de agentes etiológicos da mastite bovina aos antimicrobianos. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, 17:260-3, 1995b.
27. COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Infectious bovine mastitis caused by environmental organisms. Journal of Veterinary Medicine, v.45, p. 65-71, 1998.
28. COSTA, E.O. et al. Mastite subclínica: prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. **Rev Napgama**. v.2, p.16-20, 1999.
29. COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; VIANI, F.C.; WHITE, C.R. Prevalence of intramammary infections in primigravid Brazilian dairy heifers. Preventive Veterinary Medicine. v.29, p. 151-155, 1996.
30. COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E. Evaluation of the occurrence of algae of the genus *Prototheca* in cheese and milk from Brazilian

dairy herds. In: GARLAND, T.; BARR, A.C, **Toxic Plants and Other Natural Toxicants**. Texas, p.373-376, 1998.

31. COSTA, E. O.; MELVILLE, P.A.; E.T. WATANABE, N.R. BENITES , A.R. RIBEIRO, J.A.B. SILVA, F. GARINO J. R. Evaluation of the susceptibility of *Prototheca zopfii* to the pasteurization of milk. **Mycopathologia**, v.146, n.2, p.79-82, 1999.

32. COSTA, E. O.; MELVILLE, P.A.; N.R. BENITES , GUERRA, J.L.; Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. Isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. **J. Vet. Medicine**, v.47, P.99-103, 2000.

33. COSTA, E.O.; RAI, R.; WATANABE, E.T.; GARINO JÚNIOR, F.; COELHO, V. Influência do tratamento intramamário de casos de mastite de bovinos em lactação em relação à presença de resíduos de antibióticos no leite dos quartos sadios não tratados. **Revista Napgama, São Paulo**, v.3, n.4, p14-17, 2000.

34. COSTA, E.O; N.B. BENITES, J.L. GUERRA and MELVILLE, P.A.. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. *J. Vet. Med. B* 47, 99-103, 2000

35. COSTA, E.O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H.S.; GORNI, S.L.; BERNARDI, M. *Farmacologia Aplicada a Medicina Veterinária*. 3ª ed Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, cap.42, 2001. p.443-455

36. COSTA, E. O., RIBEIRO, M. G., RIBEIRO, A. R., Souza Rocha, NARDI JÚNIOR, D. Diagnosis of clinical bovine mastitis by fine needle aspiration followed by staining and scanning electron microscopy in a *Prototheca zopfii* outbreak. *Mycopathologia*. Holanda, 2004.

37. COSTA, E.O.; . RIBEIRO, A.R.; GARINO JR, F.SILVA, J.A.B; WATANABE, E.T.; DEBLIRE, E.; LEÃO, E.F. Portador um importante elo na epidemiologia da mastite infecciosa bovina. **Revista Napgama, São Paulo**, v.8, p3-6, 2005.

38. COSTA, E.O.; SANTOS, F.G.B.; MÁRMORE, C.; ARCARO, J.R.P.; PERES, A.A.C.; RAI, R.B. Influência da intensidade da mastite subclínica por microrganismo

do Gênero *Staphylococcus*, estimada por escores de CMT e CCS, na composição do leite.: gordura, proteína e lactose. **Revista Napgama, São Paulo**, v.9, p13-18, 2006.

39. DEKKERS, J.C.M.; van ERP, T.; SCHUKKEN, Y. H. Economic benefits of reducing somatic cell count under the milk quality program of Ontario. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 396-401, 1996.

40. DEGRAVES, F.J.; FETROW, J. Economics of mastitis and mastitis control. *Veterinary Clinician North American - Food Animal Practice*, 9:421-34, 1993.

41. DE OLIVEIRA, A P.; WATTS, J.L.; SALMON, S.A; AARESTRUP,F.M. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p.855-862, 2000

42. DU PREEZ, J.H.; GIESECKE, W.H. Mastitis. In: COETZER, J.A.W. (ed.) *Infectious diseases of livestock*. London : Oxford University Press, 1994. p. 1564-1595.

43. FAGUNDES, H. Ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite no pós parto de animais tratados na interrupção da lactação. 2003, 76f. Dissertação mestrado. (Nutrição Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

44. GABLER, M.T.; TOZER, P.R.; HEINRICHS, A.J. Development of a cost analysis spreadsheet for calculating the costs to raise a replacement dairy heifer. *Journal Dairy Science*, v.83, n.5, p.1104-1109, 2000.

45. GARINO Jr, F. Avaliação da sensibilidade “in vitro” de sorogrupos de *Escherichia coli* de casos de mastite bovina e pesquisa da produção de lactamases e detecção de múltipla-resistência. 2004. 115f. Tese doutorado (Microbiologia). Instituto de Ciências Biomédicas- Universidade de São Paulo.

46. GARINO Jr, F.; COSTA, E.O “In vitro” sensitivity pattern and betalactamase production of *escherichia coli* strains isolated from bovine mastitis cases. In: *INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE MASTITIS*. Vancouver./Canadá. 11 a 16 de Setembro de 2001

47. GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; LIORENTE, P.; GODALY, S.; REBUELTO, M.; DEGREGORIO, O. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. **Journal Dairy Science**, v.83, n.6, p.1224-1227, 2000.
48. GOMES, A.T.; LEITE, J. L.B.; CARNEIRO. O agro-negócio do leite no Brasil. Juiz de Fora: EMBRAPA, 262 p., 2001.
49. HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, v.77, p.2103-12, 1994.
50. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION – IDF. The World Dairy Situation: 2005. Bulletin of IDF. v. 399, p. 1-86, 2005.
51. LANGONI, H.. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. Ver. Educ. Cont. CRMV-SP, v.3, p. 57-64, 2000.
52. MELVILLE, P. A.. Estudos sobre algas do Gênero *Prototheca* Isoladas de leite e de Infecções Intramamárias em bovinos leiteiros. 1995. Dissertação mestrado ((Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas-Universidade de São Paulo.
53. MELVILLE, P. A. Correlação de morfotipos de *Prototheca zoopfi* com perfis de susceptibilidade “*in vitro*” aos antibióticos e quimioterápicos e estudos da ultra estrutura após exposição aos antimicrobianos. 2000. Tese (MICROBIOLOGIA) - Instituto de Ciências Biomédicas- Universidade DE São Paulo.
54. MONTEIRO, T.T.P.; ANDRADE, F. M.; CASTRO, M.C.D. Os reflexos da abertura comercial sobre as cooperativas de leite no País. **Rev. Inst. Latic.** “Cândido Tostes” n°317, 54:13-16, 2000.
55. NEERHOF, H.J.; MADSEN, P.; DUCROCQ, V.P.; VOLLEMA, A.R.; JENSEN, J.; KORSGAARD, I.R. Relationship between mastitis and functional longevity in danish black and white dairy cattle estimated using survival analysis. **Journal Dairy Science**, v.83, n.5, p.1064-1071, 2000.

56. OLIVEIRA, A.P.; WATTS, J.L.; SALMON, S.A.; AARESTRUP, F.M. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovina in Europe and the United States. **Journal Dairy Science**, v.83, n.4, p.855-862, 2000.
57. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. 1997. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. A tentative standards. NCCLS document M31-T. Wayne, PA.
58. PHILIPSSON, J.; RAL, G.; BERGLUND, B. Somatic cell count as a selection criterion for mastitis resistance in dairy cattle. **Livestock Production Science**, v.41, p. 195-200, 1995.
59. PIETRO, H. P.. Influência dos processos de interrupção da lactação na ocorrência de mastite bovina.. 1993. Dissertação mestrado(Epidemiologia Experimental Aplicada A Zoonoses) FMVZ- Universidade de São Paulo
60. PRIMO, W.M. Impactos da década de 90 para a indústria de laticínios. In: Perspectivas e avanços em laticínios. Juiz de Fora, CT/ILCT-EPAMIG, 2000.
61. RAIA R.B., COSTA E.O, GARINO JÚNIOR F., WATANABE E.T., THIERS F.O., GROFF M.R. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **Revista Napgama, São Paulo**, v.2., n.2, p. 4-8, 1999.
62. RAIA, R.; GARINO JR, F.; COSTA, E.O. Interferência da ocorrência de inibidores naturais do leite sobre teste microbiológico comercial para detecção de resíduos de antimicrobianos. **Revista Napgama, São Paulo**, v.6;, n.1, p.10-14, 2003.
63. RAIA, R.B.; RIBEIRO A R.; GARINO JR., F.; SILVA, J. B.; TOLEDO, P. S. ; COSTA, E.O. Use of the association of microbiological and imunoenzymatic tests in the evaluation of residues in bulk tanks milk. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 21, Punta Del Este. 4 a 8 de dezembro de 2000. P.137.
64. RAIA, R.B.; RIBEIRO A R.; GARINO JR., F.; TOLEDO, P.S. ; COELHO, V.P.; COSTA, E.O.. Detection of tetracycline residues using delvotest® sp and snap®

tetracycline in milk of treated cows In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 21, Punta Del Este. 4 a 8 de dezembro de 2000. P.137.

65. RAIA JUNIOR, R. B. **Influência da mastite na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite.** 2001. 78 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

66. RAIA JUNIOR, R. B. **Resíduos de antimicrobianos no leite em diferentes protocolos de tratamento e controle de mastite em bovinos leiteiros** 2006. 94 f. Tese (Doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

67. RAIA JR. R., COSTA E. O. **Influence of mastitis on the withdraw period of several intramammary and parenteral antimicrobial agents used in lactating cows.** In: INTERNATIONAL MASTITIS CONGRESS. 12 –15 September. Vancouver. CA. 2001.

68. RASMUSSEN, M.D.; MADSEN, N.P. Effects of milking vacuum, pulsator airline vacuum, and cluster weight on milk yield, teat condition, and udder health. **Journal Dairy Science**, v.83, n.1, p.77-84, 2000.

69. RENTERO, N. Alguns conceitos importantes numa fazenda de leite. Balde Branco. V.539, p.64-68, 2009.

70. RIBEIRO, A. R.. **Influência da Anti-Sepsia Pós-Ordenha no Controle da Mastite Bovina.** 1996. Dissertação de mestrado (Microbiologia) - (Instituto de Ciências Biológicas-Universidade de São Paulo.

71. RIBEIRO, A. R. **Estudo da mastite bovina causada por microrganismos ambientais: influência do manejo e higiene, sazonalidade e qualidade microbiológica e qualidade microbiológica da água.** 2001. Tese (Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-USP

72. RIBEIRO, A.R ; RAIÁ, R.B.; GARINO JR, F.; COSTA, E.O. Delvotest®: detection of pre-dipping antiseptic products residues of in milk. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 21, Punta Del Este. 4 a 8 de dezembro de 2000. P.136.
73. RIBEIRO, M. G.. Fatores de virulência em cepas de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina clínica e subclínica. 2001. Tese (Epidemiologia Aplicada Às Zoonoses) - FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA- Universidade de São Paulo.
74. RIBEIRO, M. G., COSTA, E.C.; FERREIRA, LEITE, D.S., LANGONI, H., GARINO JÚNIOR, F., Iron-uptake mechanisms as virulence factors of *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE MASTITIS. Vancouver./Canadá. 11 a 16 de Setembro de 2001.
75. SANTOS, F.G.B. Estudo epidemiológico-molecular e de fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* associados à mastite bovina em propriedades leiteiras dos estados de São Paulo e Pernambuco. Tese doutorado. 2009. 122f. (Microbiologia) Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo
76. SANTOS, F.G.B.; RIVERA, I.N.G., ARCARO,J.R.P.; MAMIZUKA, E.M.; MENDONÇA, C.L.; MELVILLE, P.A. COSTA, E.O. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis cases and asymptomatic Carrier mammary glands. World Buiatrics Congress. 2008, Budapest, p. XX
77. SANTOS, F.G.B.; REY, C.M.A., MATARAZZO, S.V.; ARCARO,J.R.P.; COSTA, E.O. Epidemiology of infectious mastitis: a PCR evaluation of *Staphylococcus aureus* carrier mammary glands Carrier mammary glands. World Buiatrics Congress. 2008, Budapest, p. XX
78. SANTOS, F.G.B.; MÁRMORE, C.; ARCARO,J.R.P.; COSTA, E.O. Evidências epidemiológico-moleculares do estágio de portador assintomático de *Staphylococcus aureus* em glândulas mamárias bovinas. Encontro de Pesquisadores de mastite. 2007 Botucatu: UNESP, 2007. p90
79. SABOUR, P.M.; GILL, J. J. LEPP, D.; , PACAN, J. C.; AHMED, R.; DINGWELL, R.; LESLIE, K. Molecular Typing and Distribution of *Staphylococcus*

aureus Isolates in Eastern Canadian Dairy Herds† Journal of Clinical Microbiology, August, , Vol. 42, No. 8, p. 3449-3455,2004.

80. SURIYATHAPOM, W; SCHUKKEN, Y; NIELEM, M; BRAND, A. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis en dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1248-1255, 2000

81. THIERS, F.O. Análise do conteúdo de células somáticas de amostras de leite de bovinos leiteiros em diferentes fases de lactação e do tanque de expansão de propriedades produtoras de leite do Estado de São Paulo e Minas Gerais. São Paulo, 1998. 129 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

82. VALLE, C. R. do. Influência de Vitamina E na mastite bovina. 2000. Dissertação de mestrado (Nutrição Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

83. WAAGE, S.; SKEL, H.R.; RISE, J.; ROGDO, T.; SVILAND, S.; ODEGAARD, S.A. Outcome of clinical mastitis in dairy heifers assessed by reexamination of cases one month after treatment. **Journal Dairy Science**, v.83, n.1, p.70-76, 2000.

84. WANNER, J.M.; ROGERS, G.W.; KEHRLI, M.E.; COOPER, J.B. Clinical mastitis in primiparous Holsteins: comparisons of bovine leukocyte adhesion deficiency carriers and noncarriers. **Journal Dairy Science**, v.82, n.11, p.2517-2523, 1999.

85. Watanabe, E.T.. Avaliação *in vitro* e *in vivo* de tratamentos sistêmicos e intramamários para vacas em lactação e vacas no período seco. 1999. Dissertação (Microbiologia) ICB - Universidade de São Paulo.

86. WATTS, J.L. Etiological agents of bovine mastitis. Veterinary Microbiology, v.16, p.41-59, 1988.

87. ZANI, J. Potencial de infecção e vias de transmissão da mastite por *Corynebacterium bovis*. 2005. 59 p. Tese (Doutorado) – (Epidemiologia Aplicada às Zoonoses)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DA MASTITE BOVINA

Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito

Embrapa Gado de Leite - Pesquisadora
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco
36038-330 Juiz de Fora, MG
E-mail: mavpaiva@cnpgl.embrapa.br

O principal objetivo do diagnóstico microbiológico da mastite é oferecer resultados rápidos e seguros ao veterinário, para que ele possa identificar problemas do rebanho e tomar decisões a respeito de casos individuais.

Diversos aspectos são fundamentais para que o resultado do exame microbiológico seja reprodutível e confiável. Procedimentos padronizados foram publicados por International Dairy Federation (IDF, 1981) e National Mastitis Council (Oliver et al. 2004, Hogan et al. 2005). As padronizações detalham os procedimentos que devem ser seguidos, indicando, entre outros, o meio de cultivo a ser usado, volume de leite a ser inoculado para o isolamento, temperatura e tempo de incubação e testes para identificação de patógenos. Outro aspecto extremamente importante para a garantia da confiabilidade do exame é a coleta e conservação das amostras de leite. É também indispensável que o microbiologista responsável pelo diagnóstico laboratorial tenha conhecimento sobre os agentes causadores da mastite, a fonte de infecção e a transmissão destes agentes no rebanho leiteiro. Esse conhecimento é necessário para a correta interpretação dos microrganismos isolados de modo a gerar informações úteis para o controle da doença.

Agentes da mastite bovina

A mastite bovina pode ser causada por uma grande variedade de agentes, incluindo bactérias, micoplasma, leveduras, fungos e algas. Embora mais de 137 espécies, subespécies e sorotipos de microrganismos já tenham sido isolados de infecções da glândula mamária bovina (Watts, 1988), a maioria das infecções é causada por bactérias. Dentre as bactérias, um número limitado, dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* e do grupo dos coliformes causa a maior parte das infecções.

Considerando a fonte de infecção, os agentes da mastite são classificados em ambientais [ex.: *Escherichia coli*, coliformes, *Streptococcus uberis*, *Enterococcus* spp, *Streptococcus equinus* (anteriormente *S. bovis*) e outros *Streptococcus* do ambiente] e contagiosos (ex.: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma*,

Corynebacterium bovis, *Staphylococcus* coagulase-negativos). Outra classificação divide os agentes da mastite em patógenos primários e secundários. Os patógenos primários incluem *S. agalactiae* e outras espécies de *Streptococcus*, *S. aureus* e *Mycoplasma* spp. Os secundários incluem *C. bovis* e *Staphylococcus* coagulase-negativos.

A aplicação deste conhecimento relacionado à origem do microrganismo e a importância de cada microrganismo na patogênese da doença é de relevância para a realização da cultura e identificação dos agentes da mastite. Enquanto para alguns organismos (ex.: *S. agalactiae*) é fundamental a identificação da espécie, para outros, é suficiente caracterizar o gênero ou o grupo a que eles pertencem (ex.: coliformes). De modo semelhante, é necessária a aplicação de testes para a correta identificação de *S. aureus* (coagulase-positivo) para diferenciar esse agente do grande número dos *Staphylococcus* coagulase-negativos. Um diagnóstico correto é imprescindível para se aplicar medidas diferenciadas de controle e sugerir alterações a respeito do manejo do rebanho.

Coleta de amostras para o exame microbiológico

Devido à grande variedade de patógenos que podem causar mastite, é essencial, para o diagnóstico seguro e correto, que todas as amostras submetidas para exame laboratorial sejam coletadas assepticamente, e em frascos estéreis. A contaminação das amostras de leite, por microrganismos localizados no canal ou orifício dos tetos, ou por microrganismos do ambiente, é um problema para o diagnóstico.

Antes de coletar a amostra, deve-se descartar os primeiros jatos de leite e fazer a antissepsia dos tetos com algodão embebido com álcool a 70%, iniciando-se pelos mais distantes. Quando os tetos estiverem secos, inicia-se a coleta de leite pelos mais próximos. Imediatamente após a coleta, as amostras devem ser colocadas em recipientes com gelo (temperatura 4-5°C) e mantidas nestas condições por até 24 horas até serem entregues no laboratório. Amostras que permanecem mais de 24 horas à temperatura ambiente ou na geladeira não devem ser utilizadas para diagnóstico bacteriológico. A refrigeração é importante para impedir o crescimento de contaminantes, pois as diferenças existentes, no tempo de crescimento entre gêneros e espécies de microrganismos, podem permitir que a população de um contaminante sobreponha a do patógeno de interesse. Caso não se possa enviá-las para o laboratório neste período, pode-se mantê-las congeladas por períodos curtos de até quatro semanas antes do exame. O congelamento pode afetar o isolamento de *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* e de espécies de *Nocardia*, mas não interfere com o isolamento de *S. aureus* e estreptococos, incluindo *Streptococcus agalactiae*,

Streptococcus dysgalactiae e *Streptococcus uberis* após quatro, oito e 16 semanas (Schukken et al. 1989; Oliver et al. 2004). No laboratório, deve-se examinar primeiro o aspecto de cada amostra e, em seguida, proceder à cultura.

Amostras contaminadas

A contaminação das amostras de leite é um dos principais problemas na identificação dos patógenos da mastite no exame microbiológico. Os microrganismos contaminantes podem estar presentes na pele dos animais ou do úbere, ou mesmo na pele do indivíduo que coleta as amostras. Muitos desses microrganismos podem ser agentes da mastite e o isolamento deles pode dificultar a interpretação da cultura. Quando se isola um microrganismo do ambiente juntamente com outros, nunca se pode dizer com segurança se ele é realmente o agente da mastite. Um microrganismo do ambiente pode ser considerado como causa de uma infecção intramamária quando ele é isolado: (1) em cultura pura de uma única amostra, (2) de amostras duplas obtidas na mesma coleta, ou, (3) de duas ou três amostras consecutivas coletadas em intervalos não superiores a 30 dias.

Quando se usam os cuidados de assepsia para coleta de amostras é possível reduzir a contaminação com as bactérias presentes na superfície ou orifício dos tetos, ou bactérias do ambiente. Vangroenweghe et al. (2001) comparou a contaminação de amostras de leite coletadas manualmente, com cuidados de assepsia e amostras coletadas através de cânula intramamária, que permitiu a coleta estéril do leite. Não houve diferença significativa entre a coleta manual e a coleta estéril com respeito à contaminação bacteriana das amostras.

Microbiologia dos casos clínicos de mastite

O exame microbiológico de amostras de leite de todos os casos clínicos de mastite fornece informações importantes para a determinação de estratégias de manejo e prevenção de novos casos. O exame de amostras de mastite clínica pode ser necessário também para o caso de infecções severas, que não respondem à terapia, para a decisão sobre o descarte de um determinado animal por problemas de mastite e para o monitoramento dos casos clínicos do rebanho. O ideal é examinar o leite dos quartos mamários com mastite clínica antes do início de qualquer tratamento

Entre 15% a 40% das amostras de leite de casos de mastite clínica podem dar resultados negativos após cultivo microbiológico, mesmo quando a coleta e os métodos de isolamento são aplicados de maneira correta (Bartlett et al. 1992; Olde Reikerink et al. 2008). O não isolamento do agente da mastite nestes casos pode ser por diversos motivos.

Entre estes, citam-se a eliminação espontânea da infecção, a baixa concentração dos patógenos no leite, o padrão de eliminação dos microrganismos, que pode alternar entre números elevados e mais baixos, a localização intracelular de determinados patógenos e a presença de substâncias inibitórias no leite. Os resultados negativos são reduzidos, mas não são eliminados quando se empregam técnicas que procuram aumentar as chances de isolamento.

Com alguns microrganismos, por exemplo, os coliformes, o número de bactérias na amostra pode ser muito baixo para ser detectado pelos métodos de rotina. Em outros casos, a infecção pode já ter sido eliminada, mas persiste uma elevada contagem de células, porque a cura das lesões não se completou e os leucócitos continuam se movimentando em direção à glândula mamária. Contudo, quando amostras de leite de um rebanho são sempre negativas na cultura, deve-se pensar, também, na possibilidade de um microrganismo não comum, que não cresce normalmente nos meios de cultivo usados na rotina laboratorial como, por exemplo, espécies de *Mycoplasma*.

Cultura do leite para avaliação do rebanho

O melhor modo de se conhecer o estado microbiológico do rebanho é realizando a cultura de todos os quartos mamários das vacas em lactação (Brito et al. 1999). Isto permite a identificação dos agentes e do nível de infecção do rebanho. Apresenta a desvantagem do custo elevado dos exames, dificultando sua adoção na rotina do acompanhamento de rebanhos. Uma alternativa para a redução dos custos é a cultura de amostras compostas de todos os quartos do mesmo animal. Nesse caso, deve-se ter o cuidado de obter quantidades aproximadamente iguais de leite de cada glândula, porque o número de glândulas infectadas por vaca influencia a sensibilidade da cultura. Amostras compostas tiveram alta sensibilidade para o isolamento de *S. agalactiae* (Dinsmore et al. 1991), mas menor sensibilidade para detecção de *S. aureus* (Lam et al. 1996). A sensibilidade relativa para o isolamento de *S. aureus* de amostras compostas de vacas com somente uma glândula infectada foi de 58%. Quando as quatro glândulas estavam infectadas foi de 89% (Lam et al. 1996).

O número de animais e/ou amostras a serem analisadas depende das questões a serem respondidas em cada rebanho. Em rebanhos com contagens de células somáticas elevadas [ou com grande número de quartos mamários com reações positivas no “California Mastitis Test” (CMT)], o problema, geralmente, é a alta prevalência de infecções subclínicas. Nestes rebanhos, a avaliação das infecções presentes pode ser feita pela cultura de uma amostragem de quartos mamários com base nos escores do CMT. O gasto com exames microbiológicos é

reduzido, mas pode não identificar animais infectados com patógenos primários que apresentam baixa contagem de células somáticas ou resultados negativos no CMT (Brito et al. 1999). Na Tabela 1 são apresentados resultados da cultura do leite dos quartos mamários das vacas em lactação de quatro rebanhos, de acordo com os escores do CMT. O número de vacas dos quatro rebanhos foi 115, correspondendo a 452 quartos mamários. Como pode ser observado, quartos mamários com escore negativo no CMT podem estar infectados com *S. aureus* e *S. agalactiae*, patógenos primários da mastite. Portanto, a seleção de somente animais com escore positivo no CMT para cultura do leite não identificaria esses casos.

Tabela 1. Microrganismos isolados em amostras de leite obtidas de todos os quartos mamários em quatro rebanhos em relação aos escores do “California Mastitis Test” (CMT)¹.

Resultados das culturas	Escore do CMT					Total
	Neg	Traço	+	++	+++	
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	4	11	9	42	89
<i>Staphylococcus</i> coagulase-negativos	20	4	9	2	12	47
<i>Streptococcus agalactiae</i>	10	1	8	4	18	41
<i>Streptococcus</i> spp do ambiente	0	1	1	0	2	4
<i>Corynebacterium</i> sp ²	57	10	14	7	7	95
Materiais contaminados ³	9	0	0	0	1	10
Sem crescimento	166	4	9	0	4	183
TOTAL	285	24	52	22	86	469

¹ Dados do autor.

² *Corynebacterium* sp.: bastonetes gram-positivos, com características morfológicas e coloniais de *Corynebacterium bovis*.

³ Materiais contaminados: houve crescimento de mais de três tipos diferentes de colônias.

A análise de somente uma amostra de leite reduz as chances de isolamento do microrganismo presente. Sears et al. (1990) mostraram que glândulas mamárias infectadas com *S. aureus* apresentam um padrão cíclico de eliminação da bactéria no leite, em que altos e baixos números se alternam. A probabilidade de uma única amostra permitir o isolamento de *S. aureus* foi de 74,5%. O exame de duas e três amostras consecutivas aumenta essa probabilidade para 94% e 98%, respectivamente. A partir desse resultado, há uma recomendação geral de se examinar duas ou três amostras de leite consecutivas para aumentar a sensibilidade da cultura de vacas infectadas por *S. aureus*, principalmente aquelas com baixas contagens de células somáticas.

No diagnóstico de infecções intramamárias, o critério mais amplamente aceito, é o isolamento do mesmo microrganismo de duas amostras coletadas em duplicata, ou de duas, em três amostras consecutivas, obtidas pelo menos com um dia de intervalo entre elas. O menor intervalo entre coletas feitas no mesmo dia que causou menor impacto na sensibilidade de isolamento de *S. aureus* foi de aproximadamente 12 horas, e o intervalo de três dias foi o que mostrou maior sensibilidade (Buelow et al. 1996). Na rotina do diagnóstico, culturas múltiplas não são possíveis para a maioria dos rebanhos, porque aumentam muito o custo dos exames. Entretanto, nos trabalhos de pesquisa, esse procedimento deve ser seguido, de modo a se obter maior confiabilidade dos resultados.

Outro critério que tem sido adotado em trabalhos de pesquisa da mastite bovina é a coleta de duas amostras em duplicata, isto é, coletadas imediatamente uma após a outra. Foi encontrada concordância geral de 98,1% entre os pares dessas amostras, sendo maior entre os patógenos contagiosos. Esta foi de 96,4% para *S. agalactiae* e de 94,2% para *S. aureus*. Para outros estreptococos foi de 81,6% e para coliformes, de 55,6% (Erskine & Eberhart 1988).

Exame microbiológico na fazenda

O exame microbiológico do leite de casos clínicos de mastite na própria fazenda (*on-farm*) tem sido adotado em alguns países, em rebanhos com grande número de vacas em lactação e pessoal capacitado. Pequenos laboratórios são estabelecidos, e a cultura emprega métodos simplificados e meios de cultura pré-fabricados, de modo a se obter uma indicação do agente da mastite 18 a 24 horas após a detecção do quadro clínico. O principal objetivo do uso deste sistema é estabelecer protocolos para tratamento dos casos clínicos e monitoramento de programas de controle de mastite.

Os protocolos de tratamento adotados consideram o patógeno envolvido e a severidade dos sintomas clínicos. Os casos clínicos com sintomatologia severa e comprometimento sistêmico são tratados imediatamente. Aqueles que apresentarem sintomatologia moderada e leve são separados e tratados ou não, de acordo com o resultado da cultura (Nesser et al. 2006; Godden et al. 2007). São tratados os casos em que houver crescimento de bactérias Gram-positivas, e não se recomenda tratamento quando não houver crescimento bacteriano, ou quando se detectam bactérias Gram-negativas. Os rebanhos que adotaram a cultura dos casos clínicos na fazenda argumentam que esse procedimento contribuiu para a redução do uso de antimicrobianos, sem reduzir a efetividade do tratamento e, consequentemente, reduziu os dias de descarte de leite devido ao tratamento (Nesser et al., 2006; Ruegg et al. 2009).

O diagnóstico microbiológico da mastite na fazenda emprega uma metodologia simplificada, que dá uma indicação do agente presente. Há diversos trabalhos de pesquisa que avaliam sistemas comerciais compostos de placas divididas em duas ou em três partes contendo o meio de cultura pronto para uso ou Petrifilms (Godden et al., 2007; McCarron et al. 2009a,b). Os meios de cultura empregados nas placas são seletivos para os principais grupos de patógenos envolvidos na mastite. Para bactérias Gram-negativas, geralmente usa-se o agar MacConkey, para bactérias do grupo dos estreptococos, agar TKT e para *Staphylococcus*, agar Baird-Parker ou Vogel-Johnson (Godden et al. 2007). Outros meios podem ser adicionados, para se ter um diagnóstico mais acurado. A interpretação dos resultados dependerá do crescimento obtido em cada tipo de meio de cultura. Para a identificação de Gram-negativos é necessário que o crescimento ocorra somente no agar MacConkey. Quando há o crescimento nos outros meios e também no MacConkey há indicação de contaminação da amostra (Godden et al. 2007; McCarron et al. 2009a, Ruegg et al. 2009). Quando comparado à metodologia tradicional (Oliver et al. 2004, Hogan et al. 2005), este sistema apresentou boa sensibilidade e especificidade para identificar ausência de crescimento e bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, mas sensibilidade baixa para identificar patógenos individuais, por exemplo, *S. aureus*, *S. uberis*, *S. agalactiae* (Godden et al. 2007; McCarron et al. 2009a). A cultura na fazenda não detectará também microrganismos que requerem condições de cultivos especiais, como por ex. *Mycoplasma*.

Um aspecto importante na cultura do leite na fazenda é a obtenção da amostra. Se há crescimento de diversos tipos de microrganismo, a amostra é considerada contaminada e não se pode decidir sobre o tratamento considerando o crescimento obtido. De modo semelhante ao exame tradicional, a cultura do leite na fazenda depende do treinamento de pessoal para a coleta de amostras de leite para evitar a contaminação com microrganismos do ambiente. Os procedimentos adotados na fazenda necessitam de supervisão de pessoal capacitado para monitorar a qualidade dos dados e o uso apropriado das informações obtidas (Sears et al. 2003).

Cultura do leite do tanque de refrigeração

O exame microbiológico do leite total da fazenda (leite do tanque) tem sido muito difundido com o objetivo de avaliação da qualidade do leite e monitoramento do *status* da saúde do úbere do rebanho. Além da contagem total de bactérias aeróbicas do leite, grupos específicos de microrganismos são examinados, incluindo os patógenos contagiosos da mastite, *S. aureus* e *S. agalactiae* (Brito et al. 1998; Brito et al. 2002a). A detecção de

patógenos contagiosos da mastite é feita empregando-se meios seletivos e indicadores para *S. agalactiae* (TKT ou Edwards modificado) e para *S. aureus* (água sal manitol ou Vogel-Johnson). Outros meios também incluídos são água MacConkey para detecção de coliformes e bactérias Gram-negativas e Hayflick modificado para detecção de *Mycoplasma*.

Os procedimentos para o exame, coleta de amostras, volume a ser inoculado e número de amostras que devem ser examinadas são descritos em Oliver et al. (2004) e Hogan et al. (2005). Devido às variações na eliminação dos patógenos contagiosos, há necessidade de se coletar várias amostras do leite do tanque (três ou quatro), em dias diferentes (Tabela 2). Quando presente, *S. agalactiae* e *Mycoplasma* são isolados com mais facilidade do que *S. aureus*.

Tabela 2. Resultados de isolamento de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* em três amostras consecutivas do leite do tanque e de amostras obtidas de todos os quartos mamários de quatro rebanhos¹

Rebanhos (total de animais)	Bactérias	No. de animais infectados no rebanho (%)	No. quartos infectados no rebanho (%)	Amostras do tanque ²		
				1a. coleta	2a. coleta	3a. coleta
A (55)	<i>S. aureus</i>	01 (1,8%)	02 (0,9%)	+	+	+
	<i>S. agalactiae</i>	01 (1,8%)	01 (0,46%)	-	+	-
B (52)	<i>S. aureus</i>	10 (19,2%)	12 (5,9%)	+	+	+
	<i>S. agalactiae</i>	0	0	-	-	-
C (47)	<i>S. aureus</i>	08 (17,0%)	10 (5,4%)	-	-	+
	<i>S. agalactiae</i>	05 (10,6%)	07 (3,8%)	+	-	+
D (119)	<i>S. aureus</i>	10 (8,4%)	10 (2,2%)	+	+	+
	<i>S. agalactiae</i>	10 (8,4%)	17 (3,7%)	+	+	+

¹ Compilado de Brito, et al., 1998.

² Os sinais positivo e negativo indicam, respectivamente, isolamento e não-isolamento de *S. aureus* ou *S. agalactiae*.

A presença de microrganismos do ambiente deve ser cuidadosamente interpretada neste teste, porque nunca será possível afirmar com certeza que esses microrganismos originaram de infecção intramamária. O número de coliformes mais provavelmente, se relaciona com contaminação da pele dos tetos no momento da ordenha. O mesmo pode acontecer com estreptococos do ambiente. Quando números elevados de microrganismos do ambiente são isolados indica que devem ser revistos os procedimentos de higienização dos tetos antes da ordenha. Problemas relacionados à higiene da ordenha, refrigeração do leite e

de limpeza e higienização dos equipamentos de ordenha, podem ser detectados quando se examinam outros grupos de microrganismos, como psicrotróficos e termodúricos. O número dos microrganismos psicrotróficos pode ser estimado pela contagem total de bactérias após a incubação do leite a 12,8°C, durante 18 horas e comparação do resultado com a contagem total de microrganismos aeróbicos feita antes da incubação. Microrganismos termodúricos podem ser avaliados pela contagem total de bactérias depois aquecer a 62,8°C durante 30 minutos no laboratório. Essas duas análises são chamadas em inglês de *Preliminary incubation count* (PIC) e *Lab pasteurized count* (LPC), respectivamente.

Antibiograma

O antibiograma é um teste que oferece como resultado padrões de resistência ou sensibilidade de uma amostra bacteriana específica a vários antimicrobianos (antibióticos ou quimioterápicos). Os resultados do antibiograma são interpretados e usados para tomar decisões sobre tratamento.

Os métodos usados para realização do antibiograma baseiam-se na difusão do antimicrobiano a partir de discos colocados sobre a camada de agar ou no contato direto da suspensão padronizada da bactéria com diferentes concentrações do antimicrobiano, incorporadas em meios de cultivo sólido ou líquido. Este último permite determinar a menor concentração do antimicrobiano que inibe completamente o crescimento da bactéria (CIM: Concentração Inibitória Mínima). Como são mais elaborados, são menos empregados na rotina. Contudo, sistemas comerciais que permitem determinar a CIM são disponíveis no mercado, e têm sido usados para os agentes da mastite, em alguns laboratórios especializados.

O teste mais usado na rotina laboratorial dos trabalhos de mastite é o da difusão do antimicrobiano. Nesta técnica, a suspensão padronizada do organismo em teste é espalhada na superfície do meio de cultura. O antimicrobiano, impregnado em um disco de papel de filtro, quando colocado sobre o meio de cultura inoculado com a suspensão bacteriana, difunde-se, formando um gradiente de concentração. A velocidade de difusão é produto da interação entre as moléculas do agente antimicrobiano e o meio. Portanto, o teste pode ser influenciado pela quantidade do antimicrobiano nos discos, densidade do gel de agar, difusibilidade do agente em solução aquosa, força iônica da composição do meio de cultura e profundidade do agar.

Este é um processo dinâmico, à medida que a incubação prossegue, o gradiente de concentração se altera e ao mesmo tempo acontece a multiplicação bacteriana. A zona de inibição do crescimento bacteriano que resulta é diretamente proporcional à susceptibilidade do microrganismo, desde que todas as variáveis que afetam a difusão da droga sejam

mantidas constantes. A concentração do inóculo também é uma variável que afeta a zona de inibição. Com inóculos mais concentrados, há maior chance de haver crescimento visível antes que o antimicrobiano possa se difundir ao redor do disco. Se o inóculo é pouco concentrado, ocorre o contrário.

Desse modo, para se obter resultados confiáveis no teste de difusão em agar, é muito importante que os detalhes técnicos deste procedimento sejam cuidadosamente padronizados e controlados. É recomendado seguir a metodologia padronizada pelo CLSI (Clinical and Laboratory Institute, anteriormente chamado NCCLS) que é a Instituição que padroniza o método empregado em medicina humana. O Documento M31-A3 (terceira edição) é uma padronização feita especialmente para testes de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias de origem animal (CLSI, 2008). Além de seguir rigorosamente o detalhamento técnico descrito é necessário avaliar periodicamente os procedimentos técnicos do laboratório, empregando as bactérias recomendadas para controle, que possuem halos de inibição conhecidos para diferentes antibióticos.

O método de antibiograma pela difusão do antibiótico na superfície de placas de ágar é recomendado principalmente para bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, do grupo coliforme e espécies relacionadas. Não pode ser usado para organismos que crescem lentamente, como *A. pyogenes*.

O antibiograma é um teste muito solicitado no diagnóstico da mastite para auxiliar na escolha do antimicrobiano para tratamento, e aumentar as possibilidades de cura. É também essencial para os casos que não apresentam melhora e sugerem problemas de resistência ao antimicrobiano administrado. Mas, em geral, na rotina do manejo dos casos clínicos na fazenda, o tratamento da mastite é iniciado logo que se detecta o caso clínico, isto é, antes se fazer a cultura, identificação do agente e o antibiograma. Isto se deve ao tempo requerido para a cultura, que necessita de incubação de pelo menos 24 horas para o crescimento da bactéria e da necessidade do isolamento da bactéria antes de se fazer o antibiograma.

A escolha do antimicrobiano para o tratamento é feita considerando-se a severidade da manifestação clínica, o histórico das culturas anteriores e sensibilidade aos antimicrobianos e experiência do médico-veterinário. Ainda, devido à diversidade de agentes da mastite, na maioria dos tratamentos a opção é feita para antimicrobianos de amplo-espectro. Por outro lado, nem sempre um resultado indicando susceptibilidade *in vitro* é garantia de efetividade *in vivo*. A efetividade do agente antimicrobiano dependerá de diversos fatores, como o tipo microorganismo envolvido, a resposta imune do animal, a distribuição do antimicrobiano e

concentração atingida no tecido mamário inflamado e a capacidade da resposta imune do animal.

Referências

1. BARTLETT, P.C.; MILLER, G.Y.; LANCE, S.E.; HEIDER, L.E. Clinical mastitis and intramammary infections on Ohio dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 12, p.59-71, 1992
2. BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; PORTUGAL, J.A.B. Identificação de contaminantes bacterianos no leite cru de tanques de refrigeração. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. v. 57, n. 327, p. 83-88, 2002.
3. BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; RIBEIRO, M.T.; VEIGA, V.M. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51, n. 2, p. 129-135, 1999.
4. BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; SOUZA, H.M.; VARGAS, O.L. Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 18, n. 1, p. 39-44, 1998.
5. BUELOW, K.L.; THOMAS, C.B.; GOODGER, W.J.; NORDLUND, K.V.; COLLINS, M.T. Effect of milk sample collection strategy on the sensitivity and specificity of bacteriologic culture and somatic cell count for detection of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in dairy cattle. *Prev. Vet. Med.*, v. 26, p. 1-8, 1996.
6. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria inaccessible from Animals; Approved Standard - 3 ed. CLSI document M31-A3. v. 28, n. 8, 2008. 116p.

7. DINSMORE, R.P.; ENGLISH, P.B.; GONZALEZ, R.N.; SEARS, P.M.; SCHULTE, H.F. Evaluation of methods for the diagnosis of *Streptococcus agalactiae* intramammary infections in dairy cattle. J. Dairy Sci., v. 74, p. 1521-1526, 1991.
8. ERSKINE, R.J.; EBERHART, R.J. Comparison of duplicate and single quarter milk samples for the identification of intramammary infections. J. Dairy Sci., v. 71, p. 854-856, 1988.
9. GODDEN, S.; LAGIO, A.; BEY, R.; LESLIE, K.; RUEGG, P.; DINGWELL, R. Use of on-farm culture systems in mastitis control programs. NATIONAL MASTITIS COUNCIL REGIONAL MEETING, 2007, Visalia, California. Proceedings... Verona: National Mastitis Council, 2007.p.1-9.
10. HOGAN, J.S.; GONZÁLEZ, R.N.; HARMON, R.J.; NICKERSON, S.C.; OLIVER, S.P.; PANKEY, J.W.; SMITH, K.L. Laboratory handbook on bovine mastitis. Verona: National Mastitis Council. 2005, 222p.
11. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Laboratory methods for use in mastitis work. Brussels, 1981. 27p. (Bulletin 132).
12. LAM, T.J.G.M.; van WUIJCKHUISE, L.A.; FRANKEN, P.; MORSELT, M.L.; HARTMAN, E.G.; SCHUKKEN, Y.H. Use of composite milk samples for diagnosis of *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy cattle. Journal of American Veterinary Medical Association, v. 208, p. 1705-1708, 1996.
13. McCARRON, J.L.; KEEFE, G.P.; McKENNA, S.L.B.; DOHOO, I.R.; POOLE, D.E. Laboratory evaluation of 3M petrifilms and University of Minnesota bi-plates as potential on-farm tests for clinical mastitis. Journal of Dairy science, v. 92, p.2297-2305, 2009.
14. McCARRON, J.L.; KEEFE, G.P.; POOLE, D.E. Preliminary laboratory evaluation of the Minnesota easy culture system II tri-plate and the 3M petrifilm staph express plate using clinical mastitis samples. NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING. 48. 2009, Charlotte, North Caroline. Proceedings... Verona: National Mastitis Council, 2009. p.144-145.

15. NESSER, N.L.; HUESTON, W.D.; GODDEN, S.M.; BEY, R.F. Evaluation of the use of an on-farm system for bacteriologic culture of milk from cows with low-grade mastitis. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.228, n.2, p.254-260, 2006.
16. OLDE REIKERINK, R.G.; BARKEMA, H.; KELTON, D.; SCHOLL, D. Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, v.91, p.1366-1377, 2008.
17. OLIVER, S.P.; GONZÁLEZ, R.N.; HOGAN, J.S.; JAYARAO, B.M.; OWENS, W.E. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. 4 ed. Verona, WI: National Mastitis Council. 2004. 47p.
18. RUEGG, P.; GODDEN, S.; LAGO, A.; BEY, R.; LESLIE, K. On-farm culturing for better milk quality. Western Dairy Management Conference, Reno, NV. Proceedings... p.149-159, 2009 (<http://www.wdmc.org/proceed.htm>).
19. SEARS, P.M.; MCCARTHY, K.K. Diagnosis of mastitis for therapy decisions. *Veterinary Clinics of North American Food Animal Practice*. V.19, p.93-108, 2003.
20. SEARS, P.M.; SMIT, B.S.; ENGLISH, P.B.; HERER, P.S.; GONZALEZ, R.N. Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *Journal of Dairy*, v. 73, p. 2785-2789, 1990
21. SCHUKKEN, Y.H.; SMIT, J.A.H.; GROMMERS, F.J.; VANDEGEER, D.; BRAND, A. Effect of freezing on bacteriologic culturing of mastitis milk samples. *Journal of Dairy Science*, v. 72, p. 1900-1906, 1989.
22. VANGROENWEGHE, F.; DOSOGNE, H.; MEHRZAD, J.; BURVENICH, C. Effect of sampling techniques on milk composition, bacterial contamination, viability and functions of resident cells in milk. *Veterinary Research*, v. 32, p. 565-579, 2001.
23. WATTS, J.L. Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, v.16, p.41-68, 1988.

Mastite em novilhas: importância e controle

Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira¹; Renison Teles Vargas²; Adriano França da Cunha³; Arianna Drumond Lage³; Georges Moraes da Fonseca¹; Ronon Rodrigues¹; Mônica de Oliveira Leite¹; Cláudia Freire de Andrade Moraes Penna¹; Marcelo Resende de Souza¹

¹Professores da Escola de Veterinária – UFMG; ²Professor do Centro Federal de Educação Tecnológica-Bambuí; ³Estudante do Curso de Pós-Graduação da Escola de Veterinária – UFMG.
E-mail para contato: monicamopc@ufmg.br

1. Introdução

Segundo a literatura científica nacional e internacional, a mastite continua sendo uma das principais causas de perdas econômicas à atividade leiteira. Isso é curioso, quando se analisam as ferramentas disponíveis para o seu monitoramento e controle e ainda todo o conhecimento sobre os aspectos epidemiológicos envolvidos no processo saúde-doença. Parece um paradoxo quando se analisam o desenvolvimento do conhecimento científico, as formas gerenciais de monitoramento dessa doença e os índices de mastite subclínica e clínica nos diferentes sistemas de produção.

Nesse sentido, refletir é necessário. Será que o controle está sendo realizado no momento e da forma corretos? Será que as estratégias utilizadas, que se baseiam principalmente na aplicação de ferramentas como o Programa de Seis Pontos, são suficientes? Será que o momento em que as “primo-infecções” ocorrem está sendo considerado? Bem, analisando-se a situação observada pontualmente por diferentes autores em todo o mundo, percebe-se que algumas “janelas” permanecem abertas. No caso em que esse raciocínio se aplica, como por exemplo, no que se refere à mastite em novilhas, o problema ocorre. Parece que os indicadores publicados em periódicos científicos e observados pontualmente por alguns produtores e médicos veterinários demonstram a necessidade de uma revisão urgente dessas ferramentas e das estratégias empregadas. Não se pode esperar o animal iniciar a lactação para se implantar as medidas preventivas para o controle da mastite. A contaminação pode já ter ocorrido em um momento anterior ao de “produção propriamente dito” e dependendo da situação, as lesões podem já ser irreversíveis e o controle da doença estar muito comprometido.

Como para a maioria dos produtores as novilhas são animais saudáveis, a presença da mastite não é notada até o início da produção de leite ou até o primeiro episódio clínico na

lactação. Com isso, um animal pode ser portador de uma infecção intramamária por um ano ou mais, sem que a mesma seja diagnosticada. Por outro lado, sabendo-se que o maior desenvolvimento do tecido secretor de leite ocorre na primeira gestação, o fato dos animais apresentarem mastite antes do parto, pode significar sérios prejuízos ao produtor.

Considerando a falta de informações da ocorrência de mastite em novilhas, torna-se necessário alertar produtores e técnicos sobre alguns aspectos relacionados a essa enfermidade em animais que representam o futuro estoque de produção de leite na fazenda. Desconsiderar esses aspectos pode significar perdas na produtividade e rentabilidade da atividade leiteira.

2. Prevalência de infecções intramamárias em novilhas

Até pouco tempo atrás, acreditava-se que as taxas de infecções intramamárias em novilhas vazias e gestantes eram baixas. Entretanto, vários estudos têm demonstrado que uma alta porcentagem de glândulas mamárias de novilhas gestantes está infectada por patógenos causadores de mastite durante a gestação, no momento do parto e/ou no início da lactação.

Segundo Fox (2009), nos últimos 20 anos, várias investigações têm sido conduzidas com o objetivo de descrever a natureza da mastite em novilhas, derrubando o dogma de que as novilhas são livres dessa doença.

Pesquisadores americanos têm sugerido que a mastite em novilhas durante o período pré-parto ocorre freqüentemente, com taxas de infecção e tipos de patógenos variados. Em alguns estudos, as bactérias causadoras de mastite subclínica têm sido isoladas em mais de 50% de quartos infectados. Em outras pesquisas, os resultados têm demonstrado que mais de 90% das novilhas em idade reprodutiva ou na primeira gestação podem estar infectadas.

A alta prevalência de mastite em novilhas era relativamente desconhecida até 1995, quando Nickerson et al. (1995) publicaram um trabalho demonstrando que 97% das novilhas Jersey (vazias e gestantes) e 75% dos quartos estavam infectados por patógenos causadores de mastite (Giraud et al., 1997). Sinais clínicos da mastite foram

observados em 29% das novilhas e em 15% dos quartos. Estudos subseqüentes revelaram resultados similares, demonstrando a elevada freqüência de mastite nesses animais.

Comparando-se a freqüência de quartos infectados de novilhas vazias e gestantes, alguns pesquisadores observaram maior porcentagem de quartos infectados em novilhas vazias (86,7%) do que em gestantes (70%). Em outro estudo, 45,5% de novilhas e 18,6% de quartos estavam infectados durante o início da lactação, quando se analisaram amostras de leite de 382 novilhas, três dias após o parto em Vermont (Estados Unidos).

No Brasil, os estudos sobre a ocorrência de mastite em novilhas são escassos. Alguns estudos realizados por pesquisadores do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira (NAPGAMA), como por exemplo, o de Costa et al. (1996), demonstraram a ocorrência de 80% de infecções intramamárias em novilhas primíparas holandesas e mestiças no período pré-parto, confirmando os dados de pesquisadores de outros países. Estudando-se 120 novilhas primíparas no pré-parto de várias propriedades leiteiras, estes autores detectaram predomínio de 49,2% de *Staphylococcus* sp., sendo 95% caracterizados como SCN.

Pardo et al. (1998) analisaram 664 amostras de leite de 83 vacas primíparas da raça Holandesa de 12 propriedades de alta produtividade da Região Norte do Paraná. As amostras foram colhidas no primeiro e no sétimo dia após o parto. Das 664 amostras analisadas, 488 (73,50%) apresentaram-se negativas e 176 (26,50%), positivas para microorganismos aeróbios. Alto índice de mastite clínica (20,48%) foi observado e os microorganismos isolados foram *Staphylococcus* spp. coagulase negativo (64,20%), *Staphylococcus* spp. coagulase positivo (8,52%), *Streptococcus* spp. (7,96%), *Actinomyces pyogenes* (4,55%), *Mycoplasma bovis* (3,40%) e *Escherichia coli* (2,84%). O maior índice de isolamento de patógenos ocorreu no primeiro dia (17,62%) em relação ao sétimo (8,88%).

Posteriormente, Costa et al. (1999), examinando 179 amostras das secreções de 45 novilhas no período pré-parto, detectaram *Staphylococcus* sp. em 64,25% das amostras, *Streptococcus* sp. (5,03%) e *Corynebacterium* sp. (2,23%), além de *Klebsiella* sp. (2,23%) e *E. coli* (1,68%). Em 26,82% das amostras, os resultados foram negativos. No período

pós-parto, *Staphylococcus* sp. foi isolado em 19,05% das amostras, sendo 95% dos microorganismos como SCN. *Streptococcus* sp., *Corynebacterium* sp., levedura e *Prothoteca* sp. foram isolados em 19,05%, 14,29%, 1,58% e 1,58%, respectivamente. Os resultados negativos corresponderam a 52,38% do total das amostras.

Uma investigação da secreção láctea de quartos mamários em 1024 novilhas com mastite clínica em rebanhos da Noruega (Wage et al., 1999) demonstrou que o microorganismo mais freqüentemente isolado foi *S. aureus* (44,3%), seguido de *Streptococcus dysgalactiae* (18,2%), *S. aureus* em associação com *S. dysgalactiae* (1,2%), *Staphylococcus* coagulase negativa (12,8%), *Arcanobacterium pyogenes* (3,5%), *A. pyogenes* em associação com *S. dysgalactiae* (0,5%) ou com *S. aureus* (0,4%), e *Escherichia coli* (6,4%). A ausência de isolamentos de *Streptococcus agalactiae* nesse país pode ser explicada pela adoção de um programa nacional de controle de mastite causada por esse microorganismo. Entretanto, variações na distribuição dos microorganismos (Figura 1) ocorrem de acordo com a localização, condições clínicas, manejo do rebanho e com a estação do ano, refletindo em mudanças dos fatores ambientais, os quais afetam os reservatórios e a transmissão dos organismos.

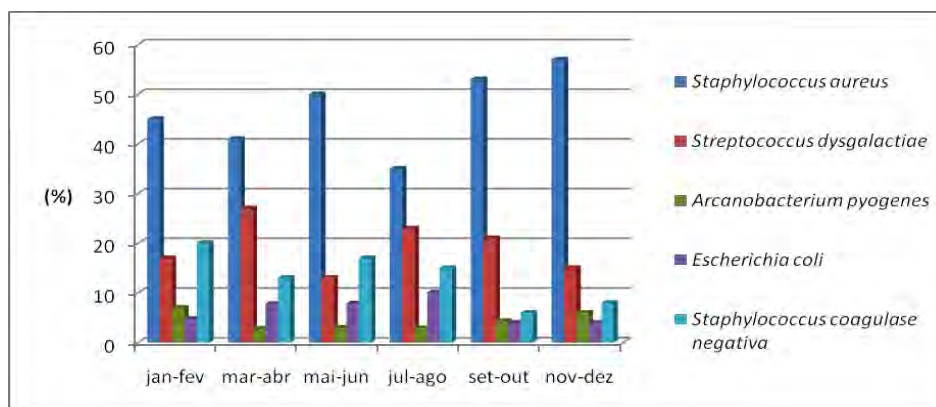


Figura 1. Porcentagem relativa dos microorganismos mais prevalentes isolados de secreções de quartos de novilhas clinicamente afetadas em rebanhos da Noruega de acordo com a estação do ano
Fonte: Adaptado de Waage et al. (1999)

Na Holanda, Borne et al. (2007) estudaram a prevalência e incidência de mastite subclínica em novilhas de 396 rebanhos escolhidos aleatoriamente no período de 2004 a 2005. Os resultados observados revelaram elevado número de animais infectados e com quadros de mastite clínica e subclínica (Tabela 1).

Tabela 1. Número de rebanhos e novilhas infectadas por patógenos causadores de mastite clínica e subclínica no período de 2004 a 2005.

Parâmetros	Mastite subclínica	Mastite clínica
Número de rebanhos	396	205
Número de novilhas no estudo	16.572	9.850
Número de infecções	5.092	958
Novilhas com no mínimo uma infecção (%)	27,2 (26,1 – 28,3)*	8,1 (7,6 – 8,6)*
Taxa de incidência (/365 dias no risco)	0,806 (0,765 – 8,849)	0,191 (0,171 – 0,212)*

*Valores entre parênteses correspondem aos percentis de 2,5 e 97,5%.

Fonte: Borne et al. (2007)

Fox (2009) descreveu em trabalho de revisão sobre a mastite em novilhas que a prevalência de quartos infectados variou de 28,9 a 74,6% no pré-parto e de 12,3 a 45,5% ao parto. Segundo a literatura, os mesmos patógenos envolvidos na etiologia da mastite em vacas mais velhas são também descritos nos casos desta doença em novilhas. Alguns estudos, no entanto, demonstram que *Staphylococcus* coagulase negativa são os mais prevalentes em mastite de novilhas. Já *Staphylococcus* coagulase positiva são considerados o segundo patógeno mais freqüente na etiologia de mastite em novilhas.

3. Impacto econômico da mastite em novilhas

O impacto econômico da mastite sobre a produção de leite tem sido descrito por diferentes autores em todo o mundo. Em novilhas, no entanto, esta estimativa não é muito freqüente. Piepers et al. (2009), ao descreverem como as infecções intramamárias que ocorrem durante a gestação e no início da lactação impactam a saúde da glândula mamária e a produção de leite, revisaram as perdas econômicas da mastite em novilhas sobre a produção de leite. Hortet e Seegers (1998) estimaram uma redução na produção de leite de primíparas em 0,4 kg/dia por aumento de duas vezes na CCS acima de 50.000 céls/mL. Estes dados corresponderam aos de estudos posteriores realizados por Bennedsgaard et al. (2003). Na lactação, perdas de aproximadamente 80 kg na produção de leite por aumento de duas vezes da média geométrica da CCS são também descritos.

Estudos sobre a associação negativa entre CCS no início da lactação e produção de leite são recentes. De Vlieghe et al. (2005) observaram que uma novilha com CCS de 50.000 céls/mL aos 10 dias de lactação produziu 119 a 155 kg de leite a mais durante os primeiros 305 dias. Uma maior CCS entre 5 e 14 dias de lactação está associada com

maior número de casos de mastite subclínica. No entanto, diferenças preditivas são menores para novilhas com diferentes CCS avaliadas com cinco dias de lactação.

Segundo Myllys e Rautala (1995), a taxa de descarte aumenta 4% no caso de novilhas com mastite clínica próxima ao parto. Waage et al. (2000) observaram que aproximadamente 11% das novilhas que foram tratadas contra os patógenos causadores de mastite clínica antes do parto ou nos primeiros 14 dias após o parto foram descartadas um mês após o tratamento. Entre as causas do descarte, a principal foi a mastite, responsável por 96% dos casos. De acordo com Compton et al. (2007), o isolamento de patógenos primários causadores de mastite entre o parto e cinco dias de lactação foi associada com um risco maior de 60% de remoção dos animais infectados do rebanho durante a primeira lactação. Entre as causas mais comuns de descarte, destacaram-se os problemas relacionados à fertilidade.

No Brasil, estudo realizado por Vargas (2005) para avaliar o efeito da antibioticoterapia de vaca seca associada ou não à vacinação contra mastite ambiental em novilhas resultou em avaliação custo-benefício favorável para estas estratégias. Embora não tenha sido observada diferença significativa na produção média dos animais dos diferentes grupos, G1 (tratado com antibiótico específico para vaca seca a base de penicilina G procaína 200.000 UI associado à novobiocina sódica 400 mg, em base de liberação lenta - Albadry plus® - Pfizer e vacinado com a vacina contra *Escherichia coli* – Cepa J5 - Enviracor J5® - Pfizer); G2 (somente tratado com antibiótico Albadry plus®); G3 (somente vacinado com Enviracor J5®), economicamente a produção foi menor no grupo controle, G4 (não vacinado e não tratado) (Tabela 2).

Tabela 2. Média da produção de leite (kg de leite, vaca/dia) de primíparas submetidas ou não a antibioticoterapia e vacinação no pré-parto durante o período de avaliação (191 dias).

Grupos	Produção de leite (kg de leite/vaca/dia) (Médias $\pm$ s)
G1	30,75 $\pm$ 2,90 ^a
G2	29,61 $\pm$ 4,01 ^a
G3	27,66 $\pm$ 6,24 ^a
G4	26,57 $\pm$ 5,03 ^a

^aMédias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste SNK (p > 0,05).

Fonte: Vargas (2005)

Em relação aos grupos, o G1 teve um ganho substancial em relação aos demais, pois os animais desse grupo produziram leite com maior percentual de constituintes,

apresentaram menor frequência de mastite clínica e ainda, a maior média de produção de leite. Comparando-se os custos dos tratamentos preventivos em cada grupo e os custos da mastite clínica com os ganhos financeiros no período do experimento, observou-se que o G1 teve um ganho de R\$3.092,67 referente à maior produção de leite no período, quando comparado ao G4. Esse ganho correspondeu a um valor igual a R\$386,58 por animal. O G2 teve um ganho no período de R\$ 2.499,21, equivalente a R\$277,69 por animal. No G3, o ganho total do grupo foi de R\$542,49 e de R\$67,81 por animal, quando comparado ao dos animais do G4 (Vargas, 2005) (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliação financeira dos tratamentos preventivos (antibioticoterapia e vacinação) e curativos com uso de antibiótico durante a lactação de primíparas em relação à produção de leite do G4 (191 dias).

Parâmetros avaliados	Custos e benefícios/grupos experimentais (R\$)			
	G1	G2	G3	G4
Custo do tratamento preventivo	(R\$ 51,12 x 8) 408,96	(R\$ 28,02 x 9) 252,18	(R\$ 23,40 x 8) 186,40	- 0
Custo dos casos de mastite clínica	(2 casos) 330,61	(3 casos) 384,02	(2 casos) 270,39	(6 casos) 1.318,34
Ganho em produção de leite em relação ao (G4)	(798,38 Kg x 8) 3.832,24	(580,64 Kg x 9) 3.135,42	(208,19 Kg x 8) 999,28	- 0
SALDO	3.092,67	2.499,21	542,49	- 1.318,34

Fonte: Vargas (2005)

4. Microorganismos envolvidos na etiologia da mastite em novilhas

Entre os microorganismos mais freqüentemente associados à mastite subclínica em novilhas, destacam-se *Staphylococcus* coagulase negativo, microorganismo oportunista e considerado do ambiente dos animais. Esse grupo inclui *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus chromogenes*. Outros agentes comumente encontrados são *Staphylococcus aureus* (bactéria altamente contagiosa) e *Streptococcus* ambientais, encontrados no solo, esterco e cama. Outros agentes potenciais causadores de mastite nesses animais são *Mycoplasma* (microorganismo causador de mastite contagiosa) e coliformes (bactérias causadoras de mastite ambiental). É importante lembrar que as infecções de mastite nestes animais representam perdas econômicas significativas devido aos efeitos potenciais dessas infecções nas produções de leite futuras. Pesquisadores

americanos descobriram, por exemplo, que novilhas infectadas por *Staphylococcus aureus* produziam 10% de leite a menos no início da lactação. Na Nova Zelândia, alguns pesquisadores observaram também perdas significativas na produção de leite durante a primeira lactação, prolongando-se até as lactações subseqüentes.

Estudos científicos relatam que devido à presença dos microorganismos no interior da glândula mamária das novilhas, o impacto econômico é direto. Um quarto mamário de novilha infectada antes do parto produz 18% a menos de leite se comparado com um quarto sadio. No caso da novilha parir com mastite causada por *S. aureus*, a redução da produção é, em média, de 2,5 Kg de leite/dia durante os primeiros dias de lactação (Nickerson et al., 1995), devido aos danos causados pelo microorganismo durante o desenvolvimento do tecido mamário, diminuindo assim, a capacidade produtora da glândula mamária.

5. Fontes de infecção

Novilhas podem se tornar susceptíveis aos patógenos da mastite tão logo elas começam a produzir secreções mamárias. Isso pode ocorrer bem cedo, ou seja, de seis a oito meses de idade. As bezerras podem desenvolver infecções intramamárias durante quatro fases: durante o aleitamento, após a desmama, durante a cobertura e durante a gestação. Ninguém sabe ao certo como as novilhas se infectam, mas as fontes de infecção podem estar relacionadas às bactérias que fazem parte da microbiota normal da pele dos tetos; bactérias que habitam as cavidades orais de bezerras e que mamam em outras bezerras; bactérias presentes no ambiente de novilhas como aquelas encontradas no solo, no esterco e no material das camas e ainda, às bactérias veiculadas por moscas como por exemplo, a mosca do chifre.

A maioria dos casos de mastite em primíparas ocorre no início da lactação, o que enfatiza a importância das funções imunológicas durante o período periparto e também indica o possível papel dos fatores de criação desde o nascimento até o momento do primeiro parto. Poucos estudos têm enfatizado a importância dos locais de habitação, alimentação e gestão de bezerras e novilhas. Alguns trabalhos relatam aumento no risco de mastite em novilhas criadas juntamente com vacas mais velhas, em novilhas introduzidas no

efetivo de vacas em lactação com alta contagem de células somáticas e em novilhas alimentadas com dieta de transição com alto teor protéico.

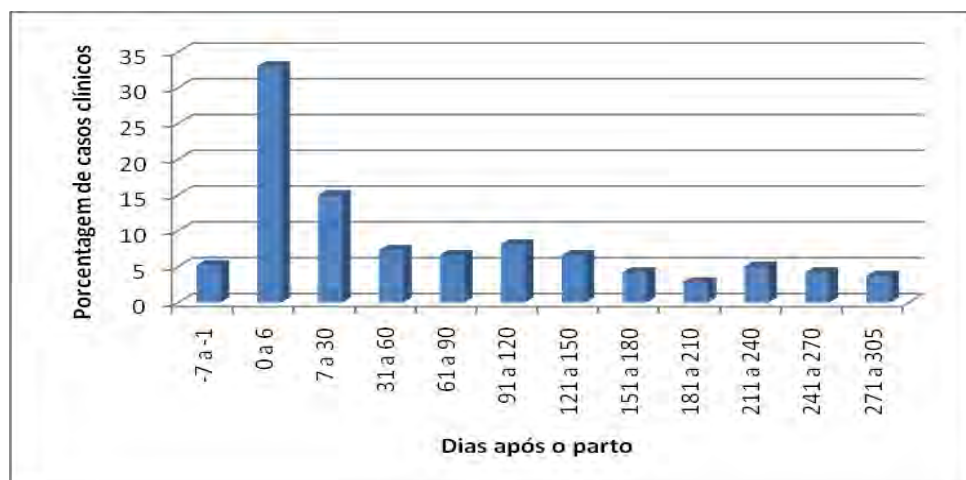


Figura 2. Distribuição de casos clínicos de mastite de -7 a 305 dias pós-parto em novilhas de primeira lactação de 107 rebanhos da Suécia.

Fonte: Adaptado de Svensson et al. (2006)

McDougall et al. (2009) revisaram as medidas de prevenção e de controle da mastite em novilhas e descreveram vários fatores de risco relacionados às mastites clínica e subclínica (Quadro 1). Segundo Dohoo et al. (2003), identificar esses fatores é imprescindível para o controle eficiente da doença. Thrusfield (2005) relatou que fatores predisponentes como idade e estado imune, que aumentam a susceptibilidade do hospedeiro, os que facilitam as infecções intramamárias como ambiente ou nutrição e aqueles relacionados à epidemiologia dos patógenos associados com a mastite, além dos que agravam a mastite como redução da resposta imune ou exposição recorrente aos patógenos, devem sempre ser considerados para o desenvolvimento de medidas estratégicas de controle e prevenção da mastite.

Quadro 1. Fatores relacionados à ocorrência de mastite clínica e subclínica em novilhas.

Fator de risco	Comparação/nível	RR, OR ou RTI ^a	Referência
Animal/nível do quarto IIM no pré-parto Estação do parto Idade ao parto Raça Parto	Presente > ausente Mais velhos > mais novos Friesian > Ayrshires, Friesian > outros Distocia > normal	3,32 1,29 1,60, 1,94 2,2, 1,9	Compton et al. (2007) Fox et al. (1995); Wage et al. (1998) Wage et al. (1998); De Vliegher et al. (2004) Myllys e Rautalla (1995); Compton et al. (2007) Oltenacu e Ekesbo(1994) Barnouin e Chassagne (2001)
Retenção de placenta Velocidade de descida do leite	Sim > não Aumenta por kg de leite/2 min., Rápida ou média > lenta	1,7 1,1, 1,14	Oltenacu e Ekesbo (1994) Sletbakk et al. (1995); Wage et al. (1998)
Esfincter do teto Úbere Úbere Qualidade do leite Distância da extremidade do teto ao chão	Milk leakage no parto > nenhum Edema de úbere > sem edema Edema de teto > sem edema Sangue no leite > ausência 52-55 cm >> 55 cm > < 52 cm, Baixo < 3 cm >> 53 cm	1,36, 1,5 1,65, 1,81 2,2 3,4 0,76 e 0,59, 1,32	Wage et al. (1998; 2001) Wage et al. (2001); Compton et al. (2007) Wage et al. (2001) Wage et al. (2001) Sletbakk et al. (1995); Compton et al. (2007)
Higiene de tetos insatisfatória	Escore ≥ 2 > < 2	1,32	Compton et al. (2007)
Nível do rebanho Produção de leite	Para cada aumento em média FCMb de 500 kg	1,1	Wage et al. (1998)
Manejo de novilhas	Novilhas juntas com vacas velhas > novilhas separadas	0,76	Parker et al. (2007)
Incidência de mastite no rebanho CCSLT	>20 > $\leq$ 20 casos/100 vacas/ano Para cada aumento de 10 ⁵ céls./mL	1,43 0,84	Wage et al. (1998) Wage et al. (1998)
Tamanho do rebanho	Rebanhos > 30 > $\leq$ 30 vacas/ano	0,49	Wage et al. (1998)
Vacas ordenhadas/pessoa		1,002	Parker et al. (2007)
Manejo nutricional	Sem feno > com feno Sem silagem > com silagem	0,60 0,60	Wage et al. (1998)
Densidade no pasto	>3,3 > < 3,3 animais/ha	1,54	Parker et al. (2007)

^aRisco Relativo (RR), Odds ratio (OR) ou razão de taxa de incidência (RTI) dependendo do estudo.

Fonte: Adaptado de McDougall et al. (2009)

Estudos sobre ocorrência de mastite em novilhas de 32 rebanhos comerciais americanos demonstraram que novilhas que tinham feridas e lesões nos tetos, induzidas presumidamente por moscas, apresentaram maior frequência de infecções intramamárias (70%) do que aquelas com tetos normais (40%). Além disso, rebanhos que eram submetidos a algum tipo de controle de moscas apresentavam menor percentual de novilhas infectadas por patógenos causadores de mastite do que aqueles que não eram submetidos a nenhum tipo de controle (Quadro 2).

Quadro 2. Prevalência (%) de mastite em 600 novilhas vazias e prenhas em rebanhos submetidos ou não ao controle de moscas.

Microorganismos	Novilhas infectadas (%)	
	Rebanhos com controle de mosca	Rebanhos sem controle de mosca
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo	32,9	41,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,6	55,2
<i>Streptococcus</i> sp.	3,7	20,7
Coliformes	2,2	0
<i>Actinomyces pyogenes</i>	0	3,4

Fonte: Nickerson et al. (1995)

Fox (2009) revisou a prevalência, incidência e os fatores de riscos relacionados à mastite em novilhas descritos no período de 1983 a 2005. Verificou-se que a prevalência e os tipos de microorganismos isolados são variáveis (Quadros 3 e 4).

Quadro 3. Prevalência de mastite em novilhas antes do primeiro parto, segundo diferentes autores.

Estudo	Amostras (n)	Tipo de amostra	Infecção (%)	Patógenos isolados (%)			
				SCN	SCP	Ambientais	Outros
Oliver e Mitchel (1983)	252	Quarto mamário	71,1	22,1	12,0	9,6	-
Trinidad et al. (1990)	370	Quarto mamário	25,4	52,9	14,9	2,7	0,8
Oliver et al. (1992)	460	Quarto mamário	39,3	52,8	1,7	4,3	1,7
Myllys(1995)	236	Quarto mamário	61,0	28,8	4,7	4,6	0,8
Aarestrup e Jensen (1997)	554	Quarto mamário	62,6	28,9	0,4	6,7	1,6
Fox et al. (1995)	4950	Quarto mamário	64,0	21,8	2,8	7,7	3,5
Oliver et al. (1997)	314	Quarto mamário	34,4	55,1	3,2	5,7	8,3
Oliver et al. (2004)	492	Quarto mamário	44,7	31,1	7,7	6,7	9,7
Middleton et al. (2005)	663	Quarto mamário	53,4	37,3	3,9	3,9	1,5

^aPorcentagem de quartos mamários e de amostras compostas que tiveram uma infecção intramamária por *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP); *Staphylococcus* coagulase negativa; patógenos ambientais, *Streptococcus* não *agalactiae* e outros patógenos ou que não apresentaram infecção.

Fonte: Fox (2009)

Quadro 4. Prevalência^a de mastite em novilhas após o primeiro parto, segundo diferentes autores.

Estudo	Amostras (n)	Tipo de amostra	Infecção (%)	Patógenos isolados (%)			
				SCN	SCP	Ambientais	Outros
Oliver e Mitchel (1983)	262	Quarto mamário	68,8	18,8	0,8	12,5	0,8
Cook et al. (1990)	525	Amostra composta	43,0	43,0	6,0		8,0
Oliver et al. (1992)	41	Quarto mamário	55,4	39,0	0,6	4,9	
Pankey et al. (1991)	382	Quarto mamário	81,7	11,4	0,7	4,8	1,7
Roberson et al. (1997)	828	Amostra composta	45,0	39,0	8,0	13,0	
Myllys (1995)	236	Quarto mamário	71,5	18,5	4,6	3,9	1,5
Nickerson et al. (1995)	600	Quarto mamário	58,4	27,9	8,0	4,2	1,4
Fox et al. (1995)	4950	Quarto mamário	64,0	21,8	2,8	7,7	3,5
Pankey et al. (1996)	458	Quarto mamário	68,3	21,8	0,9	12,9	
Oliver et al. (2003)	332		54,5	45,5	1,0	8,0	
Parker et al. (2007)	252		87,7	5,2	1,6	5,6	

^aPorcentagem de quartos mamários e de amostras compostas que tiveram uma infecção intramamária por *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP); *Staphylococcus* coagulase negativa; patógenos ambientais, *Streptococcus* não agalctiae e outros patógenos ou que não apresentaram infecção.

Fonte: Fox (2009)

Diante destas informações, constata-se que o problema precisa ser avaliado com mais critério tanto por pesquisadores como também por veterinários e produtores. Práticas como administrar leite de vacas com mastite e contendo, ainda, resíduos de antibióticos, devem ser rigorosamente evitadas, pois parecem estar fortemente associadas à ocorrência de mastite em novilhas. O produtor, em vez de “economizar” com essa prática, pode estar contribuindo para uma maior ocorrência de mastite por *Staphylococcus aureus* e ainda por *Streptococcus agalactiae*, dois importantes patógenos causadores de mastite contagiosa. Uma pesquisa americana realizada em 1997 demonstrou que, de 165 amostras de leite de descarte destinado a bezerras, *Streptococcus* causadores de mastite foram isolados em 84 amostras e *Staphylococcus* spp. em 50%.

O leite de descarte é o pior alimento que bezerras podem receber, pois pode causar problemas sanitários graves e, até mesmo, contribuir para a seleção de cepas resistentes a antibióticos, transferindo genes de resistência a outros microorganismos. A médio e longo prazo, práticas como essas podem gerar grandes problemas para a fazenda leiteira,

pela dificuldade de se tratar alguma enfermidade, e também para a saúde pública, pela seleção de super bactérias que apresentam multi-resistência aos medicamentos.

6. Como identificar a mastite em novilhas

Um dos primeiros aspectos a serem considerados refere-se ao monitoramento das características da secreção mamária. Pesquisas americanas demonstraram que secreções similares à consistência de mel apresentam baixa frequência de infecção e aquelas novilhas que têm secreção fina, aquosa com coágulos e flóculos, apresentam alta frequência de infecção e deveriam ser submetidas à amostragem e cultura, visando identificar a presença de bactérias.

Outro ponto importante é a inspeção da glândula mamária. Glândulas inchadas e endurecidas são indicativos de problema e devem ser melhor avaliadas. Monitorar o número de casos de mastite clínica dentro de uma a duas semanas após o parto é também importante. Se mais que 10% das novilhas parirem com mastite clínica por ano, isto pode ser indicativo de problema.

As culturas de casos clínicos de mastite em novilhas são também importantes para identificar o problema. Se houver um número significativo de novilhas com infecções por *Staphylococcus*, é preciso rever, pois perdas significativas podem ocorrer.

A contagem de células somáticas (CCS) do leite de primíparas deve ser inferior à de vacas múltiparas. Assim, se a CCS do leite de animais de primeira lactação for superior a 142.000 céls./mL, isto pode também indicar problema.

7. Controle e prevenção de mastite em novilhas

Para controlar a mastite em novilhas, os produtores de leite devem identificar e tratar a infecção durante o período pré-parto. As taxas de cura espontânea para os principais patógenos causadores da mastite são extremamente baixas. Sem antibioticoterapia, somente 9% das infecções causadas por *Staphylococcus* e 6% daquelas causadas por *Streptococcus* ambientais serão curadas. Desta forma, vários estudos realizados nos Estados Unidos têm demonstrado o sucesso do tratamento de vaca seca para controlar e

curar infecções intramamárias de novilhas no pré-parto. Pesquisadores da Louisiana (EUA) observaram que as infusões intramamárias de antibiótico durante a gestação ou 60 dias antes do parto apresentaram uma eficácia superior a 90% na cura das infecções. O índice de cura da mastite causada por *Staphylococcus aureus* após o uso de terapia de vaca seca em novilhas é normalmente de 90 a 100%. Esse índice é bem maior que os 25% observados quando se faz o tratamento de vacas durante a lactação. Além do maior percentual de cura de infecção, diversos autores têm observado maior produção de leite de novilhas submetidas a tratamento com infusões intramamárias de antibiótico no pré-parto quando comparadas com novilhas não tratadas. Estudos realizados na Universidade de Tennessee (EUA) demonstraram que novilhas tratadas produziram 10% a mais de leite que animais não tratados antes do parto (Quadro 5). O tratamento com antibiótico no pré-parto levou a um ganho de US\$174,92 por novilha, demonstrando que compensa economicamente este tratamento.

Quadro 5. Desempenho de novilhas tratadas com antibiótico no pré-parto e não tratadas (controle) durante a lactação.

Grupo experimental	Produção de leite (kg)	
	305 dias	Escore de CCS
Controle (n = 82)	5005	2,63
Tratado (n = 111)	5464*	2,04*

*p<0,05

Outra pesquisa realizada para avaliar o impacto econômico do tratamento de novilhas no pré-parto mostrou que as novilhas tratadas produziram uma média de 2,5 kg de leite a mais nos dois primeiros meses de lactação do que as novilhas não tratadas. Considerando o preço do leite naquele momento, a maior produção representou 42 dólares a mais por animal, compensando muito bem o custo com o tratamento.

A utilização de vacinas em novilhas constitui outra estratégia para o controle de mastite em novilhas. Os anticorpos constituem um mecanismo de resistência muito importante na imunidade da glândula mamária, porque são dirigidos especificamente contra bactérias causadoras de mastite. Além disso, as concentrações de anticorpos no soro e no leite podem aumentar com a vacinação. O maior progresso tem sido observado com vacinas contra coliformes usando bacterinas constituídas de microorganismos mutantes tais como

E. coli J5 (Nickerson, 1998). Essa vacinação tem sido recomendada 60 e 30 dias antes do parto e 15 dias pós-parto.

Vargas (2005), ao avaliar uma vacina constituída por *E. coli* J5 em novilhas de uma fazenda comercial de Minas Gerais, observou resultados economicamente favoráveis. Os animais dos grupos que receberam a vacina Enviracor (três doses conforme recomendação do fabricante), associada ou não ao antibiótico de vaca seca Albadry Plus, produziram maior volume de leite e tiveram menor percentual de mastite clínica durante os 191 dias de lactação avaliados, quando comparados às primíparas do grupo controle (não vacinado e não tratado).

Em um estudo realizado nos Estados Unidos por Hogan et al. (1999), novilhas foram imunizadas por meio de injeção subcutânea de bacterina *E. coli* J5 aos 60 dias antes do parto, 28 dias depois e dentro de 48 horas após o parto. Elas ainda foram desafiadas pela infusão intramamária de cepa heteróloga de *E. coli* entre 23 e 27 dias após o parto. Os resultados demonstraram redução da gravidade e duração dos sinais locais, baixa contagem bacteriana em amostras de leite as 12, 15 e 48 horas após o desafio e maior título de imunoglobulina G ao parto e imediatamente após o desafio.

Tem-se recomendado também a utilização de vacina com antígeno capsular específico contra *S. aureus* em novilhas. Estudos de pesquisa têm demonstrado redução no número de quartos com infecção crônica nos animais vacinados, diminuição na taxa de novas infecções intramamárias durante a prenhez e menor taxa de novas infecções no período pós-parto (Nickerson, 1999).

Em estudo recente, Middleton et al. (2009) avaliaram a eficácia de bacterina *Staphylococcus aureus* em um grupo de novilhas vacinadas com duas doses da bacterina no intervalo de 14 dias. Nenhum animal apresentou nova infecção intramamária por *Staphylococcus aureus* após a vacinação, tanto do grupo de novilhas vacinadas quanto do grupo de novilhas controle. No rebanho com baixa prevalência de infecções intramamárias por *Staphylococcus aureus*, a vacina não reduziu a taxa de novas infecções estafilocócicas, provavelmente pela insuficiente vacinação, o que limitou a opsonização pelos anticorpos no leite e conseqüente fagocitose e “clearance” estafilocócica na glândula mamária.

Apesar de alguns estudos científicos comprovarem resultados favoráveis, a eficácia da vacinação para prevenção de mastite em novilhas ainda não é consistente. Uma vantagem significativa dessa estratégia (vacinação) é a não utilização de antimicrobianos. Com isso, minimizam-se os riscos de resistência antimicrobiana e os problemas potenciais de contaminação do leite com resíduos desses medicamentos. No entanto, uma desvantagem é que, em geral, a vacinação é “patógeno-específico”. Considerando que a mastite em novilhas é causada por diversos microorganismos, a vacinação contra um único patógeno não irá eliminar novas infecções causadas por patógenos que não são alvos da vacina.

Outra estratégia, ainda em estudo, refere-se à ordenha diária de novilhas aproximadamente duas semanas antes da previsão do parto. Estudos realizados por Santos (2004) demonstraram redução de aproximadamente 25% na prevalência de infecções intramamárias e 55% na incidência de mastite clínica até 135 dias de lactação. Outra consequência desta ação é a redução da contagem de células somáticas pós-parto. Esses efeitos são possivelmente causados pela redução do edema intramamário, a qual resulta da ordenha pré-parto. No entanto, a ordenha pré-parto aumenta os riscos de problemas relacionados com acidose subclínica e causa maior perda de condição corporal. O aumento da produção de leite causado pela ordenha pré-parto resulta em maior demanda de energia e, conseqüentemente, maior risco da ocorrência de balanço energético negativo ao longo do período periparto. Portanto, embora a ordenha pré-parto reduza a incidência e prevalência de mastite, cuidados no manejo dos animais são necessários para minimizar quaisquer efeitos secundários.

Outra estratégia avaliada refere-se ao uso de selantes (barreiras físicas), tanto externos quanto internos aos tetos. Os selantes externos são compostos à base de látex não irritante, acrílico ou filmes baseados em polímeros que são aplicados sobre os tetos tal como as soluções de imersão pré e pós-ordenha com o intuito de formar uma camada protetora sobre os tetos. Já os selantes internos são compostos à base de subnitrato de bismuto contendo antimicrobianos ou não, que são aplicados internamente aos tetos da mesma forma que as bisnagas utilizadas para tratamento de mastite. Essa alternativa tem a função de reduzir a prevalência de infecções intramamárias e a incidência de mastite clínica durante a lactação subsequente pela remoção de infecções existentes e redução nos riscos de novas infecções.

Um estudo desenvolvido na Nova Zelândia por Parker et al. (2007) demonstrou a importância da utilização de selantes internos em novilhas. Observaram-se reduções de 68% na incidência de mastite clínica e de 84% no risco de infecções intramamárias causadas por *Streptococcus uberis* nos primeiros 14 dias de lactação, após a infusão de subnitrato de bismuto aos 30 dias pré-parto.

Em outro estudo de campo realizado nos Estados Unidos por Timms (2001), a aplicação de selante externo em novilhas dez dias antes do parto diminuiu a incidência de todas as infecções intramamárias em 19%. Em relação aos principais patógenos causadores da mastite, a redução foi de 40%, enquanto que para *Streptococcus* ambientais, foi de 50%. Tais resultados indicam que esta prática preventiva de mastite pode ser um potencial substituto da terapia antimicrobiana no período seco, diminuindo ainda os riscos de contaminação do leite por resíduos no início da lactação.

Outras medidas de prevenção importantes citadas na literatura científica incluem:

- monitoramento de CCS no leite, 15 dias após o parto: novilhas não infectadas têm uma CCS menor que 75.000 céls./mL;
- novilhas devem parir em locais limpos e secos, separadas de outros animais;
- não fornecer leite de vacas com mastite e com resíduos de antibióticos para bezerras;
- manter bezerras em “casinhas individuais” para evitar que uma mame na outra;
- estabelecer medidas de controle de moscas, uma vez que em rebanhos que não são submetidos a esses controles, as novilhas apresentam maiores taxas de infecção intramamária;
- manter programas adequados de nutrição para novilhas, incluindo eficiente suporte de minerais relacionados à melhoria da resposta imune, como por exemplo, selênio, cobre, zinco e vitaminas (principalmente vitamina E);
- monitorar a glândula mamária desses animais visando detectar qualquer sinal de anormalidade na consistência e/ou na secreção mamária.
- minimizar incidência de distocias e distúrbios no parto, como hipocalcemia, pela possível associação desses problemas com alto risco de mastite em novilhas.

8. Conclusão

As novilhas representam o futuro do rebanho. Garantir o bem-estar e a saúde desses animais representa maior produtividade e rentabilidade da atividade leiteira. É importante o produtor e o veterinário estarem atentos ao problema da mastite em novilhas, uma vez que o percentual de animais com infecção subclínica é elevado, podendo levar a uma redução significativa na produção e na qualidade do leite.

Identificar o problema na propriedade é o primeiro passo importante para se implantar um programa efetivo de controle de mastite. Muitas vezes, os problemas que ocorrem nos animais durante a lactação, reduzindo a produção de leite na fazenda, podem estar relacionados às práticas de manejo adotadas na criação de bezerras e novilhas. É preciso rever tais práticas para que esses animais possam expressar seu potencial máximo de produção de leite, na idade certa e com o menor custo. Para que isso ocorra, a mastite em novilhas deve estar sob controle!

9. Literatura consultada

BENNEDSGAARD, T.W., ENEVOLDSEN, C., THAMSBORG, S.M., VAARST, M. Effect of mastitis treatment and somatic cell counts on milk yield in Danish organic dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.86, p.3174–3183, 2003.

BORNE van den, B.H.P.; SCHAIK, G. van.; NIELEN, M.; LAM, T.J.G.M. Prevalence and incidence of (sub)clinical mastitis in heifers in a random sample of dairy herds in the Netherlands. In: ANAIS. *Heifer Mastitis Conference*, Bruxells, p.65-66, 2007.

COMPTON, C.W.R.; HEUER, C.; PARKER, K.I.; McDOUGALL, S. Risk factors for peripartum mastitis in pasture-grazed dairy heifers and its effects on productivity. *Journal of Dairy Science*, n.90, p.4171-4180, 2007.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.; VIANI, F.C.; WHITE, C.R. Prevalence of intramamarian infections in primigravid Brazilian dairy heifers. *Preventive Veterinary Medicine*. v.29, p.151-155, 1996.

COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Infecções intramamárias em novilhas primíparas do período pré ao pós-parto e sua importância no controle de mastite. *Napgama*, n.1, p.16-19, 1999.

DE VLIEGHER, S.; BARKEMA, H.W.; STRYHN, H.; OPSOMER, G.; DE KRUIF, A. Impact of early lactation somatic cell count in heifers on milk yield over the first lactation. *Journal of Dairy Science*, v.88, p.938–947, 2005.

DOHOO, I.R.; MARTIN, S.W.; STRYHN, H. *Veterinary Epidemiologic Research*. AVC Inc., Charlottetown, Prince Edward Island, Canada, pp.1-26, 2003.

FOX, L.K. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. *Veterinary Microbiology*, n. 134, p.82-88, 2009.

GIRAUDO, J.A.; CALZOLARI, A.; RAMPONE, H.; RAMPONE, A.; GIRAUDO, A.T.; BOGNI, C.; LARRIESTRA, A.; NAGEL, R. Field trial of a vaccine against bovine mastites. 1: evaluation in heifers. *Journal of Dairy Science*, v.80, n.5, p.845-853, 1997.

HOGAN, J.S.; BOGACZ, V.L.; ASLAM, M.; SMITH, K.L. Efficacy of an *Escherichia coli* J5 bacterin administered to primigravid heifers. *Journal of Dairy Science*, v.82, p.939–943, 1999.

HORTET, P.; SEEGER, H. Calculated milk production losses associated with elevated somatic cell counts in dairy cows: review and critical discussion. *Veterinary Research*, v.29, p.497–510, 1998.

McDOUGALL, S.; PARKER, K.I.; HEUER, C.; COMPTON, C.W.R. A review of prevention and control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies. *Veterinary Microbiology*, n.134, p.177-185, 2009.

MIDDLETON, J.R.; LUBY, C.D.; ADAMS, D.S. Efficacy of vaccination against staphylococcal mastitis: a review and new data. *Veterinary Microbiology*, v.134, p.192–198, 2009.

MYLLYS, V.; RAUTALA, H. Characterization of clinical mastitis in primiparous heifers. *Journal of Dairy Science*, v.78, n.3, p.538-545, 1995.

NICKERSON, S.C.; OWENS, W.E.; BODDIE, R.L. Mastitis in dairy heifers: initial studies on prevalence and control. *Journal of Dairy Science*, v.8, n.7, p.1607-1648, 1995.

NICKERSON, S.C.; OWENS, W.E.; TOMITA, G.M.; WIDEL, P. Vaccinating dairy heifers with a *Staphylococcus aureus* bacterin reduces mastitis at calving. *Large Animal Practice*, v.20, p.16-28, 1999.

NICKERSON, S.C. Programas de vacunacion para controlar la mastitis. In: Memorias del congreso panamericano de control de mastitis y calidade de la leche, 1998. Merida. *Anais*. Merida, 1998, p.130.

PARDO, E. P.; METTIFOGO, E.; MÜLLER, E. E.; NASCIMENTO, E. R.; BUZINHANI, M.; YAMAGUTTI, M.; FREITAS, J. C. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas no período pós-parto. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.18, n.3-4, p.115-118, 1998.

PARKER, K.I.; COMPTON, C.; ANNISS, F.M.; WEIR, A.; HEUER, C.; MCDUGALL, S. Subclinical and clinical mastitis in heifers following the use of a teat sealant precalving. *Journal of Dairy Science*, v.90, n.1, p.207-218, 2007.

PIEPERS, S.; VLIEGHER, S.; KRUIF, A.; OPSOMER, G.; BARKEMA, H.W. Impact of intramammary infections in dairy heifers on future udder health, milk production, and culling. *Veterinary Microbiology*, n.134, p.113-120, 2009.

SANTOS, J.E.P., CERRI, R.L.A., KIRK, J.H., JUCHEM, S.O., VILLASENOR, M., Effect of prepartum milking of primigravid cows on mammary gland health and lactation performance. *Livestock Production Science*, v.86, p.105-116, 2004.

SVENSSON, C.; NYMAN, A.K.; PERSSON WALLER, K.; EMANUELSON, U. Effects of housing, management, and health of dairy heifers on first-lactation udder health in southwest Sweden. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.1990–1999, 2006.

THRUSFIELD, M. *Veterinary Epidemiology*. Blackwell Science, Oxford, U.K., pp.34-45, 2005.

TIMMS, L. Field trial evaluations of a novel persistent barrier teat dip for preventing mastitis during the dry period and as a potential substitute for dry cow antibiotic therapy. *National Mastitis Council Proceedings*, v.40, p.262–263, 2001.

VARGAS, R.T. *Avaliação econômica e qualitativa do leite de novilhas submetidas a antibioticoterapia e vacinação no período pré-parto*. 2005. 73p. Dissertação em Medicina Veterinária – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

WAAGE, S.; MORK, T.; ROROS, A.; AASLAND, D.; HUNSHAMAR, A.; ODEGAARD, S. A. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, v.82, n.4, p.712-719, 1999.

WAAGE, S.; SKEI, H.R.; RISE, J.; ROGDO, T.; SVILAND, S.; ODEGAARD, S.A. Outcome of clinical mastitis in dairy heifers assessed by reexamination of cases one month after treatment. *Journal of Dairy Science*, v.83, P.70-76. 2000.

SISTEMA DE PAGAMENTO COMO INCENTIVO À QUALIDADE DO LEITE

Fernando Ferreira Pinheiro

Introdução

Com o crescimento da produção de leite no Brasil, tornou-se necessário incentivar o aumento do consumo do leite e seus derivados, bem como expandir a venda dos produtos brasileiros para novos comércios, via exportação. Para que essas necessidades possam ser atendidas, é muito importante atender a principal demanda do mercado, a de produtos de qualidade e que não ofereçam riscos de consumo, principalmente para crianças e idosos. No caso do leite e seus derivados, a busca por produtos de melhor qualidade começa pela matéria-prima, ou seja, a qualidade dos produtos que as indústrias vão comercializar depende da qualidade do leite fornecido pelos produtores. Além de influenciar na qualidade do produto final, a matéria-prima leite influencia também no rendimento das plantas industriais.

Desta forma, a criação de um Programa de Melhoria na Qualidade do Leite se torna fundamental para uma indústria melhorar a qualidade do leite recebido dos produtores, com isso melhorar a qualidade de sua principal matéria-prima e seus índices de rendimento. Além disso, um programa documentado faz parte das exigências da IN 51.

Um projeto de educação continuada junto aos produtores é uma parte importante em um programa para a melhoria na qualidade do leite, inclui-se neste projeto ações como: palestras para produtores, projetos de assistência e educação de produtores, manuais e informativos técnicos e a disponibilização dos resultados de análise de qualidade para os produtores. Para que a educação continuada atinja seus objetivos é importante existir um incentivo, o Sistema de Pagamento pela Qualidade do Leite é uma das formas de realizar esse incentivo.

Desta forma, o pagamento pela qualidade é um importante para que o produtor busque informações e ajuda para melhorar a qualidade do leite produzido em sua propriedade. Além disso, é uma forma justa de bonificar àqueles que se preocupam com a qualidade e investem em melhorias. Um sistema de pagamento pela qualidade beneficia a indústria, com a melhoria na qualidade da matéria-prima, e o produtor por ter o seu produto

valorizado pelas melhorias adotadas e que resultaram em um avanço na qualidade do leite, produto de todas as atividades realizadas na propriedade rural.

A importância da qualidade do leite para a produção de derivados lácteos.

O controle e a determinação dos componentes do leite são muito importantes na fabricação de derivados lácteos. A composição média do leite é de 87,4% de água e 12,6% de sólidos totais, sendo 3,9% de gordura, 3,2% de proteína, 4,6% de lactose e 0,90% de minerais (Harding, 1995). A composição do leite pode variar devido a vários fatores como a sazonalidade, a genética e a nutrição.

Além da composição, a qualidade microbiológica do leite também é de extrema importância para a produção de derivados. Neste caso, as células somáticas e as bactérias contaminantes têm grande influência sobre as características organolépticas e sobre o tempo de prateleira dos produtos (Machado, 2008).

Além de atestar o estado sanitário das vacas em lactação em relação à mastite, a CCS também é um critério de qualidade do leite cru, já que a glândula mamária doente produz leite com composição alterada, o que resulta em leite fluido e produtos lácteos de qualidade reduzida (Gigante e Costa, 2008). A literatura aceita como 200.000 cél. Somáticas /mL indicativo de leite originário de um úbere sadio, livre de mastite. Estima-se ainda que ocorra uma redução de 2 a 2,5% da produção de leite para cada 100.000 cél. Somáticas /mL acima de 200.000 cél/mL (Philpot, 2002).

O uso de leite com CCS elevada afeta principalmente a produção de queijos, por causa de sua menor concentração de caseína e aumento das proteínas do soro. Causa ainda alteração da coagulação e do conteúdo de sólidos no soro, resultando em um produto com alterações sensoriais e defeitos de textura. Com relação à fabricação de leite em pó, a CCS elevada pode alterar a estabilidade térmica e redução da vida de prateleira, além do aparecimento de sabores indesejáveis no produto final. No caso do iogurte pode inibir a ação dos fermentos utilizados, em razão dos altos níveis de substâncias como a lactoferrina. E no caso do leite UAT, o uso de leite com elevada CCS contribui para a redução do tempo para início do defeito conhecido como gelatinização do leite, devido a ação de proteases e lipases (Santos e Fonseca, 2007).

No caso da elevada Contagem Bacteriana Total (CBT), a mesma é indesejável pois coloca em risco a saúde do consumidor devido à maior probabilidade de veiculação de doenças, e para a indústria, devido a problemas do leite, além de características sensoriais indesejáveis (Mendonça et al., 2001).

Com relação aos outros componentes do leite. A gordura é o componente mais variável, influenciada por fatores ambientais e manejo (especialmente nutrição) e genéticos (Reis et al., 2004). No caso dos teores de proteínas, estes são determinantes do rendimento industrial de queijos e outros lácteos dependentes da concentração de caseína no leite utilizado como matéria-prima (Fonseca et al., 2008).

Desta forma a redução de células somáticas e de bactérias, o aumento nas concentrações de gordura e proteína verdadeira no leite representam uma grande revolução para a cadeia pois haverá redução nos custos de transporte da matéria-prima e aumento na eficiência industrial (Machado, 2008). Além disso, seria a garantia de um produto final de melhor qualidade e sem risco para o consumidor.

O Sistema de pagamento pela qualidade.

Em Portugal e na Europa as indústrias adaptaram sistemas de pagamento que penalizam o leite fora de especificação e bonificam aquele que tem melhores desempenhos que os critérios exigidos por lei (Ribeiro, 2008). Os Estados Unidos e o Canadá também adotaram essas ferramentas para melhoria da qualidade do leite cru (Machado, 2008). Desta forma, fica evidenciado que esta ferramenta é muito importante para a melhoria do leite cru produzido no Brasil.

A implantação de um Sistema de Pagamento pela Qualidade vai além de estabelecer os parâmetros e os valores a serem usados para a bonificação da produção. Neste caso, é importante seguir os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa 51 (Brasil, 2002). É muito importante possuir uma estrutura capaz de garantir a correta coleta das amostras na propriedade, assim como o seu envio para um dos laboratórios da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite. E este ponto é fundamental, pois garante a agilidade da coleta e envio das amostras, do processamento das análises e do recebimento e processamento dos resultados, garantindo assim a confiabilidade e imparcialidade dos resultados que serão utilizados na composição da bonificação pela qualidade.

O Sistema de Pagamento pela Qualidade começa, portanto na coleta da amostra, para tanto é importante que esta tarefa possua um Procedimento Operacional Padrão descrito e registrado nos documentos da indústria. Além de estar descrito, esse procedimento deve ser passado em treinamentos para os responsáveis pelas coletas. Atualmente o sistema mais utilizado é a coleta realizada pelos transportadores, portanto o treinamento contínuo e o controle da coleta são fundamentais para o sucesso do sistema.

É importante também garantir um suprimento de material para a coleta e armazenamento das amostras, ou seja, frascos, conservantes, caixas isotérmicas e gelo reciclável. Depois de coletada essas amostras devem ser enviadas a um laboratório da RBCQL para serem analisadas, dentro de um prazo de até 7 dias. Para cumprir essas etapas é necessário haver um cronograma de coletas, envio e análise das amostras, esse cronograma deve ser estabelecido e enviado para todas as partes envolvidas, indústria e laboratório.

De posse dos resultados, é importante ter um sistema que possa receber esses resultados, disponibilizá-los para os produtores e processá-los para realizar o pagamento pela qualidade. Quando o produtor passa a receber pela qualidade do seu produto, neste caso o leite, ele passa a se preocupar com o resultado das análises. Por isso é muito importante disponibilizar este resultado ao produtor de forma objetiva e ao mesmo tempo completa assim ele poderá avaliar e planejar ações para a melhoria da qualidade de seu leite. Desta forma, a qualidade se torna mais um parâmetro para avaliação da produção, inclusive se torna um indicador de desempenho financeiro da produção de leite na propriedade.

Preparada para atender a esse processo, há sete anos, a CCPR-Itambé deu início às análises relativas à Contagem Bacteriana Total (CBT), Contagem de Células Somáticas (CCS) e composição do leite recebido de seus cooperados. Assim foi criado um banco de informações que tinha por objetivo, primeiramente, municiar os produtores com informações sobre o leite produzido, possibilitando a adequação às exigências da Instrução Normativa nº 51, que entraria em vigor três anos depois.

A partir daí, os produtores tiveram acesso ao boletim da qualidade, por meio do qual podiam avaliar os índices de medida da qualidade do leite, preparando-se para atender às exigências legais e para o pagamento pela qualidade, adotado há quatro anos pela CCPR.

Os dados colhidos levaram à implantação de programas que, até hoje, visam a melhoria contínua da qualidade do leite produzido pelos cooperados.

Os resultados para pagamento são registrados no boletim da qualidade, assim como o histórico de qualidade da propriedade, servindo de orientação para os produtores. Além disso, essas informações permitem aos técnicos da Itambé realizarem visitas para a orientação sobre a qualidade do leite junto aos produtores.

Um programa de pagamento pela qualidade do leite deve incentivar o produtor a melhorar a qualidade do seu leite. Principalmente no que se refere a CBT e CCS, pois estes dois parâmetros dependem da adoção de práticas corretas de manejo, como a limpeza e higienização dos equipamentos de ordenha e o controle de mastite. São nesses parâmetros que o produtor consegue uma melhoria da qualidade significativa no seu produto a curto e médio prazo, já que com relação aos sólidos nutrição, e principalmente a genética é que irão interferir para ocorrerem melhorias.

Considerações finais.

As experiências obtidas no Brasil e no exterior comprovam que o pagamento pela qualidade do leite é a ferramenta mais eficiente para promover a melhoria na qualidade. Esse incentivo vem sendo adotado cada vez mais por várias indústrias, o que ajuda a fortalecer a cadeia e criar no produto a preocupação com a melhoria na qualidade de seu produto.

Um sistema de pagamento pela qualidade não deve ser estático, é importante sempre revisá-lo e atualizá-lo de acordo com as novas exigências legais e de mercado. Ou seja, deve ser uma ferramenta dinâmica sempre buscando incentivar e premiar aqueles produtores que se preocupam com o leite com alimento para um consumidor final.

Referências

1. BRASIL, *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite.* Balde Branco, n. 456, 2002.

2. FONSECA, L.M. et al. *Situação do leite cru em Minas Gerais 2007/2008, III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite*, Recife, CCS Gráfica e Editora, 2008, 373 p.
3. GIGANTE, M.L.; COSTA, M.R. *Influência das Células Somáticas nas Propriedades Tecnológicas do Leite e Derivados, III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite*, Recife, CCS Gráfica e Editora, 2008, 373 p.
4. HARDING, F. *Milk quality*. New York: Blackie Academic & Professional, 1995, 165 p.
5. MACHADO, P.F. *Pagamento do Leite por Qualidade, III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite*, Recife, CCS Gráfica e Editora, 2008, 373 p.
6. MENDONÇA, A.H. et al. *Qualidade físico-química de leite cru resfriado: comparação de diferentes procedimentos e locais de coleta, Revista do ILCT, v.56,n.321, p.276-281, 2001.*
7. PHILPOT, N. *Qualidade do Leite e controle de mastite: passado, presente e futuro, Congresso panamericano de qualidade do leite e controle de mastite*, Ribeirão Preto, Instituto Fernando Costa, 2002, p.23-28.
8. REIS, R.B. et al. *Manipulação da Qualidade do Leite pela Nutrição da Vaca, I Simpósio do Agronegócio do Leite: Produção e Qualidade, Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 2004.*
9. SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L *Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite*, Barueri, Editora Manole, 2007, 314 p.

RESISTÊNCIA AOS ANTI-HELMÍNTICOS EM PEQUENOS RUMINANTES

Felipe Pohl de Souza, MV, MsC
AVEPER Associação de Especialistas em Pequenos Ruminantes

Histórico

Ovinos e caprinos ancestrais, assim como outros ruminantes selvagens, tinham um comportamento migratório. Ao longo do ano percorriam uma determinada região em busca de alimento e proteção contra às adversidades do clima. Resquícios deste comportamento ainda podem ser observados nos ovinos e caprinos “modernos”, pois durante as 24 horas do dia uma ovelha caminha de 6 a 15 quilômetros (GIAMBRUNO, 1995)¹. Este hábito garantia aos animais uma alimentação de melhor qualidade e proteção contra as parasitoses, pois com o deslocamento evitavam as reinfecções com larvas de parasitas nas pastagens.

Os ovinos e os caprinos foram os primeiros animais de importância econômica, a serem domesticados, faz-se referência que a ovinocultura teria sido responsável pela primeira indústria agropecuária da humanidade. Esta convivência fez com que as espécies fossem se adaptando às necessidades do homem e conseqüentemente perdendo suas características primitivas, tornando-se extremamente dependente do homem.

Do início da domesticação até o século XV, os ovinos eram criados em grandes áreas, obedecendo a uma migração, em busca de pastagens de melhor qualidade. Foi a época de ouro dos pastores, figuras presentes em várias culturas. No século XV os europeus iniciaram os trabalhos com pastagens cultivadas de gramíneas e leguminosas e a utilização de tubérculos para suplementação alimentar (ESMINGER, 1970). Este fato é determinante na modificação dos hábitos migratórios dos ovinos, pois as pastagens cultivadas permitem uma maior lotação e tornam desnecessários os longos deslocamentos em busca de forragens. A alimentação abundante favorece programas de seleção na busca de animais mais produtivos. Estes primeiros “programas” de seleção foram realizados nas regiões de clima temperado, onde o inverno rigoroso determina um controle natural das infecções parasitárias.

¹ Comunicação pessoal durante o curso de especialização promovido pela AVEPER (Associação dos Veterinários de Pequenos Ruminantes - 1995)

A partir do século XIV os ovinos e caprinos começam a ser introduzidos em novos continentes seguindo os colonizadores. Para a América vieram na segunda viagem de Colombo, em 1493 (ESMINGER, 1970). A introdução destas espécies em regiões distintas das de sua origem e seleção determina, um processo de adaptação dos ovinos e de seus parasitas. O novo ambiente com clima tropical , subtropical ou temperado brando e muitas vezes com umidade alta, não era o ideal para os ovinos mas foi extremamente favorável para os parasitas. A partir de então, o ovino que tem sua origem em regiões temperadas ou desérticas e com um comportamento migratório, passou a ser criado em regiões de climas quentes e úmidos do hemisfério sul, isto determinou o aparecimento do maior flagelo da ovinocaprinocultura moderna, as infecções parasitárias.

Durante muito tempo os ovinocaprinocultores conviveram com os prejuízos causados pelas parasitoses sem alternativas de controle. A utilização de produtos como sulfato de cobre e arsenito de sódio diminuía as infecções, mas eram de difícil aplicação e bastante tóxicos (PEREZ, 1932). Isto impunha uma participação efetiva dos médicos veterinários no controle das parasitoses, através da contagem de ovos e identificação de larvas. O aparecimento na década de 60 do thiabendazol, o primeiro anti-helmíntico de amplo-espectro, parecia ser a solução para todos os problemas e o acompanhamento do médico veterinário foi substituído por esquemas predeterminados de aplicação de anti-helmínticos (ECHEVARRIA, 1996). Depois dos benzimidazóis surgem anti-helmínticos cada vez mais potentes agindo sobre o parasita adulto e as fases larvais.

A utilização indiscriminada dos anti-helmínticos levou a um inevitável processo de seleção dos parasitas. E assim, a primeira descrição de cepas resistentes de parasitas de ovinos a anti-helmínticos aconteceu na década de 50, nos Estados Unidos. A estas seguiram-se outras, principalmente no hemisfério sul. Na Austrália o primeiro caso é assinalado em 1968, na Nova Zelândia em 1980, na África do Sul em 1975, no Uruguai em 1990 e no Brasil em 1967.

A resistência a anti-helmínticos chamou a atenção da FAO (Food and Agriculture Organization), que preocupada com o risco que isto representa, financiou um estudo para verificação dos níveis de resistência a anti-helmínticos na Argentina, no Brasil, no Paraguai e no Uruguai, países onde a ovinocultura é importante e tem altos índices pluviométricos (WALLER *et al.*, 1996).

Causas da Resistência

A variabilidade genética entre os organismos vivos é uma estratégia que garantiu a evolução e a sobrevivência de muitas espécies, através da adaptação as modificações do ambiente.

O surgimento das drogas (antibióticos e anti-helmínticos) impôs a algumas espécies uma aceleração no ritmo evolutivo, gerando populações capazes de sobreviver a estes medicamentos.

A intensificação dos sistemas de produção e o uso indiscriminado dos vermífugos são os principais fatores que levaram ao aumento das populações de parasitas resistentes aos anti-helmínticos.

Na prática podemos considerar que a rotação de princípios ativos e as vermifugações mensais foram as principais causas do surgimento das cepas resistentes. E isso se deu pela crença de produtores e técnicos (veterinários), de que verminose se resolve com vermífugo.

Diagnóstico

A maneira mais simples de diagnosticar a resistência dos parasitas é a utilização do teste de vermífugos ou teste de resistência, que consiste basicamente em:

- a) exame de fezes pelo método de McMaster (GORDON & WHITLOCK, 1939;
- b) aplicar o vermífugo;
- c) sete a 12 dias após a vermifugação, um novo exame fezes pelo método de McMaster;
- d) aplicação da formula de eficácia.

Fórmula (COLLES et al., 1992): percentagem de eficácia

$$E\% = 1 - \left[\frac{T}{C} \right] \times 100$$

onde:

T = média pós-tratamento

C = média do controle na segunda colheita

Os tratamentos que tiverem eficácia menor que 95% são considerados ineficientes e existe resistência ao produto testado.

Controle da Resistência

O ponto mais importante para o controle da resistência é a **conscientização, dos médicos veterinários e proprietários**, de que os vermífugos não são infalíveis e, portanto simplesmente aplicá-los não resolve o problema. A partir daí a implementação de algumas ações podem, prolongar a vida útil dos vermífugos e minimizar as perdas de produção.

A) Diminuir a frequência dos tratamentos.

- 1) Utilizar vermífugos eficientes, selecionados através de um teste;
- 2) Realização freqüente de exames de fezes, para determinar a carga parasitária;
- 3) Estabelecer a carga parasitária a partir da qual o tratamento é realizado;
- 4) Só trocar o princípio ativo, quando através de um teste sua eficácia for inferior a 95%;
- 5) Evitar altas lotações das pastagens

B) Aplicar corretamente os vermífugos.

- 1) Pesar os animais, quando não for possível pesar todos calcular a dose pelo animal mais pesado do lote;
- 2) Calcular corretamente a dose;
- 3) Aplicar corretamente, principalmente os produtos de administração oral;

C) Evitar “comprar” resistência.

- 1) Procurar conhecer o rebanho de origem os novos animais;
- 2) Não introduzi-los nas pastagens, sem um exame de fezes negativo;
- 3) Quando o animal estiver parasitado, o mesmo deve ser isolado e tratado até que esteja livre da infecção;
- 4) As fezes produzidas durante o período de quarentena, não devem ser utilizadas como adubação de pastagens;
- 5) Quando possível os procedimentos descritos acima, devem ser realizados na propriedade de origem.

D) Tratamento seletivo, aumento da população de refugia.

- 1) Utilização do Método Famacha®, onde apenas os animais que apresentam anemia perceptível são tratados, o que a médio prazo permite a identificação de animais resistentes e resilientes
- E) Diminuir a contaminação das pastagens.
- 1) Pastoreio com outras espécies (eqüinos e bovinos adultos);
 - 2) Rotação entre pastagens e lavouras;
 - 3) Utilização de pastagens anuais, com preparo do solo.
- F) Seleção de animais resistentes as parasitoses.
- 1) Introdução de raças que apresentem resistência genética aos parasitas gastrintestinais;
 - 2) Seleção de animais no próprio rebanho (Método Famacha®)
- G) Alternativas.
- 1) Uso de terapias alternativas;
 - a) Fitoterapia;
 - b) Homeopatia;
 - c) Cobre
 - 2) Controle da contaminação das pastagens, com a utilização de fungos com capacidade de matar as larvas.

Quanto à resistência já está estabelecida, devemos aplicar as técnicas descritas acima e tentar a consorciação de princípios ativos na tentativa de aumentar a eficácia e principalmente selecionar animais resistentes.

O problema da resistência parasitária esta diretamente ligada à negligência dos veterinários no controle das parasitoses, portanto agora caberá a nós controlarmos e revertermos esta situação. Isso se dará no momento em que reconhecermos que o controle de verminose em pequenos ruminantes, não é simples e que os parasitas tem mecanismos adaptativos extremamente eficientes.

Referências

1. COLES, C.G.; BAUER, C., BORGSTEEPE, F. H. M, et alli. World Association for the advancement of Veterinay Parasitology W. A. A. V. P. methods for the detection of

- anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, p. 44 - 35, 1992.
2. ECHEVARRIA,F.A.M.; BORBA,M.S.F.; PINHEIRO,A.C. et alli. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of the sheep in Southern Latin America:Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, n. 62, p. 199 - 206, 1996.
 3. ESMINGER,M.E. *Sheep and Wool Science*. Danville, Interstate Printers and Publisher, 1970.
 4. GORDON,H.M.; WHITLOCK,H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. CSIRO*, v.12, p.50 - 52, 1939.
 5. NARI,A. Enfoque epidemiológico sobre el diagnóstico y control de resistencia antihelmíntica en ovinos. Montevideo, Hemisferio Sur, 1987.
 6. PEREZ,J.R. As verminoses dos nossos rebanhos. In *CONGRESSO RURAL* (6.: Porto Alegre: 1932). Porto Alegre, Typographia Gundlach, 1932, p. 408 - 414.
 7. SOCCOL,V.T; SOTOMAIOR,C; SOUZA,F.P; et alli. Occurrence of resistance to anthelmintics in sheep in Paraná State, Brazil. *The Veterinary Record*, London, n. 139, p.421 - 422, 1996.
 8. WALLER,P.J.;ECHEVARRIA,F; EDDI,C; et alli; The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of the sheep in Southern Latin America: General overview. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, n. 62, p. 181 - 187, 1996.
 9. WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. *Med. Jour. Australia*, v. 8, p. 375-376, 1927.

BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO APLICADAS A PEQUENOS RUMINANTES

Fabiana Cristina Varago, Valéria Spyridion Moustacas, Cruz, B. C., Bruno Campos de Carvalho, Luiza Fernandes Mendonça, Monique de Albuquerque Lagares, Marc Roger Jean Marie Henry
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG
Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG

Introdução

A ovino-caprinocultura são atividades econômicas em contínua expansão no Brasil. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) permitem observar que entre os anos de 1975 e 2003, o rebanho ovino brasileiro chegou a crescer até 455% em algumas regiões brasileiras. Isto mostra aumento da importância da atividade e, conseqüentemente, sua contribuição para a composição do produto interno bruto do agronegócio brasileiro.

A criação de pequenos ruminantes ainda apresenta potencial de expansão, uma vez que, mesmo com todo o crescimento apontado pelo IBGE, o fornecimento interno de carne ovina ainda está aquém da real demanda, e o país importa grande parte da carne consumida do Uruguai e da Nova Zelândia. Na espécie caprina, a atividade leiteira é uma grande promessa, uma vez que o produto obtido tem alto valor agregado. Além disso, a atividade atua como importante instrumento em ações de desenvolvimento social, sobretudo por essas espécies se adaptarem a diversos ambientes e a sua grande importância como fonte de alimentação às populações carentes, principalmente no norte e nordeste do país.

Nos sistemas de produção em escala, a produtividade dos rebanhos, a precocidade do animal ao abate, a qualidade do produto final e a eficiência reprodutiva são entraves no Brasil para uma maior rentabilidade e conseqüentemente um crescimento ainda maior deste segmento do agronegócio. Nesse contexto, a intensificação do manejo reprodutivo e o melhoramento genético constituem etapas fundamentais para a expansão da atividade de forma competitiva, sendo os programas de reprodução assistida e o uso de biotecnologias ferramentas otimizadoras do processo (Bicudo et al., 2003). O objetivo desta revisão é abordar, de maneira sucinta, as principais técnicas utilizadas na reprodução assistida de pequenos ruminantes.

Inseminação Artificial

Dentre as biotecnologias da reprodução, a inseminação artificial (IA) é a mais simples e difundida e, certamente, a de maior impacto para os programas de melhoramento animal, permitindo rápida difusão do material genético de reprodutores superiores. No entanto, a inseminação artificial em pequenos ruminantes ainda não é utilizada na mesma proporção que em bovinos, e isto provavelmente se deve à peculiaridade anatômica da cérvix, que dificulta sua transposição e requer mão-de-obra treinada para executá-la de forma segura, principalmente na espécie ovina.

Em cabras, a inseminação geralmente é realizada pela técnica transcervical (intra-uterina). Nesta, com o auxílio de um espelho, o ósteo cervical caudal é localizado e com um aplicador os anéis cervicais podem ser ultrapassados para que o sêmen seja depositado diretamente no corpo do útero. Já nas ovelhas, a transposição cervical é particularmente difícil, devido à sinuosidade dos anéis cervicais e à diversidade de formas anatômicas que os mesmos podem apresentar (Halbert et al., 1990; Kershaw et al., 2005; Anel et al., 2006). Em ovelhas da raça Santa Inês, por exemplo, foi relatada a ocorrência de 100% de formações de fundo de saco nos dois primeiros anéis cervicais, o que acaba por funcionar como uma barreira adicional à transposição da mesma (Cruz Jr., 2006).

A tração do primeiro anel cervical, com o auxílio de uma pinça cirúrgica, até exteriorização de seu ósteo, é uma prática amplamente adotada. Porém, o sucesso de transposição ainda é inconsistente e, quando a IA é realizada com sêmen fresco, os resultados de fertilidade com deposição de sêmen intra-uterina não diferem daqueles obtidos com a deposição do sêmen pelo método tradicional no ósteo cervical caudal (Silva et al, 2005), não sendo, portanto, justificável o seu uso com sêmen fresco. Adicionalmente, a tração, quando não realizada de forma correta, pode gerar pequenas lesões e até sangramentos da mucosa cervical, levando à reação inflamatória local, aumentando a possibilidade de queda de fertilidade.

Por outro lado, espermatozóides criopreservados têm menor habilidade de penetrar no muco cervical e por isso, quando do seu uso, as taxas de prenhes após IA com deposição vaginal profunda ou cervical superficial não são boas, estando em torno de 25% (Mortimer e Maxwell, 2004). Portanto, a deposição dos espermatozóides no

lúmen uterino passa a ser uma necessidade para obtenção de índices aceitáveis de fertilidade.

Visando minimizar esta restrição, técnicas de inseminação por laparoscopia, com deposição intrauterina do sêmen, têm sido amplamente estudadas e aprimoradas (Anel et al., 2006). Esta requer equipamentos caros e mão-de-obra especializada. Consequentemente, sua implementação em um rebanho dependerá do sistema de produção adotado e da relação custo-benefício proporcionada. As taxas de fertilidade com sêmen congelado com deposição intra-uterina pela via laparoscópica estão em torno de 40% a 70% (Maxwell et al., 1999; Anel et al., 2006).

Na tentativa de relaxar a cérvix e facilitar a transposição da mesma, tratamentos hormonais foram testados. A relaxina, a ocitocina e as prostaglandinas foram utilizadas com o fim já citado, mas também visando aumentar a contratilidade uterina, o que facilitaria o transporte espermático pelo trato reprodutivo (Salamon e Maxwell, 2000). Porém, os resultados obtidos ainda deixam a desejar.

Criopreservação espermática

Além de facilitar o uso da inseminação artificial, o congelamento de sêmen permite ainda o armazenamento e intercâmbio deste material entre propriedades, bem como permite utilizar os reprodutores em um número muito maior de fêmeas do que aquele que seria obtido em regime de monta natural. A inseminação artificial com sêmen congelado pode também evitar a disseminação de doenças infecciosas, uma vez que, quando utilizados de forma adequada, os antibióticos adicionados aos meios diluidores proporcionam controle microbiológico eficiente (Xavier et al, 2009).

O congelamento de sêmen permite ainda o armazenamento de material para programas de inseminação fora da estação reprodutiva fisiológica, uma vez que diversas raças de ovinos e caprinos são estacionais e o volume e a qualidade do sêmen tendem a diminuir fora da estação (Thimonier, 1981). A composição do plasma seminal de ovinos e caprinos também sofre influência das estações do ano, levando à diminuição da congelabilidade espermática fora da estação reprodutiva (Aisen, 2008).

Apesar dessas vantagens, ainda existem limitações quanto ao uso do sêmen criopreservado, pois além das dificuldades de transposição cervical o poder fecundante dos espermatozóides congelados é menor se comparado ao obtido com sêmen fresco (Salamon e Maxwell, 1995; Salamon e Maxwell, 2000; Anel et al., 2006). Isto porque

durante o processo de congelamento ocorrem lesões à estrutura espermática, principalmente desestabilização das membranas celulares. Tais danos são muitas vezes irreversíveis, diminuindo a viabilidade dos gametas (Holt, 2000). Em função disto, a expansão da inseminação artificial utilizando sêmen congelado fica comprometida para as duas espécies, particularmente quando a via de deposição é no óstio cervical caudal.

Sexagem espermática

A pré-seleção do sexo dos animais é uma estratégia atrativa para diversos produtores. Já na década de 80, pesquisadores relataram a utilização da técnica com sêmen de suínos, bovinos e ovinos (Johnson e Clarke, 1988). A sexagem é realizada por citometria de fluxo, uma técnica que permite separar os espermatozóides X e Y pelo seu conteúdo de DNA. Um fluorocromo com afinidade por DNA é utilizado e a fluorescência emitida, que é proporcional ao conteúdo de DNA, é captada por um sistema computadorizado que separa as células com 80 a 90% de eficácia (Johnson, 1995). No entanto, por si só o processo de sexagem reduz a longevidade e a viabilidade espermática (Hollinshead, et al. 2003). Dessa forma, o momento da inseminação tem papel ainda mais crucial para a obtenção de resultados de prenhes aceitáveis. Para ovinos, a combinação da IA com protocolos de sincronização de estro reduz este problema, aumentando as taxas de prenhez. Em estudos recentes, utilizando-se sêmen criopreservado, os resultados de fertilidade estiveram em torno de 45 a 50% (Beilby et al, 2009). A dose mínima recomendada é de 1×10^6 de espermatozóides móveis, e a inseminação deve ser por laparoscopia. O uso de sêmen sexado permite obter até mais de 93% de animais com o sexo pré-determinado (Beilby et al, 2009). O uso da técnica de sexagem em caprinos foi descrita apenas em 2004 (Parila et al., 2004) e até hoje existem poucos relatos de seu uso, constituindo-se, portanto, uma área interessante de pesquisa nesta espécie.

Sincronização e indução de estro e ovulação

As ovelhas e cabras são poliéstricas podendo ser estacionais ou não dependendo da raça e da latitude em que se encontram, sendo consideradas, quando sazonais, espécies de fotoperíodo negativo (dias curtos), com maior concentração de estros no outono e inverno. Para atenuar essa característica, programas sincronização e indução de estros acabam sendo adotados por inúmeros produtores. Estes programas permitem a

concentração das inseminações (ou cobrições), dos partos e das lactações na época desejada ou até durante o ano inteiro. O produtor pode assim planejar a oferta de leite e de crias ao mercado, bem como usufruir da maior facilidade de manejo geral do rebanho. Protocolos hormonais, manipulação do fotoperíodo e efeito macho são ferramentas que podem ser utilizadas isoladamente ou em combinações, permitindo a melhoria dos resultados obtidos.

O ciclo estral pode ser manipulado por diversos fármacos, hormônios naturais ou sintéticos. Comumente são utilizados pressários intra-vaginais impregnados com progestágenos, como o norgestomet e o acetato de medroxiprogesterona, que permanecem por 6 a 14 dias em contato com a mucosa, elevando a concentração plasmática de progesterona. Após a retirada do dispositivo, os animais manifestam estro e ovulam em até quatro dias. Com o objetivo de melhorar a sincronização do estro e obter melhores índices melhores após a inseminação, alguns protocolos associam a utilização de gonadotrofinas, ex. 300 UI de eCG (gonadotrof na coriônica eqüina) 24 a 48h antes da retirada do dispositivo vaginal, podendo também ser utilizado o hCG (gonadotrofina coriônica humana) (Fonseca, 2005; Fonseca et al., 2004). Agentes luteolíticos também podem ser utilizados durante a estação reprodutiva, desde que o animal apresente corpo lúteo funcional (do 5° a 11° dia do ciclo estral em ovinos e do 5° ao 15° em caprinos ; estro = dia 0). Nestas condições, quando administrada a prostaglandina-F_{2-α}, 60 a 70% das fêmeas apresentam estro dentro de 3 a 4 dias (Rubianes, 2000).

Fatores ambientais, como o fotoperíodo, nutrição e presença do macho também influenciam a manifestação de estro e a ocorrência de ovulação dos pequenos ruminantes. Quando esses fatores são manipulados artificialmente, o processo é chamado de bioestimulação. O efeito macho é uma das formas de bioestimulação, na qual um macho é introduzido em um rebanho de fêmeas previamente isoladas por no mínimo 60 dias (Granados e Dias, 2000). A manifestação de estro inicia-se quatro dias após o contato com o macho. No entanto, os cios manifestados nos primeiros sete dias após introdução do macho tendem a ser menos férteis, sendo recomendada a inseminação após o oitavo dia ou no cio subsequente (Andrioli et al., 2006).

A manipulação do fotoperíodo é outra técnica de reprodução assistida que pode ser utilizada para induzir o estro e a ovulação fora da estação reprodutiva. As fêmeas são submetidas a 16h de luz seguidas de 8h de obscuridade por um período mínimo de

60 dias. Terminado o tratamento com luz, os animais ficam expostos à luz natural, sendo que a manifestação dos estros tem início 60 dias após a reintrodução da iluminação natural. Para sincronizar o aparecimento dos estros, a administração de PGF2 α pode ser realizada ao final dos 60 dias após a reintrodução da luminosidade natural (Simplicio et al., 2007).

Transferência de embriões

A transferência de embriões (TE) é um método de reprodução artificial que tem como principal objetivo a maximização reprodutiva da fêmea através da disseminação de animais geneticamente superiores e a redução do intervalo entre gerações. Ela também possibilita uma garantia sanitária, ou seja, o seu uso é um método eficaz para evitar a introdução ou transmissão de agentes infecciosos, bacterianos e virais entre animais e propriedades. Esta possibilidade depende da presença e da integridade da zona pelúcida, a qual isola o embrião dos agentes infecciosos presentes no ambiente uterino (Shisong & Wrathall, 1989).

Doadoras

A escolha das doadoras deve levar em conta o seu valor genético bem como os seus antecedentes produtivos. Devem ser selecionados animais que têm demonstrado uma produção de carne, leite ou lã, significativamente superior a média da população da qual provêm. No entanto, na maioria das vezes, o técnico que executa a transferência de embriões não tem nenhuma influência na escolha das matrizes, prevalecendo a vontade do criador. Independente do critério de seleção, boas condições gerais e um bom estado reprodutivo, sanitário e nutricional são imprescindíveis às doadoras (Baldassare, 2008).

Superovulação

As doadoras devem passar por um tratamento hormonal específico com o objetivo de induzir a ovulação múltipla, geralmente pela aplicação de FSH exógeno em doses decrescentes. Segundo Armstrong e Evans (1983), a resposta ao protocolo de superovulação está sujeita tanto a fatores intrínsecos (raça, idade, variação individual, estágio da lactação) quanto extrínsecos (nutrição, saúde, época do ano e protocolo utilizado), o que acarreta uma grande variabilidade de resposta entre os animais.

Além disso, a população folicular presente no ovário no momento do início do tratamento com FSH tem grande influência na resposta ao protocolo. Com a utilização dos protocolos convencionais (tabela 1), a população folicular existente no início do tratamento com gonadotrofina é desconhecida. Por esta razão, o resultado para um mesmo tratamento pode variar entre 0 e 30 embriões transferíveis (Baldassare, 2008). Com o intuito de melhorar a resposta ao tratamento superovulatório em pequenos ruminantes, protocolos que possibilitem conhecer a fase do ciclo estral em que se encontra a fêmea, têm sido desenvolvidos. Estes protocolos permitem iniciar o tratamento superovulatório no “Dia 0” e fundamentam-se na aplicação da primeira dose de FSH paralelamente a ocorrência de ovulação e emergência da primeira onda folicular. Com a utilização deste tipo de protocolo pode-se reduzir a duração da permanência do dispositivo intravaginal de progesterona, minimizando os riscos de perdas e reduzindo também a incidência de vaginites (Rubianes e Menchaca, 2006; Fonseca, 2007).

Tabela 1. Protocolo convencional de superovulação em caprinos e ovinos

Ovelha	Cabra
Dia 0 – Colocação implante ou esponja de progesterona	Dia 0 – Colocação implante ou esponja de progesterona
Dia 12 – manhã – 1º injeção de FSH	Dia 8 – manhã – 1º injeção de FSH
Dia 12 – tarde – 2º injeção de FSH	Dia 8 – tarde – 2º injeção de FSH
Dia 13 – manhã – 3º injeção de FSH	Dia 9 – manhã – 3º injeção de FSH
Dia 13 – tarde – 4º injeção de FSH	Dia 9 – tarde – 4º injeção de FSH
Dia 14 – manhã – 5º injeção de FSH + retirada da esponja	Dia 10 – manhã – 5º injeção de FSH + retirada da esponja
Dia 14 – tarde – 6º injeção de FSH + 0,5ml de PGF2 α	Dia 10 – tarde – 6º injeção de FSH + 0,5ml de PGF2 α
Dia 15 – Observação de estro e monta natural ou IA	Dia 11 – Observação de estro e monta natural ou IA
Dia 16 – Observação de estro e monta natural ou IA	Dia 12 – Observação de estro e monta natural ou IA
Dia 21 ou 22 - coleta dos embriões	Dia 17 ou 18 - coleta dos embriões

Fertilização das doadoras

A fertilização das doadoras pode ser realizada através da monta natural ou inseminação artificial com sêmen fresco ou congelado (transcervical). A inseminação deve ser realizada 12 horas após a detecção do estro e repetida 8 horas após. Quando da utilização da monta natural, os carneiros devem ser mantidos com as doadoras por 72 horas após a retirada do dispositivo de progesterona (Baldassare, 2008). No entanto,

após a superovulação recomenda-se o emprego da deposição seminal por laparoscopia, realizando-se uma ou duas inseminações com intervalo de 12 horas. Esta técnica tem a vantagem de possibilitar a deposição do sêmen nos cornos uterinos próximo ao local da fertilização. O uso desta técnica permite aumentar as taxas de fertilização e possibilita o uso de sêmen congelado com maior eficiência. Quando da utilização de inseminação única com sêmen fresco, esta deve ser realizada 36 horas após a retirada do dispositivo de progesterona tanto para ovinos quanto para caprinos (Gusmão, 2006)

Coleta de embriões

A coleta dos embriões deve ser realizada entre o sexto e o sétimo dia do ciclo estral. Nesta fase os embriões coletados estão no estágio de mórula a blastocisto. O método de colheita mais utilizado em pequenos ruminantes ainda é a laparotomia (Loi *et al.*, 1998). Contudo, existe a necessidade de se desenvolver técnicas menos invasivas para colheita e transferência de embriões, uma vez que repetidas colheitas cirúrgicas, no mesmo animal, contribuem para a redução da taxa de fecundação e recuperação de embriões em decorrência do desenvolvimento de aderências do sistema genital. Em menor escala, a coleta também tem sido feita pela técnica de laparoscopia, que por ser uma técnica menos traumática, diminui o número de aderências e permite uma maior utilização da mesma doadora. No entanto, o custo do equipamento ainda é elevado e sua utilização requer treinamento. Além disso, a taxa de recuperação é muito variável uma vez que com esta técnica úteros muito sinuosos apresentam taxa de recuperação muito baixa. Assim sendo, na grande maioria das vezes, quando se dispõe de um laparoscópio, recomenda-se a utilização da técnica mista, ou hemi-laparoscópica. Com o laparoscópio é possível visualizar o sistema genital feminino, o que permite uma incisão bem menor para retirada do útero, além de permitir a avaliação da resposta superovulatória previamente, evitando assim a realização de uma laparotomia em uma doadora que não respondeu de forma satisfatória. Todas as técnicas com o uso de laparoscópio devem ser feitas sob anestesia geral e após jejum alimentar e hídrico de 24 horas. A coleta pela via transcervical tem sido utilizada mais na espécie caprina, uma vez que os resultados na espécie ovina ainda são inconsistentes.

Inovulação

A transferência dos embriões pode ser realizada pelas técnicas de laparotomia, laparoscopia, hemi-laparoscopia ou transcervical, sendo que a laparoscopia tem sido amplamente utilizada, permitindo a transferência dos embriões próximo à junção útero-tubárica e minimizando a possível ocorrência de aderências. A técnica de inovulação transcervical tem sido utilizada apenas na espécie caprina.

Receptoras

As receptoras de embriões são tão importantes no sucesso do programa de transferência quanto as doadoras, por esta razão, o mesmo cuidado deve ser dado a seleção das receptoras. Tendo este critério estabelecido, é importante que as receptoras tenham boa saúde reprodutiva, boa condição corporal e habilidade materna conhecida. A sincronização da ovulação entre doadoras e receptoras também é de fundamental importância para obtenção de bons índices de prenhes após a transferência. Receptoras apresentando estro natural também podem ser utilizadas desde que este esteja em sincronia com o estro da doadora (Simplício et al., 2007, Fonseca, 2007)

Criopreservação embriões

A criopreservação de embriões permite a utilização maximizada da transferência bem como a comercialização dos embriões entre diferentes países. A criopreservação pode ser realizada pelo método lento (convencional) ou pela técnica de vitrificação (ultra-rápida). Para ambas as técnicas o resultado obtido depende do meio utilizado, da qualidade do embrião e também da habilidade do técnico, sendo que este último ponto é especialmente importante quando se utiliza a vitrificação. Para os pequenos ruminantes o método lento, em máquinas de congelamento, tem sido mais utilizado adotando-se como crioprotetor o etilenoglicol ou o glicerol, resultando em taxas de gestação que variam entre 30 e 70% (Dattena, 2000, Simplício et al., 2007). A vitrificação por se tratar de uma técnica de custo mais acessível e de realização mais rápida, se constitui em uma alternativa de grande interesse tanto para a pesquisa como para sua aplicação a campo. Por hora, o número de avaliações da eficácia da inovulação após a vitrificação ainda são limitados em pequenos ruminantes. Usando essa técnica Bari et al. (2001) obtiveram 53% de gestação para a espécie ovina.

Produção *in vitro* de embriões

Dentre as biotécnicas da reprodução mais recentemente desenvolvidas, a produção *in vitro* (PIV) de embriões em ovinos e caprinos apresenta-se como uma alternativa capaz de gerar maior quantidade de filhos oriundos de fêmeas geneticamente superiores quando comparado a superovulação e a transferência de embriões convencional. A produção *in vitro* de embriões através da punção ovariana por laparoscopia em pequenos ruminantes evita obstáculos encontrados na transferência de embriões convencional tais como: variações na resposta superovulatória, baixa taxa de fecundação, regressão prematura do corpo lúteo, variações na taxa de recuperação dos embriões e problemas de aderência (Cox e Alfaro, 2007).

São quatro as etapas da produção *in vitro* de embriões: obtenção, maturação e fecundação dos oócitos e cultivo dos zigotos até o estágio de mórula ou blastocisto. O detalhamento de cada etapa será abordado a seguir.

Origem e obtenção dos oócitos

Os oócitos utilizados para PIV de embriões ovinos e caprinos podem ser obtidos de fêmeas adultas ou de fêmeas pré-púberes (submetidas ou não a indução hormonal de crescimento folicular). Em condições experimentais, os ovários podem ser obtidos após o abate das fêmeas, sem estimulação hormonal prévia. Nesse caso, os ovários devem ser transportados, do abatedouro até o laboratório, em solução salina tamponada fosfatada (PBS) ou em solução cloreto de sódio (NaCl) a 0,9% entre 35 e 37°C, na presença de antimicrobianos.

A obtenção dos oócitos utilizando-se a laparoscopia, comumente chamada de LOPU (laparoscopic ovum pick-up) tem sido amplamente utilizada na espécie ovina e caprina. O procedimento de aspiração é simples e rápido, porém necessita de técnico treinado para sua realização. O número de oócitos obtidos tem grande variação entre os animais, mas encontra-se entre 3 a 14/animal (Baldassare et al., 1994; Bernardi, 2005). A laparoscopia possui a vantagem de não ser traumática como a laparotomia, e não deixa seqüelas ou efeitos negativos na fertilidade futura das fêmeas doadoras, mesmo após 8 a 20 aspirações repetidas (Stangl et al., 1999).

O tratamento hormonal, visando estimular o crescimento folicular e obtenção de um maior número de oócitos por ovário, é indicado principalmente para fêmeas pré-púberes, fêmeas em anestro estacional ou para fêmeas geneticamente superiores e segue

o mesmo protocolo dos tratamentos superovulatórios descritos para transferência convencional de embriões. Em geral, em fêmeas previamente estimuladas com hormônios, o número de oócitos obtidos é maior do que aquele obtido de fêmeas não estimuladas, independentemente do método utilizado (Baldassare et al., 1994).

Maduração dos oócitos

O meio mais empregado para a maturação dos oócitos é o TCM 199, acrescido de 10% de Soro Fetal Bovino (SFB). A maturação é geralmente efetuada na presença dos hormônios FSH (0,1 a 10 mg/mL), LH (0,02 a 10 mg/mL) e 17 β -estradiol (1 mg/mL), durante 22 a 24 horas, a 38,5-39°C, em atmosfera de 5% de CO₂ em ar. A presença de estradiol no meio de maturação possui efeito positivo nas taxas de clivagem e de formação de blastocistos, mas pode ser substituído por líquido folicular. A presença de gonadotrofinas parece ser indispensável para a maturação de oócitos oriundos de fêmeas imaturas (Bernardi, 2005),

Fecundação dos oócitos

A fertilização *in vitro* (FIV) pode ser realizada com sêmen fresco ou congelado. Porém, devido à praticidade e ao sucesso da utilização de sêmen congelado, o mesmo foi incluído na maioria dos protocolos de fertilização em pequenos ruminantes. Segundo Maxwell et al., (1996), o número de oócitos fecundados é semelhante quando é usado o sêmen fresco ou congelado. Contudo, os zigotos fecundados com sêmen congelado são mais avançados no desenvolvimento do que os fecundados com sêmen fresco.

A seleção dos espermatozóides é preferencialmente feita em gradiente de Percoll (45%/90%), no qual os gametas são centrifugados durante 20 minutos a 500-700g. A capacitação dos espermatozóides é geralmente realizada em meio SOF (Synthetic Oviduct Fluid) acrescido de 10% de soro de ovelha em estro. Na espécie ovina, não é habitual o uso de heparina no processo de capacitação. A fertilização se processa a 38,5-39°C, em atmosfera contendo 5% de CO₂, com tempo de co-incubação de aproximadamente 20 horas. A dose inseminante mais comumente utilizada é de 1x10⁶ espermatozóides/mL. A adição de cafeína ao meio de FIV em ovinos pode melhorar as taxas de fertilização uma vez que há redução da polispermia e maior capacidade de desenvolvimento até o estágio de blastocisto (Campbell et al., 2009).

Cultivo dos embriões

Embora alguns progressos já tenham sido obtidos, o cultivo *in vitro* ainda é uma das etapas limitantes na produção *in vitro* de embriões em pequenos ruminantes. Dentre os meios comumente utilizados encontra-se o SOF ou SOFaaci (acrescido de aminoácidos) suplementados com soro fetal bovino ou soro humano e o TCM-199 com piruvato de sódio e soro fetal bovino. Usualmente, cerca de 50% do meio de cultivo é repostado a cada dois dias e a adição de soro fetal bovino ao meio contendo os embriões é realizada após 24 horas do início do cultivo. O cultivo deve ser realizado em atmosfera de 5% de CO₂ ou em mistura de gases: 5% de CO₂, 5% de O₂ e 90% de N₂, a 38,5-39°C por 6 ou 7 dias.

Clonagem e Transgenia

Em animais de produção, a clonagem foi feita pela primeira vez em ovinos usando-se a técnica de transferência de núcleos embrionários para oócitos enucleados, porém essa técnica é limitada devido ao pequeno número de núcleos disponíveis (Willadsen, 1986). A clonagem do primeiro mamífero a partir de uma célula somática retirada de um animal adulto foi uma grande conquista da pesquisa e esta tecnologia teve uma rápida expansão sendo utilizada para diversas espécies. Apesar disto a taxa de sucesso na clonagem de animais, é na maioria das vezes não superior a 1% (Carneiro, 2007).

O uso da clonagem em caprinos e ovinos com fins reprodutivos está praticamente limitado a clonagem de animais transgênicos de alto valor, devido ao alto custo e a ineficiência da tecnologia. Essa técnica, provavelmente, não deverá ser muito difundida para programas de melhoramento genético dos rebanhos de pequenos ruminantes, devido ao baixo valor dos animais, principalmente se compararmos com espécies como bovinos e equinos (Baldassare, 2007).

A transgenia é a modificação da informação genética de um organismo através de técnicas de recombinação de DNA. Um animal transgênico é aquele que adquiriu uma nova informação genética como resultado de manipulação do seu DNA (Carneiro, 2007).

A microinjeção de DNA no pró-núcleo e a transferência nuclear de células somáticas são os dois métodos mais utilizados para a produção de caprinos e ovinos

transgênicos. A microinjeção pronuclear é um método muito confiável, porém de baixa eficiência, já que menos de 10% das crias nascidas são transgênicas (Baldassare et al., 2004). O DNA exógeno introduzido no pró-núcleo é altamente mitogênico. Isto induz à morte de uma grande proporção de embriões (30% ou mais) e também rearranjos desconhecidos do genoma. Para ser transgênico, um animal deve apresentar o DNA exógeno em todas as suas células, incluindo os gametas, para permitir a transmissão à progênie. (Houdebine, 2005).

A transferência nuclear de células somáticas usa células transfectadas *in vitro* com vetores para expressão de DNA. Assim o DNA é incorporado ao genoma do animal. A maioria das crias nascidas utilizando essa técnica é transgênica (Houdebine, 2005).

Os caprinos e ovinos apresentam características favoráveis que os qualificam como excelentes modelos para a transgênese, destacando-se um intervalo entre gerações curto, prolificidade elevada e um baixo custo para manutenção. Nenhum efeito adverso do transgênese foi observado sobre a sanidade e a reprodução dos animais. (Simplicio et al., 2007). O uso da tecnologia da transgenia em pequenos ruminantes atualmente está voltada somente para a produção de proteínas recombinantes de interesse farmacológico e na biomedicina (Baldassare et al., 2003). Podemos citar alguns exemplos de proteínas recombinantes produzidas no leite de caprinos e ovinos como: Antitrombina III, que é um anticoagulante; os Fatores VIII e IX, usados no tratamento da hemofilia; e a Alfa-1-antitripsina, usada no tratamento da fibrose cística e enfisema (Carneiro, 2007).

Considerações Finais

O uso das biotécnicas da reprodução em pequenos ruminantes vem aumentando com o passar dos anos, mas apenas algumas delas são de maior aplicabilidade aos rebanhos brasileiros. A restrição do uso de certas técnicas é devido ao alto custo e à baixa eficiência das mesmas, e ao valor relativamente baixo das doadoras. As técnicas de sincronização do estro e inseminação artificial são as que apresentam maior aplicabilidade aos rebanhos atuais, e a transferência de embriões e a produção *in vitro* de embriões tem tido seu uso restrito à multiplicação de alguns animais de alto valor genético e comercial.

A produção de animais transgênicos e clones tem sido usada até a presente data para a produção de proteínas de uso farmacológico. Estas técnicas não serão úteis para o melhoramento genético de rebanhos enquanto os seus custos forem muito altos e as suas

eficiências baixas. Além disto, enquanto não houver o esclarecimento da população quanto à segurança no consumo de produtos derivados deste tipo de animal e de sua prole as mesmas encontrarão restrições ao seu uso.

Referencias

1. ANDRIOLI, A.; SANTOS, D.O.; ELOY, A.M.X. Manejo reprodutivo de matrizes e reprodutores caprinos em sistema de produção de leite. Embrapa caprinos, 2006.
2. ANEL L.; ALAVAREZ, M.; MARTINEZ-PASTOR, F. et al. Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*, v.41,supl.2, p.30-42, 2006.
3. ARMSTRONG, D. T.; EVANS, G. M. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, v, 19, p. 31-42, 1983.
4. BALDASSARE, H.; CASTRO, T. E.; FURNUS, C. C.; et al. In vitro maturation and fertilization of sheep oocytes collected by laparoscopic folliculocentesis. *Theriogenology*, v.41, p.159, 1994.
5. BALDASSARE, H.; WANG, B.; KEEFER, C.L. et al. State of the art in the production of transgenic goats. *Reproduction, Fertility and Development*, v.16, p.465-470, 2004.
6. BALDASSARE, H. Reproducción asistida en la especie caprina: inseminación artificial a clonación. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.2, p.274-282, 2007.
7. BALDASSARE, H. Coleta, conservação e transferência de embrião. In: Aisen, E.G. *Reprodução ovina e caprina*. São Paulo: MedVet. Cap 11, p.143-152, 2008.
8. BARI, F.; KHALID, M.; WOLF, B. et al. The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenology*, v.56, p.147-155, 2001.
9. BEILBY, K.H.; GRUPEN, C.G.; THOMSON, P.C. et al. The effect of insemination time and sperm dose on pregnancy rate using sex-sorted ram sperm. *Theriogenology*, v.71, p.829–835, 2009.
10. BERGERON, A.; MANJUNATH P. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Molecular Reproduction and Development*, v.73, p.1338–1344, 2006.
11. BERNARDI, M.L. Produção “in vitro” de embriões ovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33 (1), p.1-16, 2005.

12. CAMPBELL, K. H. S.; MAALOUF, W. E.; LEE, J. H. Effects of caffeine, cumulus cell removal and aging on polyspermy and embryo development on in vitro matured and fertilized ovine oocytes. *Theriogenology*, v. 71, p. 1083-1092, 2009.
13. BICUDO, S.D.; SOUZA, D.B.; TAKADA, L. Possibilidades e limitações da inseminação com sêmen ovino refrigerado e biotécnicas associadas como estratégias de intensificação do manejo reprodutivo. In: *Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, 15, 2003. Porto Seguro – BA. Anais... Belo Horizonte - MG: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2003.
14. CARNEIRO, G.F. Biotecnologia da reprodução na espécie caprina: perspectivas atuais. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.2, p.268-273, 2007.
15. COX, J.F.; ALFARO, V. In vitro fertilization and development of OPU derived goat and sheep oocytes. *Reproduction of Domestic Animals*, v.42, p.83-87, 2007.
16. CRUZ JÚNIOR, C.A. *Caracterização anatômica e histológica da cérviz de ovelhas da raça Santa Inês*. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), 45p, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2006.
17. DATTENA, M.; PTAK, G.; LOI, P. et al. Survival and viability of vitrified “in vivo” and “in vitro” produced ovine blastocysts. *Theriogenology*, v.53, p.1511-1519, 2000.
18. FONSECA, JF. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em caprinos e ovinos. In: *Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, 16, 2005, Goiânia. *Anais ...* Belo Horizonte: CBRA, 2005. CD-ROM.
19. FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H.; VIANA, J.H.M., et al. Induction of synchronized estrus in Santa Inês sheep. In: *Jornada de Medicina Veterinária da UNIPAR*, 9, 2004, Umuarama, PR. *Anais ...* Umuarama, PR:UNIPAR, 2004. CD-ROM.
20. FREITAS, V. J. F.; LIMA VERDE, J. B.; RONDINA, D. Produção in vitro de embriões ovinos. *Ciência Animal*, v.13, p.79-78, 2003.
21. GRANADOS, L.B.C.; DIAS, A.J.B. *Aspectos Gerais da Reprodução de Caprinos e Ovinos*. 1ª ed., Campos dos Goytacazes, RJ, 2006.
22. GUSMÃO, A.L. Transferência de embriões em pequenos ruminantes. *O embrião*, v.25, p.6-9, 2006.
23. HOLLINSHEAD, F. K.; GILLIAN, L.; O'BRIEN, J. K. et al. In vitro and in vivo assessment of functional capacity of flow cytometrically sorted ram spermatozoa after freezing and thawing. *Reproduction, Fertility and Development*, v.15, p.351–359, 1995.

24. HOLT, W.V. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology*, v.53, p.47-58, 2000.
25. HOUDEBINE, L.M. Métodos de gerar animais transgênicos e controle da expressão gênica. In: COLLARES, T. *Animais transgênicos: Princípios e Métodos*. Botucatu, SBG, p. 82-114, 2005.
26. JOHNSON, L.A.; CLARKE, R.N. Flow sorting of X and Y chromosome-bearing mammalian sperm: activation and pronuclear development of sorted bull, boar, and ram sperm microinjected into hamster oocytes. *Gamete Research*, v.21, P.335-343, 1988.
27. JOHNSON, L.A. Sex preselection by flow cytometric separation of X and Y chromosome-bearing sperm based on DNA difference: a review. *Reproduction, Fertility and Development*, v.7, p.893-903, 1995.
28. KERSHAW, C.M.; KHALID, M.; MCGOWAN, M.R. et al. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, v.64, p.1225–1235, 2005.
29. LOI, P.; PTAK, G.; DATTENA, M.; et al. Embryo transfer and related Technologies in sheep reproduction. *Reproduction Nutrition and Development*, v. 38, p. 615-628, 1998.
30. MAXWELL, W.M.C.; CATT, S.L.; EVANS, G. Dose of fresh and frozen thawed spermatozoa for in vitro fertilization of sheep oocytes. *Theriogenology*, v. 45, p.262, 1996.
31. MORTIMER S.T.; MAXWELL, W.M.C. Effect of medium on kinematics of frozen-thawed ram spermatozoa. *Reproduction*, v.127, p. 285-291, 2004.
32. PARRILLA, I.; VAZQUEZ, J.M.; ROCA, J. et al. Flow cytometry identification of X- and Y-chromosome-bearing goat spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*, V.39, p.58–60, 2004.
33. RUBIANES, E. Control farmacológico del ciclo estral en caprinos y ovinos. In: *Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Pequenos Ruminantes*, São Paulo, Anais...p.255-282, 2000.
34. RUBIANES, E.; MENCHACA, A. Dinâmica folicular, sincronização do estro e superovulação em ovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.34, p.251-261, 2006.
35. SALAMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Animal Reproduction Science*, v.37, p.185-249, 1995.

36. SALAMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, v.62, p.77-111, 2000.
37. SHISONG, C.; WRATHALL, A.E. The importance of the zona pellucida for disease control in livestock by embryo transfer. *British Veterinary Journal*, v.145, p.129-140, 1989.
39. SILVA, J.C.B.; OLIVEIRA, R.; SCHNEIDER, C. et al. Inseminação artificial intra-uterina em ovinos por tração cervical. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33; Supl. 1, p.307, 2005.
40. SIMPLÍCIO, A.A.; FREITAS, V.J.F.; FONSECA, J.F. Biotécnicas da reprodução como técnicas de manejo reprodutivo em ovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, p. 34-246, 2007.
41. STANGL, M.; KUHHLER, B.; BESENFELDER, U.; et al. Repeated Endoscopic ovum pick-up in sheep. *Theriogenology*, v. 52, p.709-716.
42. THIMONIER, J. Control of seasonal reproduction in sheep and goats by light and hormones. *Journal of Reproduction and Fertility*, supl. 30, p.30-45, 1981.
43. WILLADSEN, S.M. Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature*, v.320, p.63-65, 1986.
44. XAVIER, M.N.; MOUSTACAS, V.S.; CARVALHO JÚNIOR, C. A.; et al. Avaliação de diferentes antibióticos na inibição do crescimento de *Brucella ovis* em sêmen ovino congelado. In: XVIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2009, Belo Horizonte, MG. *Anais ...* Belo Horizonte: CBRA, 2009. (CD-ROM). ISSN1984-871.

DIAGNÓSTICO DAS ALTERAÇÕES HEPÁTICAS EM PEQUENOS RUMINANTES

Pedro Brandini Néspoli e
Valentim Arabicano Gheller

INTRODUÇÃO

O fígado é um órgão de acesso restrito aos métodos de exploração clínica. O seu exame se apóia principalmente nos dados de anamnese, observação de sinais de insuficiência hepática, percussão acústica e realização de exames laboratoriais através da dosagem sérica de bilirrubinas, Gama glutamil transferase (GGT), Aspartato aminotransferase (AST) e Fosfatase alcalina.

Quando presentes, os sinais de insuficiência hepática como a icterícia, a fotossensibilização, os distúrbios hemorrágicos, as alterações encefálicas e/ou distúrbios digestivos, são úteis para o diagnóstico dessas condições assim como quando se verificam alterações na percussão hepática ou nos exames laboratoriais. Entretanto, mesmo em hepatopatias graves, tanto os sinais de insuficiência como as alterações nos testes laboratoriais podem não ser constatados enquanto um terço do parênquima ainda estiver intacto e não existir obstrução do fluxo biliar (Dirksen, 1993).

Atualmente, com a redução dos custos e a disponibilidade de aparelhos mais versáteis, a ultrassonografia tem se tornado uma ferramenta bastante útil para a investigação das alterações do fígado e tem sido empregada em pequenos ruminantes para esse fim. Os estudos ainda são relativamente limitados, mas indicam que a técnica pode ser promissora no diagnóstico de várias doenças como aquelas difusas determinadas por intoxicações ou distúrbios metabólicos ou para aquelas que afetam de forma localizada o parênquima hepático como a hidatidose e os abscessos hepáticos.

Contudo, independente das técnicas de exame utilizadas, o estabelecimento de diagnósticos específicos muitas vezes não é possível, a menos que se realizem exames histopatológicos de fragmentos obtidos através de biópsias. Ao longo dos anos muitas técnicas têm sido descritas para pequenos ruminantes. Porém, apesar da grande indicação diagnóstica e do baixo índice de complicações, o uso dessas técnicas na rotina veterinária ainda é pouco difundido e permanece restrito principalmente às atividades de pesquisa.

Considerando o exposto, o presente texto tem por objetivo trazer comentários sobre a técnica e aplicabilidade da ultrassonografia no diagnóstico de hepatopatias de pequenos ruminantes e apresentar opções para a realização de técnicas de biópsia hepática em ovinos.

ULTRASSONOGRAFIA

A ultrassonografia permite examinar de forma não invasiva a arquitetura do parênquima hepático, o sistema biliar e os suprimentos sangüíneos hepático e portal (Braun, 1990; Partington e Biller, 1995; Braun, 1996). Em função destas características ela pode ser utilizada na investigação de uma grande variedade de enfermidades hepáticas (Nyland e Park 1983), com utilidade particular naquelas hepatopatias que cursam com sinais clínicos inespecíficos e com resultados não conclusivos de patologia clínica (Braun, 1996).

Apesar da aplicabilidade do método e do grande número de doenças que afetam o fígado, com destaque para as causas infecciosas, parasitárias, metabólicas e tóxicas (Pearson, 2002), existem poucos artigos que abordem os aspectos ultrassonográficos das enfermidades hepáticas nos ovinos. Os trabalhos disponíveis incluem o uso da ultrassonografia no estudo de alguns distúrbios com a hidatidose (Guarnera et al., 2001; Lahmar et al., 2007), a fasciose (Gonzalo-Orden et al., 2003) e neoplasias hepáticas (Lofstedt et al., 1988).

TÉCNICA

Após tricotomia da metade caudal do gradil costal direito, contenção dos animais em decúbito lateral esquerdo e aplicação de gel para ultrassonografia, os espaços intercostais (EI) são escaneados, nos sentidos caudocranial e dorsoventral, desde o 12º até o 8º EI, com aparelho de ultrassonografia equipado com transdutor linear de 3,5 ou 5 MHz. Nessas varreduras, podem ser observados o aspecto ultrassonográfico do parênquima hepático, a localização da veia cava caudal (VC), veia porta (VP) e vesícula biliar (VB) de acordo com os EI e a espessura do fígado.

O fígado pode ser examinado do 12º ao 8º EI. Do 12º ao 10º EI há pouca interferência do pulmão direito sobre a formação da imagem hepática. A partir do 9º EI, entretanto, a parte dorsal do parênquima hepático e a veia cava caudal situam-se

sob o pulmão direito e só podem ser examinadas nos animais menores durante a expiração. No 8º EI, o acesso ultrassonográfico se restringe à margem ventral do órgão, com maior alcance também na fase expiratória da respiração.

O padrão ultrassonográfico do parênquima hepático consiste em ecos fracos distribuídos de forma homogênea pelo parênquima. Na varredura do fígado e rim direito no mesmo plano, o córtex renal apresenta menor ecogenicidade do que o parênquima hepático. As veias cava caudal e porta aparecem com lúmen anecóico e limites bem definidos.

A veia cava caudal apresenta formato predominantemente elíptico (Fig.2D) nas varreduras transversais e pode ser detectada entre o 12º ao 9º EI. A veia porta, com forma invariavelmente arredondada (Fig.2 e 3), pode ser examinada desde o 12º até o 9º EI e a vesícula biliar apresenta conteúdo anecóico, paredes hiperecóticas e localização que oscila entre o 10º e o 8º EI (Fig.1).

POSSIBILIDADES DE USO DA ULTRASSONOGRAFIA EM PEQUENOS RUMINANTES

A ultrassonografia hepática é relativamente bem estudada em bovinos, mas em menor escala do que nos animais de companhia. Muitos artigos foram dedicados à espécie bovina, desde trabalhos básicos sobre a técnica ultrassonográfica (Yamaga e Too, 1984; Braun, 1990; Braun, 1996) até estudos aplicados ao diagnóstico de enfermidades hepáticas (Reimer et al., 1988; Lechtenberg e Nagaraja, 1991; Acorda et al., 1994b; Braun et al., 1995a; Braun, 1996; Braun et al., 1999, Braun et al., 2002, Braun et al., 2005a; Braun et al., 2005b). Por outro lado, tanto na espécie ovina quanto na caprina, os estudos a este respeito são em menor número e mais superficiais e a descrições ultrassonográficas das lesões produzidas por enfermidades hepáticas (Lofstedt et al., 1988; Maxson et al., 1996; Maxson et al., 1998; Guarnera et al., 2001; Gonzalo-Orden et al., 2003; Lahmar et al., 2007) são limitadas em ambas as espécies.

O êxito verificado com o uso da ultrassonografia para diagnóstico de enfermidades hepáticas em bovinos nos permite especular que, em função das patologias em comum e das características anatômicas correspondentes entre bovinos e pequenos ruminantes, o papel da ultrassonografia possa ser bastante similar no diagnóstico de hepatopatias em ovinos e caprinos. Um exemplo típico é a lipidose hepática, que ocorre particularmente em ruminantes, sobretudo em fases fisiológicas

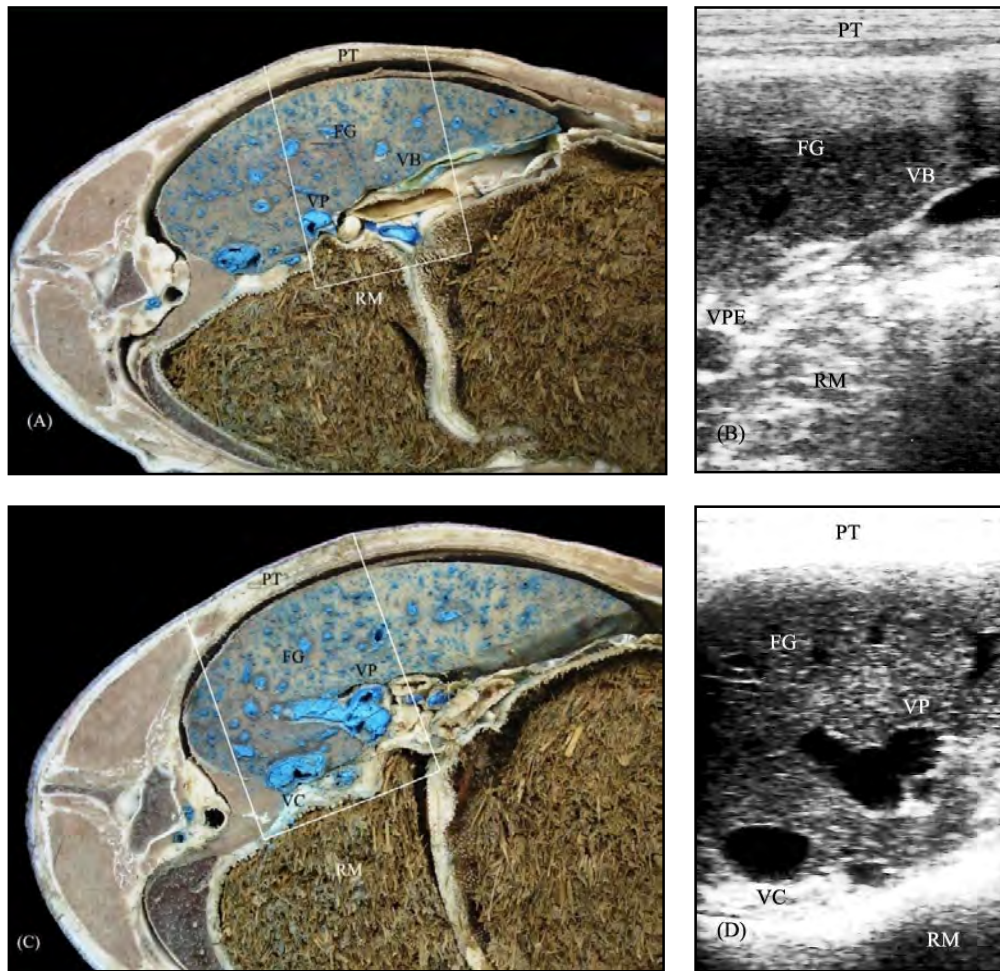


Fig. 1: Espécie ovina. Peça anatômica fixada com formol 10% e injetada com látex azul nas veias safena e mesentérica cranial. (A) Corte transversal ao longo do 10^o El. Área em destaque (retângulo branco) corresponde à imagem ultra-sonográfica ao lado. (B) ultra-sonografia linear do fígado no 10^o El (transdutor de 5 MHz). (C) Corte transversal ao longo do 11^o El. Área em destaque (retângulo branco) corresponde à imagem ultra-sonográfica ao lado. (D) Ultra-sonografia linear do fígado no 11^o El (transdutor de 5 MHz). PT: parede torácica, FG: fígado, VC: veia cava caudal, VP: veia porta, RM: rúmen.

de alta demanda energética (Kelly, 1985; Maclachlan e Cullen, 1998). Através de exames ultrassonográficos convencionais (Acorda et al., 1994b) ou por análise digital (Acorda et al., 1994a,c), tem sido possível diagnosticar casos moderados e graves de lipidose hepática em bovinos. Como a doença também ocorre nos pequenos ruminantes, sobretudo em ovelhas no período final de gestações com mais de um feto (Bruss, 1993), tais métodos podem ser prontamente aplicados no seu diagnóstico.

A ocorrência de outras enfermidades comuns a bovinos, ovinos e caprinos permite ainda suposições adicionais da mesma natureza. Os abscessos hepáticos, que apesar de mais freqüentes em bovinos também são descritos em ovinos (Scanlan e Edwards, 1990) e caprinos (Santa Rosa et al., 1989) com ocorrências da ordem de 3 e 2,5%, respectivamente. Assim como a cirrose hepática tóxica observada em ovinos (Helman et al., 1995; Tokarnia et al., 2000) e as neoplasias hepáticas primárias descritas em caprinos (Rousseaux, 1984; Higgins e Abraham, 1985; Rodrigues et al., 1996) e em ovinos (Watt, 1970; Johnstone, 1972).

Da mesma forma, existem poucas descrições ultrassonográficas das intoxicações hepáticas agudas em pequenos ruminantes, apesar da freqüência com que ocorrem nos rebanhos de ovinos, sobretudo pela ingestão de forragens tóxicas. Por exemplo, a tumefação de hepatócitos e a distrofia hepática difusa causada pela ingestão de braquiárias (Tokarnia et al., 2000) podem ser detectadas através de exames ultrassonográficos. Nesse caso provavelmente haverá diminuição difusa da ecogenicidade hepática, sinais de reforço da ecogenicidade dos vasos e aumento de volume do órgão.

A ultrassonografia é bastante promissora como método auxiliar no diagnóstico das doenças hepáticas dos pequenos ruminantes. Muitas doenças que antes só eram diagnosticadas em abatedouros, agora podem ser diagnosticadas através da ultrassonografia. Entretanto, apesar dos avanços observados a este respeito, verifica-se a necessidade de se conduzir estudos adicionais, com ênfase sobre os achados ultrassonográficos de várias enfermidades hepáticas que acometem estas espécies.

BIÓPSIAS HEPÁTICAS

Os recursos disponíveis na clínica veterinária como as provas bioquímicas, a radiologia e a ultrassonografia são utilizados nas investigações das suspeitas clínicas de enfermidades hepáticas dos animais domésticos (Radostits et al., 2002). Embora possam confirmar indícios de comprometimento do órgão e determinar a relativa severidade da doença, estes métodos raramente fornecem diagnósticos específicos (Bunch et al., 1980; Barr, 1995). Neste contexto, o exame histopatológico obtido através de biópsias é essencial para o estabelecimento de diagnósticos e prognósticos mais precisos (Bunch et al., 1980) e viabiliza a formulação de terapias específicas. Além disso, a colheita de amostras seriadas de tecido é uma alternativa importante para a investigação histológica de doenças tóxicas (Colodel et al., 2000) e para análise de

substâncias em estudos de nutrição animal (Hidroglou e Ivan, 1993). O emprego das biópsias seriadas nestes estudos diminui a necessidade de sacrifício dos animais e amplia a qualidade estatística dos delineamentos experimentais, uma vez que propicia o controle das variações individuais ao mesmo tempo em que reduz o número exigido de animais experimentais (Brown e Baird, 1988).

Desde a primeira descrição da biópsia hepática em ovinos (Dick, 1944), a técnica tem sido utilizada em estudos toxicológicos (Raposo et al., 1998), no diagnóstico de hepatopatias (Lofstedt et al., 1988; Kirkpatrick et al., 1999), mas principalmente nas investigações de nutrição animal (Donald et al., 1984). A princípio foram utilizados instrumentais de grosso calibre para recuperar amostras grandes o suficiente para a realização das análises minerais ou de vitaminas do parênquima hepático. Entretanto, com o advento de novas tecnologias de exame e da sensível diminuição das necessidades de tecido para o mesmo fim (Braselton et al., 1997), o emprego das técnicas de biópsia e de instrumentais mais seguros e com maior repetibilidade pôde ser repensado.

Na maior parte dos estudos de biópsias hepáticas realizados em ovinos, os procedimentos foram conduzidos a partir de variações da técnica percutânea cega. Foram testados diferentes locais de punção e uma variedade de instrumentais e agulhas. Os resultados obtidos geralmente foram satisfatórios, com boa recuperação das amostras e mínimas complicações pós-operatórias (Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996). Já as técnicas de biópsia hepática guiadas por ultrassonografia (Lofstedt et al., 1988), ou assistidas por laparoscopia (Phillippo, 1973; Hidiroglou e Ivan, 1993) foram pouco exploradas na espécie ovina, apesar da reconhecida precisão e segurança relacionadas com o seu uso.

BIÓPSIAS HEPÁTICAS CEGAS

Nos ovinos, os procedimentos têm sido realizados com os animais em estação (Pearson e Craig, 1980; Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996), com membros anteriores suspensos (Donald et al., 1984) ou em decúbito dorsal (Dick, 1944).

Desde a primeira adaptação de um instrumental de biópsia da Medicina Humana para ovinos (Dick, 1944), uma grande variedade de instrumentais tem sido preconizada. Os conjuntos trocar/cânulas de biópsia utilizados para dosar substâncias hepáticas em ovinos variaram de 4 a 6mm de diâmetro externo (Dick,

1944; Hogan et al., 1971; Donald et al., 1984) e 17 a 30cm de comprimento (Dick, 1944; Hogan et al., 1971; Donald et al., 1984). Em estudos mais recentes, o emprego de instrumentais da linha humana tem sido crescente, principalmente para fins de diagnóstico histológico, em que não há necessidade de amostras de grandes proporções. São descritos o uso de agulhas de Menghini (Pearson e Craig, 1980), de Silverman (Scherer et al., 2000), de Silverman modificada (Pearson e Craig, 1980) e de agulhas Tru-cut (Pearson e Craig, 1980; Harvey et al., 1984; Ferreira et al., 1996) (Quadro 1).

Na grande maioria dos estudos realizados em ovinos e bovinos, as biópsias hepáticas percutâneas foram conduzidas sem complicações clínicas relevantes, a despeito do calibre do instrumental utilizado ou da frequência de procedimentos adotada pelos autores (Quadro 1 e 2). De qualquer forma, mesmo nos estudos em que ocorreram mortalidades dos animais experimentais, o número de fatalidades foi bastante baixo. Descreveu-se a morte de 2 ovinos em um total de 120 animais, pela realização de biópsia hepática na região paracondríaca direita, com o animal contido com os membros anteriores suspensos. Neste trabalho foram utilizados um conjunto trocar/cânula de grosso calibre (6mm) para a espécie e uma frequência mensal, com uma a quatro repetições (Donald et al., 1984). Em outro trabalho foi relatada a ocorrência de hemoglobinúria bacilar em um ovino biopsiado várias vezes, cerca de 12 dias antes da sua morte (Duncan, 1984).

BIÓPSIAS HEPÁTICAS GUIADAS POR ULTRASSONOGRAFIA

O uso da ultrassonografia no monitoramento das biópsias percutâneas minimiza os riscos de punção de órgãos adjacentes e de laceração de grandes vasos sanguíneos (Barr, 1995), bem como permite a identificação precoce de hemorragias antes do aparecimento de sinais clínicos. A possibilidade de se visualizar os tecidos e o percurso da agulha no mesmo plano, permite que o operador realize biópsias de massas focais ou de órgãos com menor volume com grande precisão (Hager et al., 1985; Kerwin, 1995), bem como de animais obesos ou de animais em que não houve sucesso com as técnicas cegas convencionais (Hager et al., 1985).

Dentre os equipamentos utilizados para as biópsias guiadas por ultrassonografia estão inclusos os transdutores lineares, setoriais mecânicos ou curvilineares e alguns tipos de agulhas e dispositivos automáticos. No emprego destes transdutores verificou-se que os setoriais não produzem imagens superficiais tão boas

quanto os lineares e curvilineares. Por outro lado, apesar dos transdutores lineares apresentarem um largo campo de visão da porção inicial do trajeto da agulha, o ajuste da cabeça do transdutor à superfície do animal pode estar sujeito a dificuldades e limitações. Nos casos em que as janelas acústicas são limitadas, o uso dos transdutores setoriais e curvilineares, que detêm menor superfície de contato, são os mais indicados. De qualquer forma, seja qual for o transdutor utilizado, geralmente o fator decisivo para o sucesso do procedimento é a visualização da extremidade da agulha (Finn-Bodner e Hathcock, 1993). Quando isto não é possível ou a visualização é precária, as evidências indiretas da punção do tecido, caracterizadas pela movimentação concomitante do órgão, podem ser usadas (Hager et al., 1985).

Entre as agulhas disponíveis, as Tru-cut são as mais recomendadas em função do seu fácil manuseio, da qualidade das amostras obtidas, da grande disponibilidade e da possibilidade de reutilização (Kerwin, 1995). Além disso, alguns dispositivos automáticos da linha de produtos humanos têm sido testados em cães e gatos (Finn-Bodner e Hathcock, 1993; Kerwin, 1995). São descritos o uso de instrumentos “Biopty” e “Monopty”, que consistem em duas partes: um dispositivo mecânico de mola ativada e uma agulha especializada, com funcionamento similar ao das agulhas Tru-cut. No primeiro tipo apenas o canhão é reutilizável. No segundo tipo, ambas as partes são descartáveis (Kerwin, 1995). Nos dois dispositivos o avanço do estilete e da cânula externa da agulha ocorrem automaticamente. Um terceiro modelo consiste de um mecanismo semi-automático, em que o mandril é avançado manualmente no órgão alvo e à medida que se dispara o gatilho de um dispositivo de mola, a cânula externa é avançada automaticamente sobre o entalhe do estilete (Finn-Bodner e Hathcock, 1993).

Em contraste às técnicas convencionais, a biópsia percutânea guiada por ultrassonografia pode ser realizada em qualquer região da área de projeção ultrassonográfica do fígado. O local escolhido depende da localização da lesão, dos grandes vasos sanguíneos e da vesícula biliar. A partir da imagem ultrassonográfica a agulha de biópsia é direcionada através da cavidade abdominal e do parênquima hepático até o foco de colheita de interesse. Os métodos de aspiração do parênquima ou de coleções de líquidos também podem ser monitorados da mesma forma (Braun, 1996).

A agulha de biópsia pode ser introduzida através de um guia de biópsia estéril acoplado ao transdutor ou mediante introdução livre da agulha, sem qualquer acoplamento ao transdutor (técnica descrita como “freehand”) (Finn-Bodner e

Hathcock, 1993; Léveillé et al., 1993; Kerwin, 1995). O guia de biópsia produz uma trajetória correspondente sobre a imagem ultrassonográfica. Durante o procedimento, esta trajetória da agulha é direcionada sobre a lesão alvo. De acordo com a introdução da agulha, verifica-se a imagem ultrassonográfica da sua passagem no percurso do trajeto até a região de interesse. A maioria dos guias apresenta forma específica para cada transdutor e podem acomodar, geralmente, agulhas com calibre de 16 a 22G. Já as agulhas mais calibrosas dependem de adaptação dos guias ou de guias específicos (Finn-Bodner e Hathcock, 1993).

Entre os ovinos a técnica guiada por ultrassonografia foi descrita em um animal portador de adenocarcinoma hepático. Após infiltração anestésica, uma agulha Tru-cut (14G X 15cm) foi introduzida no 8º espaço intercostal no nível da porção baixa da fossa paralombar direita, e guiada por imagens produzidas por um transdutor setorial de 3,5MHz. O animal apresentava anorexia, depressão, perda de peso, aumento de bilirrubina e de gama glutamil transferase e havia múltiplos pontos ecogênicos, com leve sombra acústica distribuídos pelo parênquima hepático (Lofstedt et al., 1988).

BIÓPSIAS HEPÁTICAS POR LAPAROSCOPIA

A partir da introdução da endoscopia na prática veterinária no início da década de 1970, seu uso tem sido intensificado nas décadas subseqüentes à medida que se tornaram evidentes suas indicações diagnósticas e terapêuticas. Dentre os principais fatores que justificam tal expansão, estão inclusos o caráter pouco invasivo da técnica, aliado à grande capacidade de prover imagens em alta definição e a obtenção direcionada de amostra de tecidos de vários órgãos (Jones e Gross, 1990).

No caso específico da laparoscopia para realização de biópsias hepáticas, verifica-se um acesso amplo ao fígado, vesícula biliar e outros órgãos abdominais de animais de pequeno porte. Fato que permite ao operador realizar biópsias de forma acurada em lesões focais ou difusas do parênquima, bem como em fígados com pequeno volume (Kerwin, 1995). Além disso, o emprego deste método requer curto espaço de tempo, permite a colheita de material significativo (Silva et al., 2002) e propicia a detecção precoce das hemorragias, uma das principais complicações relacionadas com as biópsias hepáticas, e a realização imediata de hemostasia por meio de compressão do local e, ou, emprego de eletrocoagulação (Costa et al., 2005). Em contrapartida, as desvantagens do método são primariamente o custo do equipamento, bem como a necessidade de treinamento específico e o acesso

incompleto à exploração abdominal (Kerwin, 1995), com destaque para incapacidade de intervenção no lobo esquerdo hepático de bovinos pela via paralombar direita (Dirksen, 1993).

Em ovinos são descritas tanto a biópsia percutânea (Phillippo, 1973) como a biópsia com uso de pinça laparoscópica (Hidiroglou e Ivan, 1993). Em ambos os artigos os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e a cavidade abdominal foi insuflada com CO₂ via agulha de Veress antes da introdução dos instrumentais. No primeiro, os animais foram submetidos a anestesia geral e no segundo houve apenas sedação e realização de anestesia local. Phillippo (1973) realizou uma técnica de biópsia aspirativa, com o uso de um conjunto trocarte/cânula de 6mm de diâmetro de 17cm de comprimento. Os animais foram contidos em decúbito dorsal e o endoscópio foi introduzido na cavidade, através de uma cânula posicionada 5cm cranial ao umbigo e 5cm para a direita da linha mediana. Já o aparato de biópsia foi introduzido e manipulado na região ventral do abdome sobre a superfície hepática. Por outro lado, na técnica descrita por Hidiroglou e Ivan (1993), os animais foram mantidos em decúbito esternal em uma mesa fenestrada. O primeiro conjunto trocarte/cânula foi introduzido no ponto médio entre a tuberosidade ilíaca e a margem ventral do abdome, 3cm atrás da última costela, e o segundo 3cm abaixo do primeiro, para a passagem do endoscópio e da pinça de biópsia, respectivamente. As amostras foram colhidas através da manipulação da pinça nas margens hepáticas. As técnicas de biópsia por laparoscopia descritas em ruminantes estão sintetizadas no quadro 2.

Além das complicações inerentes aos procedimentos de biópsia (Udall et al., 1952; Hughes, 1962; Duncan, 1984; Léveillé et al., 1993; Bigge et al., 2001), minimizadas pelo controle visual dos procedimentos laparoscópicos e pela possibilidade de inspeção e correção precoce de hemorragias excessivas (Costa et al., 2005), estão inclusas as complicações relacionadas com a própria abordagem laparoscópica. Neste contexto, são descritos o embolismo por ar, distúrbios ácido-base induzidos por CO₂, redução do débito pulmonar por compressão diafragmática (Kerwin, 1993), pneumotórax, perfuração de vísceras durante a introdução dos conjuntos trocarte/cânula, enfisema subcutâneo (Costa et al., 2005) e introdução do endoscópio no saco omental (Phillippo, 1973; Hidiroglou e Ivan, 1993).

Quadro 1. Síntese de técnicas de biópsia hepática conduzidas às cegas em ovinos.

Referência	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Dick (1944)	Estilete de 4mm Ø ¹ e 18cm de comprimento. Cânula com 5mm Ø externo: uma extremidade com bordos cortantes e outra adaptada para acoplar seringa de 20ml.	Nono espaço intercostal (EI) ² , 2,5cm abaixo da linha que se estende da extremidade externa da 13ª costela até a cartilagem xifóide.	Anestesia local com produto a base de novocaína e adrenalina.	Biópsia aspirativa. Decúbito dorsal. Incisão de pele. Trocar/cânula introduzidos através de incisão da pele até ultrapassar o órgão.	—	2 a 4cm de comprimento e 0,25 a 0,5g de peso.	Não observadas.
Hogan et al. (1971)	Cânula com 6mm Ø externo e 30cm de comprimento, com extremidade acoplável à seringa.	Local de punção atrás da última costela, 7,5 a 10cm abaixo da coluna vertebral.	— ³	Biópsia aspirativa.	7 a 9 colheitas através da mesma incisão. Animais sacrificados a seguir.	0,02 a 0,12g de matéria seca.	Animais sacrificados logo após a realização das biópsias.
Pearson e Craig (1980) (revisão)	Não descreve o uso de agulha específica. Cita agulhas de Menghini, Tru-cut e agulha de Silverman modificada. Destaca comprimento de agulha utilizado: 15cm.	8º EI na direção da parte baixa da fossa paralombar.	Anestesia local com lidocaína 2%.	Animal em estação. Pequena incisão no local de punção. Agulha direcionada no sentido caudal e levemente medial.	—	—	—
Donald et al. (1984)	Cânula com 6mm de diâmetro externo e 17cm de comprimento, com extremidade acoplável à seringa.	Junção da região xifóide com a região paracondríaca direita	Sedado com xilazina 2% e anestesia local com xilocaína 2%.	Biópsia aspirativa. Animal contido com membros anteriores suspensos.	Realizadas de 1 a 4 vezes no mesmo animal. Intervalos de 1 a 2 meses.	Peso de 60 ± 30mg.	Duas mortes entre os 120 animais utilizados (cerca de 600 biópsias). Não houve diferenças no ganho de peso entre grupos com maior ou menor número de biópsias.

1. Ø: diâmetro; 2. EI: espaços intercostais; 3. — : não mencionado nos artigos

Continuação do quadro 1.

Referência	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Harvey et al. (1984)	Agulha Tru-cut (14 G X 11,5cm).	10cm ventral ao processo transverso no 10º EI.	Anestesia local com lidocaína 2%.	Animal em estação. Agulha inserida em incisão de 2cm de extensão na direção caudomedial, levemente no sentido ventral, na profundidade aproximada de 6cm. Ferida não suturada.	Experimento 1: intervalos semanais durante 5 semanas. Experimento 2: 2 inter-valos de 3 dias, seguidos por 2 intervalos de 7 dias.	7 a 15mm de comprimento e peso médio de 25mg.	Não observaram alterações clínicas, ou modificações relevantes nos parâmetros hematológicos e de bioquímica sérica.
Ferreira et al. (1996)	Agulha Tru-cut com 1,5mm de diâmetro.	10º EI, a 9cm do proceso espinhoso.	Anestesia local com "Xylotox".	Animal em estação. Incisão de 6mm de extensão e introdução da agulha em posição verticalizada.	Três repetições por animal em única vez..	O peso das amostras frescas somadas atingiram cerca de 22 mg.	Não foram observadas mortalidades ou alterações no ganho de peso dos animais ou na ingestão de alimentos.
Scherer et al. (1999)	Agulha de Silverman com 115X20mm, composta de uma câmara externa, um canhão "Luer-lock" e uma câmara interna bifurcada e biselada.	Três linhas como referência: 1) coxal à extremidade proximal da escápula. 2) coxal à extremidade distal da escápula. 3) da 1ª à 2ª linhas sobre o 10º EI. Ponto de biópsia: na interseção entre o ponto médio da 3ª linha e o 10º EI.	Não utilizou anestesia local ou sedação.	Agulha introduzida no sentido cranial. Substituído o canhão "luer-lock", a câmara interna era introduzida no parênquima com movimentos rotatórios por cerca de 1cm de profundidade.	—	—	—
Scherer et al. (2000)	Agulha de Silverman com 115-20mm.	No 10º espaço intercostal, com uso de três linhas como referência.	Não utilizou anestesia local ou sedação.	Agulha introduzida no sentido cranial.	—	—	Animais foram sacrificados 24 horas após a realização das biópsias.

Quadro 2. Síntese de técnicas de biópsia hepática guiadas por laparoscopia em ruminantes.

Autor(es)/ Espécie	Instrumental	Local	Anestesia	Técnica	Frequências e intervalos	Amostras	Complicações
Phillippo (1973)/ ovina	Conjunto trocarte/cânula de 11mm. Teloscópio de 180°. Agulha de Veress. Trocarte/cânula de biópsia com 6mm Ø externo de acordo com Dick (1952).	1) 1º trocarte introduzido 5cm cranial ao umbigo e 5cm para a direita da linha mediana. 2) trocarte/ cânula (Dick, 1952) introduzidos no abdome ventral sobre o fígado.	Anestesia geral: indução com "thiopentone sodium" (20mg/kg) e mantido com mistura de fluotano/oxigênio.	Jejum de 12 horas. Decúbito dorsal, com a cabeça angulada para baixo (10 a 15°). Abdome insuflado com CO ₂ via agulha de Veress. O trocarte de 11mm foi introduzido na direção da pelve através da incisão cirúrgica. Pelo endoscópio de 180° monitorou-se uma biópsia aspirativa. Incisões suturadas com clips de Michel.	26 ovelhas, com 50 a 70 dias de gestação. Duas tentativas em alguns animais.	Peso médio de 242 ± 23mg, (23 a 560mg). Tempo médio de 8,5 minutos.	Não menciona complicações. Houve atraso no procedimento quando o endoscópio atingiu o saco omental (15 minutos)
Hidiroglou e Ivan (1993)/ ovina	Equipamento: fonte de luz, cabo de fibra óptica, endoscópio rígido, bomba, Trocarte/cânula de 7mm Ø, trocarte/cânula de 5,5mm Ø, pinça laparoscópica de biópsia.	1) Trocarte/cânula de 7mm Ø introduzido no ponto médio entre a tuberosidade ilíaca e a margem ventral do abdome, 3cm atrás da última costela. 2) segundo trocarte/cânula introduzido 3cm abaixo.	Sedação com acepromazina e anestesia local.	Jejum de 12 horas. Decúbito external em mesa. Endoscópio introduzido na cavidade pela cânula 1. Abdome insuflado com CO ₂ . Através do 2º cânula, na cavidade, a pinça de biópsia foi movida sobre a periferia da órgão para retirada de um fragmento do fígado. Feridas cirúrgicas não suturadas.	Foram utilizados 16 ovinos em 8 semanas consecutivas.	Aproximadamente 300mg. Tempo de procedimento máximo de 15 minutos.	Sem complicações clínicas. Houve dificuldade nos casos em que o omento cobria a extremidade do endoscópio.
Duarte et al. (2006)/ caprina	Endoscópio, microcâmera, trocarte, cabo de fibra ótica, agulha de Veress, agulha Tru-cut 14G.	Trocarte/cânula introduzido no flanco direito, 10cm ventral aos processos transversos vertebrais. Agulha Tru-cut introduzida no 11º espaço intercostal, 10cm abaixo da coluna vertebral.	Anestesia geral: solução com 50mg/ml de éter gliceril guaiaicol, 0,05mg/ml de xilazina e 1mg/ml de quetamina. Fluxo: 2ml/kg/h.	12 caprinos machos. Abdome insuflado com CO ₂ através da agulha de Veress. Endoscópio introduzido através da cânula para monitorar a biópsia com agulha Tru-cut. Desfeito o pneumoperitônio, as feridas cirúrgicas foram suturadas.	—	—	Sangramento discreto em 9 animais e moderado em 3. Diminuiu ou cessou em 3 minutos.

TÉCNICAS SUGERIDAS PARA BIÓPSIA HEPÁTICA DE PEQUENOS RUMINANTES

Biópsia hepática percutânea cega

A agulha de biópsia é introduzida em sentido crânio-ventral, na direção do ombro oposto, no 11^o espaço intercostal direito, no ponto de interseção com uma linha paralela à coluna vertebral, que parte da extremidade lateral da tuberosidade ilíaca (Fig. 2).

Agulha de Menghini Modificada

Após ultrapassar a parede torácica e a superfície do fígado, o êmbolo da seringa é tracionado até acionar o mecanismo de trava da seringa. Em seguida, a agulha de Menghini é introduzida no parênquima hepático, por dois a três centímetros. Nesta etapa realiza-se um movimento sutil de recuo e avanço da ponta da agulha em sentido oblíquo. Findo este procedimento, procede-se a retirada da amostra do interior da agulha.

Agulha Tru-cut semi-automática

A agulha Tru-cut semi-automática é introduzida através de pequena incisão de pele (0,3cm). Uma vez que a ponta da agulha estiver apoiada sobre a superfície hepática, toda a haste obturadora interna da agulha será avançada no parênquima. Em seguida, através do disparo de dispositivo, a cânula externa da agulha deslizará automaticamente sobre o entalhe da haste obturadora. Na sequência, a agulha é retirada para a manipulação do fragmento de tecido hepático.

Biópsia hepática percutânea guiada por ultrassonografia

Para a execução desta técnica pode ser utilizado o mesmo local descrito anteriormente, ou qualquer outro ponto na área de projeção ultrassonográfica do fígado, que varia desde o 12^o até o 9^o espaço intercostal. O transdutor a ser utilizado deve ter de 3,5 a 5 MHz, com orientação linear ou convexa, e pode ser posicionado no espaço imediatamente cranial à introdução da agulha, com feixe direcionado no sentido caudal, ou pode possuir guia para a passagem de agulhas de biópsias.

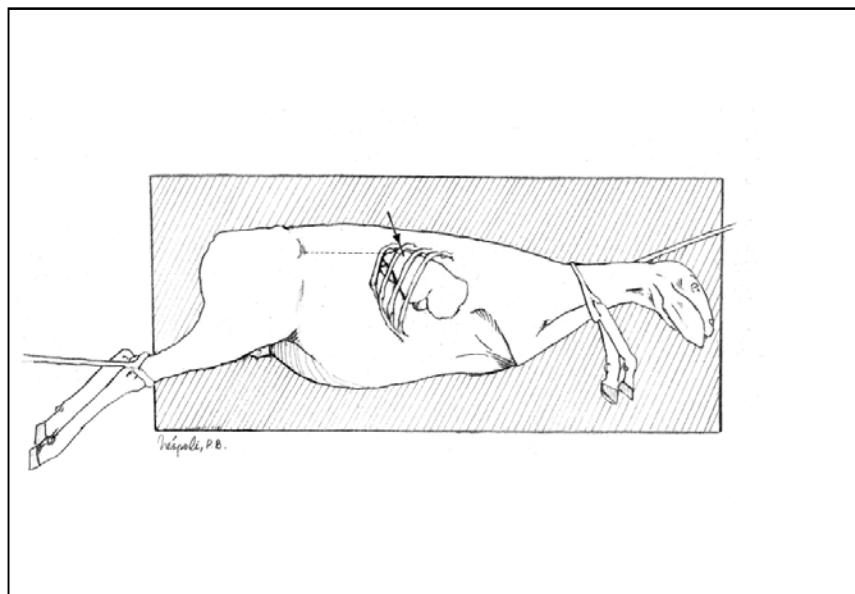


Fig.1. Ovino. Posicionamento do animal e definição do local para realização das biópsias hepáticas percutâneas. Posicionamento: decúbito lateral esquerdo. Local: ponto de interseção do 11º espaço intercostal com uma linha paralela à coluna vertebral, que parte da extremidade lateral da tuberosidade ilíaca. Agulha inserida nos sentidos medial e crânio-ventral (seta).

Biópsia hepática por videolaparoscopia com pinça de Blakesley

Após a desinfecção do material de videolaparoscopia e preparação do animal, é realizada a infiltração local com 5ml de lidocaína nos pontos de incisão P1 e P2 (Fig. 2). Em seguida, a agulha de Veress é introduzida na cavidade abdominal na porção dorsocranial do flanco direito, logo atrás da última costela. Através desta agulha, insufla-se a cavidade abdominal com CO₂ a um fluxo de 0,5 litro/minuto com manutenção de pressão intra-abdominal constante em torno de 10mm de Hg. São realizadas duas incisões de pele nos pontos de infiltração anestésica para estabelecer, através da introdução de trocarteres de 11 e 6mm, os portais para o esdoscópio (P1) e para a pinça de Blakesley (P2), respectivamente. Após a visualização da superfície hepática, a pinça de Blakesley é introduzida na cavidade para retirada de um fragmento hepático sobre a margem ventral do lobo direito. Na sequência, o gás e todos os instrumentos são retirados da cavidade e a pele suturada com fio cirúrgico mononailon 2.0 em pontos simples interrompidos.

Ressecção de fragmento hepático por videolaparoscopia

Nesta técnica procede-se a triangulação com três portais para permitir o uso simultâneo de dois instrumentos laparoscópicos (Fig. 2). Nos portais P1, P2 e P3 são introduzidos o endoscópio, tesoura cirúrgica e a pinça de dissecação, respectivamente. Após a apreensão da margem ventral do órgão com a pinça, realiza-se uma incisão semicircular da borda caudolateral do lobo direito com a tesoura (Fig. 3C) e o fragmento resultante é retirado através da cânula do portal 3.

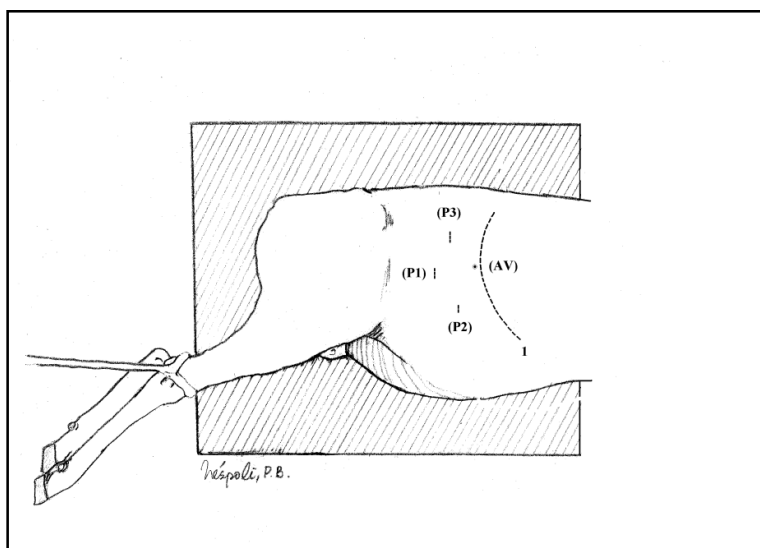


Fig.2. Ovino. Local de estabelecimento dos portais para videolaparoscopia e para introdução da agulha de Veress. (1) Margem caudal do gradil costal. (AV) Local para introdução da agulha de Veress. (P1) Local do primeiro portal para introdução do endoscópio. (P2 e P3) Segundo e terceiro portais para introdução de instrumentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- PEARSON, E.G. Diseases of the hepatobiliary system. In: Smith, B.P. Large Animal Internal Medicine. 3ª ed. Mosby, St. Louis, 2002, p. 790-824.
- GUARNERA, E.A., ZANZOTTERA, E.M., PEREYRA, H. et al. Ultrasonographic diagnosis of ovine cystic echinococcosis. Vet. Radiol. Ultrasound. v. 42, n. 4, p. 352-354, 2001.
- LAHMAR, S., BEN CHÉHIDA, F., PÉTAVY, A.F. et al. Ultrasonographic screening for cystic echinococcosis in sheep in Tunisia. Vet. Parasitol. v. 143, p. 42-49, 2007.
- ACORDA, J.A., YAMADA, H., GHAMSARI, S.M. Evaluation of fatty infiltration of the liver in dairy cattle through digital analysis of hepatic ultrasonograms. Veterinary Radiology and Ultrasound. v. 35, p. 120-123, 1994a.
- ACORDA, J.A., YAMADA, H., GHAMSARI, S.M. Ultrasonographic features of diffuse hepatocellular disorders in dairy cattle. Veterinary Radiology and Ultrasound. v. 35, p.196-200, 1994b.

- ACORDA, J.A., YAMADA, H., GHAMSARI, S.M. Ultrasonography of fatty infiltration of the liver in dairy cattle using liver-kidney contrast. *Veterinary Radiology and Ultrasound*. v. 35, p.400-404, 1994c.
- BARR, F. Percutaneous biopsy of abdominal organs under ultrasound guidance. *Journal of Small Animal Practice*, v. 36, p. 105-113, 1995.
- BIGGE, L. A.; BROWN, D. J.; PENNINCK, D. G. Correlation between coagulation profile findings and bleeding complications after ultrasound-guided biopsies: 434 cases (1993-1996) *Journal of the American Animal Hospital Association*, v. 37, p. 228-233, 2001.
- BRASELTON, W. E.; STUART, K. J.; MULLANEY, T. P. et al. Biopsy mineral analysis by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy with ultrasonic nebulization. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 9, p. 395-400, 1997.
- BRAUN, U. Ultrasonographic examination of the liver and gall bladder in cows: normal findings. *Compendium continued education*. v. 18, p. s61-s73, 1996.
- BRAUN, U. Ultrasonographic examination of the liver in cows. *American Journal Veterinary Research*. v. 51, n. 10, p. 1522-1526, 1990.
- BRAUN, U., FLÜCKIGER, M., FEIGE, K., POSPISCHIL, A. Diagnosis by ultrasonography of congestion of the caudal vena cava secondary to thrombosis in 12 cows. *The Veterinary Record*. v. 150, n. 7, p. 209-213, 2002.
- BRAUN, U., LINGGI, T., POSPISCHIL, A. Ultrasonographic findings in three cows with chronic ragwort (*Senecio alpinus*) poisoning. *The Veterinary Record*. v. 144, n. 5, p. 122-126, 1999.
- BRAUN, U., NUSS, K., SODATI, G., OSSENT, P. Clinical and ultrasonographic findings in four cows with liver tumours. *The Veterinary Record*. v. 15, p. 482-484, 2005a.
- BRAUN, U., PUSTERLA, N., WILD, K. Ultrasonographic findings in 11 cows with a hepatic abscess. *The Veterinary Record*. v. 137, n. 12, p. 284-290, 1995a.
- BRAUN, U., SCHWEIZER, G., POSPISCHIL, A. Clinical and ultrasonographic findings in three cows with ruptured gall bladders. *The Veterinary Record*. v. 12, p. 351-353, 2005b.
- BROWN, S. A.; BAIRD, A. N. Evaluation of renal gentamicin depletion kinetic properties in sheep, using serial percutaneous biopsies. *American Journal Veterinary Research*, v. 49, n.12, p. 2056-2059, 1988.
- BRUSS, M.L. Metabolic fatty liver of ruminants. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*. v. 37, p. 417-449, 1993.
- BUCLEY, W. T.; EIGENDORF, G. K.; DORWARD, W. J. A liver biopsy instrument for large animals. *The Canadian Journal of Animal Science*, v. 66, p. 1137-1140, 1986.
- BUNCH, S. E.; POLAK, D. M.; HORNBuckle, W. E. A modified laparoscopic approach for liver biopsy in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 187, n.10, p. 1032-1035, 1985.
- COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D.; PILATI, C. Intoxicação experimental pelos frutos de *Xanthium cavanillesii* (Asteraceae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 20, n. 1, p. 31-38, 2000.

- COSTA, P. R. S.; LOPES, M. A. F.; COSTA, M. C. et al. Biopsia hepática videolaparoscópica em cães. *Revista Ceres*, v. 52, n. 303, p. 763-770, 2005.
- DICK, A. T. Aspiration biopsy of the liver in sheep. *Australian Veterinary Research*, v. 20, p. 298-303, 1944.
- DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: Rosenberger, G. Exame clínico dos bovinos. 3ª ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1993. cap. 7, p. 166-228.
- DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: ROSENBERGER, G. Exame Clínico dos Bovinos. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. Cap.7, p. 166-225.
- DONALD, G. E.; PAULL, D. R.; LANGLANDS, J. P. Liver biopsy as a technique for assessing copper status of sheep. *Australian Veterinary Journal*, v. 61, n. 4, p. 121-122, 1984.
- DUARTE, A. L. L.; CATTELAN, J. W.; VICENTE, W. R. R. et al. Biópsia hepática em caprinos guiada por vídeo-laparoscopia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, supl. 2, p. 105, 2006.
- DUNCAN, I. F. Liver biopsy and black disease in a sheep. *Australian Veterinary Journal*, v. 61, n. 8, p. 272-273, 1984.
- FERREIRA, A. V.; VAN DER MERWE, H. J.; SLIPPERS, S. C. A technique for obtaining liver biopsies from mature sheep. *Small Ruminant Research*, v. 22, p. 89-92, 1996.
- FINN-BODNER, S. T.; HATHCOCK, J. T. Image-guided percutaneous needle biopsy: ultrasound, computed tomography, and magnetic resonance imaging. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, v. 8, p. 258, 1993.
- GONZALO-ORDEN, M., MILLÁN, L., ÁLVAREZ, M., SÁNCHEZ-CAMPOS, S., JIMÉNES, R., GONZÁLES-GALLEGO, J., TUÑÓN, M.J. Diagnostic imaging in sheep hepatic fascioliasis: ultrasound, computer tomography and magnetic resonance findings. *Parasitology Research*. v. 90, p. 359-364, 2003.
- HAGER, D. A.; NYLAND, T. G.; FISHER, P. Ultrasound-guided biopsy of the canine liver, kidney, and prostate. *Radiology*, v. 26, n. 3, p. 82-88, 1985.
- HARVEY, R. B., LOVERING, S. L.; BAILEY, E. M. et al. The influence of multiple liver biopsies on hematologic and serum biochemical values of sheep. *Cornell Veterinary*, v. 74, p. 322-330, 1984.
- HELMAN, R.G., ADAMS, L.G., BRIDGES, C.H. The lesions of hepatic fatty cirrhosis in sheep. *Veterinary Pathology*. v. 32, p. 635-640, 1995.
- HIDIROGLOU, M.; IVAN, M. Liver biopsy in sheep. *Veterinary Research*, v. 24, p. 260-265, 1993.
- HIGGINS, R.J., ERA, A., ABRAHAM, A. Primary hepatic fibrosarcoma in a Toggenburg goat. v. 116, p. 444, 1985.
- HOGAN, K. G.; MONEY, D. F. L.; WALKER, R. S. The distribution of copper in the liver of pigs and sheep and its effect on the value of chemical analyses made on biopsy samples. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, v. 14, p. 132-141, 1971.
- HUGHES, J. P. A simplified instrument for obtaining liver biopsies in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, v. 23, p. 1111-1112, 1962.

- JOHNSTONE, A.C. Two cases of hepatic mastocytoma in sheep. *Veterinary Pathology*. v. 9, p. 159-163, 1972.
- JONES, B. D.; GROSS, M. E. Introduction to endoscopy. *Veterinary Clinics of North América: Small Animal Practice*, v. 20, n. 5, p. 1199-1208, 1990.
- KELLY, W.R. The Liver and Biliary System. In: JUBB, KVF, KENNEDY, PC, PALMER, N. *Pathology of domestic animals*. 3^a ed. Orlando, Academic Press, 1985, vol. 2, cap. 2, p. 240- 313.
- KERWIN, S. C. Hepatic aspiration and biopsy techniques. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 25, n. 2, p. 275-303, 1995.
- KIRKPATRICK, J. G.; HELMAN, R. G.; BURROWS, G. E. et al. Evaluation of hepatic changes and weight gains in sheep grazing *Kochia scoparia*. *Veterinary & Human Toxicology*, v. 41, n. 2, p. 67-70, 1999.
- LECHTENBERG, K.F., NAGARAJA, T.G. Hepatic ultrasonography and blood changes in cattle with experimentally induced hepatic abscesses. *American Journal Veterinary Research*. v. 52, n. 6, p. 803-809, 1991.
- LÉVEILLÉ, R.; PARTINGTOON, B. P.; BILLER, D. S. et al. Complications after ultrasound-guided biopsy of abdominal structures in dogs and cats: 246 cases (1984-1991). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 203, n. 3, p. 413-415, 1993.
- LOFSTEDT, J., SCHELLING, S., STOWATER, J., MORRIS, E. Antemortem diagnosis of hepatic adenocarcinoma in a ewe. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v. 193, n. 12, p. 1537-1538, 1988.
- LOFSTEDT, J.; SCHELLING, S.; STOWATER, J. et al. Antemortem diagnosis of hepatic adenocarcinoma in a ewe. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 193, n. 12, p. 1537-1538, 1988.
- MACLACHLAN, N.J., CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exocrino. In: CARLTON, W.W. & MCGAVIN, N.D. *Patologia Veterinária Especial de Thomson*, 2^a ed, Porto Alegre, Artmed, 1998, cap. 2, p. 95-131.
- MAXSON, A.D., WACHIRA T. M., ZEYHLE E.E., FINE, A., MWANGI, T.W., SMITH, G. The use of ultrasound to study the prevalence of hydatid cysts in the right lung and liver of sheep and goats in Turkana, Kenya. *International Journal for Parasitology*. v. 26, n. 11, p. 1335-1338, 1996.
- MAXSON, A.D., WACHIRA T. M., ZEYHLE E.E., FINE, A., WEBER, E.P., NJOROGI, E., SMITH, G. Evaluation of diagnostic ultrasound as a mass screening technique for the detection of hydatid cysts in the liver and lung of sheep and goats. *International Journal for Parasitology*. v. 28, p. 349-353, 1998.
- NYLAND, T.G., PARK R.D. Hepatic ultrasonography in the dog. *Veterinary Radiology*. v. 24, p. 74-84, 1983.
- PARTINGTON, B.P., BILLER, D.S. Hepatic imaging with radiology and ultrasound. *Veterinary Clinical of the North American - Small Animal Practice*. v. 25, n. 2, p. 305-335, 1995.
- PEARSON, E. G.; GRAIG, A. M. The diagnosis of liver disease in equine and food animals. *Modern Veterinary Practice*, v. 63, n. 3, p. 233-238, 1980.

- PHILLIPPO, M. A technique for liver biopsy in sheep. *Journal of Agricultural Science*, v. 80, p. 313-314, 1973.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. et al. *Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Eqüinos*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.
- RAPOSO, J. B.; MENDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. et al. Experimental intoxication by *Myoporum laetum* in sheep. *Veterinary & Human Toxicology*, v. 40, n. 3, p. 132-135, 1998.
- REIMER, J.M., DONAWICK, W.J., REEF, V.B., WAGNER, H.R., DIVERS, T.J. Diagnosis and surgical correction of patent ductus venosus in a calf. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v. 193, n. 12, p. 1539-1541, 1988.
- RODRÍGUEZ, F., HERRÁEZ, P., RODRÍGUEZ, J.L., ORÓS, J., ZAERA, J.P., ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A. Cholangiocarcinoma in a goat. *The Veterinary Record*. v. 10, p. 143-144, 1996.
- ROSSEAU, C.G. Hepatocellular carcinoma in a goat. *Australian Veterinary Journal*. v. 61, n. 1, p. 193, 1984.
- SANTA ROSA, J., JOHNSON, E.H., ALVES, F.S.F., SANTOS, L.F.L. A retrospective study of hepatic abscesses in goats: pathological and microbiological findings. *British Veterinary Journal*. v. 145, p. 73-76, 1989.
- SCANLAN, C.M. & EDWARDS, J.F. Bacteriologic and pathologic studies of hepatic lesions in sheep. *American Journal Veterinary Research*. v. 51, n. 3, p. 363-366, 1990.
- SCHERER, P. O.; PILE, E. A.; SERRA-FREIRE, N. M. et al. Modificação da técnica de punção-biópsia hepática para pequenos ruminantes. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 7, n. 1, p. 55-57, 2000.
- SCHERER, P. O.; PILE, E. A.; SERRA-FREIRE, N. M. et al. Uso da técnica de punção-biópsia para o diagnóstico histopatológico da fasciolose ovina. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 36, n.4, p. 1999.
- SILVA, L. C. L. C.; STOPIGLIA, A. J.; FANTONI, D. T. Técnica de biópsia hepática em eqüinos por laparoscopia. *Ciência Rural*, v. 32, n. 3, p. 459-465, 2002.
- TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J., PEIXOTO, P.V. *Plantas tóxicas do Brasil*. 1ª ed. Rio de Janeiro. Editora Helianthus. 320 p. 2000.
- UDALL, R. H.; WARNER, R. G.; SMITH, S. E. A liver biopsy technique for cattle. *Cornell Veterinary*, v. 42, p. 25-27, 1952.
- WATT, D.A. A hepatocholangioma in a sheep. *Australian Veterinary Journal*. v. 46, p. 552, 1970.
- YAMAGA, Y., TOO, K. Diagnostic ultrasound imaging in domestic animals: fundamental studies on abdominal organs and fetuses. *Japanese Journal Veterinary Science*. v. 46, n. 2, p. 203-212, 1984.

DOENÇAS HEPÁTICAS EM OVINOS E CAPRINOS

**José Renato Junqueira Borges, Roberta Ferro de Godoy, Fábio Bezerra Ximenes,
Márcio Botelho de Castro, Vanessa Mustafa, Guilherme Reckziegel,
Ernane de Paiva Ferreira Novais**

Universidade de Brasília - UnB
Hospital Escola de Grandes Animais da Granja do Torto
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
jrborges@unb.br

Introdução

As doenças hepáticas nos pequenos ruminantes têm especial importância devido à alta ocorrência de intoxicação por *Brachiaria spp.* e Toxemia da Gestação em animais de alto valor zootécnico ou produções intensivas e semi-intensivas.

No Brasil Central a intoxicação por Braquiária tem sido fator limitante na produção de ovinos, principalmente àqueles oriundos de regiões sem pastagens de braquiária. A toxemia apresentou incremento no número de casos à medida que os rebanhos ovinos se especializaram. Nos caprinos a ocorrência de toxemia é alta também, mas a intoxicação por braquiária tem sido observada esporadicamente no DF e Entorno devido ao pequeno número de produtores.

Outra doença com relativa importância, que muitas vezes passa despercebida, sendo confundida com desnutrição e verminose, é a deficiência de cobalto, que pode causar esteatose hepática..

Toxemia da gestação (Cetose, Acetonemia, Lipidose hepática)

A toxemia da gestação é encontrada principalmente em ovelhas e cabras no final da gestação, com múltiplos fetos, e associada a um balanço energético negativo. Consideram-se quatro tipos de toxemia da gestação (Rook, 1993):

1. Primária (erro no manejo nutricional): ocorre quando há deficiência no manejo nutricional ou troca abrupta de alimentação com ingestão diminuída até o animal se adaptar ao novo alimento. É comum no final do período de seca acabar a silagem de boa

qualidade e introduzir os animais numa pastagem, que mesmo sendo de boa qualidade, não supre a energia demandada pela gestação.

2. Obesidade: Cabras ou ovelhas obesas com declínio nutricional no final da gestação ou fetos múltiplos, às vezes com até quatro fetos. O excesso de fetos ou a gordura abdominal podem comprimir o rúmen diminuindo a ingestão de alimentos.

3. Deficiência nutricional (desnutrição): emaciação resultante de desnutrição por erros de manejo ou períodos graves de seca.

4. Secundária a outra doença: Esporádica. Diminuição de ingestão de alimentos em decorrência de uma doença concorrente.

Além dos fatores relacionados acima, se deve observar o estresse pelo manejo, transporte, condições climáticas e presença de predadores e também a susceptibilidade individual (hereditariedade). No mau tempo além do estresse, os animais tendem a permanecer mais tempo a procura de abrigo do que se alimentando (Schild, 2007).

A toxemia da gestação pode ser prevenida pela ingestão de uma nutrição balanceada, mas isso nem sempre é fácil. No final da gestação uma ovelha com gestação gemelar necessita de 180% mais energia e com gestação com três fetos mais 240%. Se considerar que 80% do crescimento fetal ocorre nas últimas seis semanas de gestação, alguns animais não conseguem consumir a quantidade suficiente de alimentos para a demanda energética (Edmondson; Pugh, 2009).

O balanço energético negativo, representado pela queda de glicose no sangue, provavelmente desencadeia os sinais de toxemia da gestação em ovelhas e cabras suscetíveis, pois existem casos em que a hipoglicemia não causa toxemia, devido ao fato do animal se adaptar ao balanço energético negativo. É importante que se saiba que existem animais suscetíveis e resistentes a toxemia (Rook, 1993).

Quando se instala o balanço energético negativo há mobilização de gordura corporal (lipomobilização) com aumento dos ácidos graxos não esterificados (AGNE) e glicerol no fígado. Os AGNE podem ser utilizados no ciclo do ácido cítrico produzindo energia, mas não formam glicose. Se o animal diminui a ingestão de alimentos vai diminuir a produção de ácido propiônico e conseqüentemente a formação de glicose, com menor formação de oxaloacetato, substância necessária para que os AGL sejam aproveitados no ciclo do ácido cítrico para a produção de energia. O acúmulo de AGL causa aumento dos corpos cetônicos ou eles são envelopados na forma de lipoproteínas.

Nesse caso o aumento de AGNE contribui para que haja acúmulo de triglicerídeos no fígado e conseqüente formação de esteatose hepática (Navarre; Pugh, 2002).

Sinais Clínicos

A toxemia da gestação ocorre nas últimas duas a quatro semanas de gestação e os primeiros sinais observados são anorexia, depressão e distúrbio no comportamento. O animal afasta-se do rebanho, não se alimenta e a depressão é compatível com a gravidade do caso. Muitas vezes se encontra em decúbito esternal ou mesmo lateral. Pode apresentar sinais neurológicos como tremores, incoordenação, bruxismo e cegueira. O animal apresenta-se com o olhar embotado, ou seja, com olhar perdido e bem deprimido. Edema de membros pode estar presente.

Diagnóstico

O diagnóstico definitivo se realiza com a presença de corpos cetônicos na urina pelo teste de Rothera ou por meio de fitas de diagnóstico. A hipoglicemia geralmente esta presente, mas nem sempre é observada, principalmente quando o animal é transportado para o hospital. Quando o animal chega muito estressado observa-se hiperglicemia passageira, evoluindo posteriormente para hipoglicemia. Muitas vezes somente o histórico e os sinais clínicos são necessários para realizar o diagnóstico, apesar de que as propriedades mais estruturadas têm condições de adquirir um medidor de glicose portátil ou ter fitas reagentes para urina.

O perfil hepático esta alterado nos casos mais graves com aumento da atividade da gama glutamil transferase (GGT) e aspartato amino transferase (AST). Quando estão aumentados são bons indicadores, mas pode ocorrer do animal já ter esteatose hepática grave e as enzimas se manterem em níveis baixos. Baseado nisso o melhor meio de diagnóstico da esteatose hepática é a biopsia.

Têm sido observado casos de machos, carneiros e bodes, de pista com aumento das enzimas hepáticas e esteatose hepática. Esses animais são super alimentados para participarem de exposições e é comum apresentarem outras doenças, como urolitíase, acidose ruminal ou indigestões, e em menor grau lesões de aparelho locomotor, devido ao excesso de peso, e esteatose hepática. Nos machos os sinais são semelhantes, porém mais brandos, com apatia e hiporexia.

Tratamento

O objetivo principal do tratamento é reverter o balanço energético negativo e a hipoglicemia, para isso é importante a infusão de glicose e tratamento por via oral. O prognóstico sempre é reservado a desfavorável independente da gravidade do caso. No início do funcionamento do Hospital Veterinário da UnB (HVet-UnB) os óbitos eram em torno de 80-90%. Com a introdução de um novo protocolo conseguiu-se reverter para 20% de óbitos.

Quando o animal se encontra relativamente bem, procura-se prolongar ao máximo a cesariana ou indução do parto. Primeiramente, induz-se o parto com 10-15 mg de dexametasona, e nas cabras administra-se ainda 0,530 mg de cloprostenol. As cabras da raça Boer, maioria dos caprinos atendidos com toxemia no HVet-UnB, respondem muito bem a esse protocolo, em torno de 24 horas, não necessitando de cesariana. No caso das ovelhas, maioria Santa Inês, Dörper e suas mestiças, ocorre o inverso, normalmente necessitam de cesariana em torno de 24 a 48 horas. Quando se suspeita da morte dos fetos é necessário realizar cesariana de emergência, pois a sobreposição da toxemia da gestação com a endotoxemia pela morte fetal, levam o animal a morte na grande maioria dos casos.

O tratamento recomendado é a infusão com glicose 5%, cerca de 2-4 litros por dia, 50 ml de propilenoglicol de 12 em 12 horas e ingestão forçada de 150 g de ração umedecida em água, cinco vezes ao dia, como fonte de carboidrato para restabelecer a glicemia dos animais. Quando disponível, recomenda-se ainda transfaunação de cerca de 3 litros por dia de fluído ruminal fresco.

A manutenção de uma boa nutrição e evitar estresse são essenciais na prevenção.

Intoxicação por *Brachiaria* spp.

No Brasil são conhecidas várias plantas tóxicas, apesar desse grande número as plantas identificadas como causadoras de perdas econômicas importantes são relativamente poucas, porém a perda que essas plantas causam são extremamente significativas.

A *Brachiaria* spp é uma planta potencialmente tóxica e tem tido sua importância aumentada em todo o país, principalmente no Centro Oeste onde é a principal forrageira

utilizada na formação de pastagens devido a baixa exigência quanto ao solo e alta produção de matéria seca.

Após a disseminação de *B. decumbens* por sementes no Brasil começaram os relatos de fotossensibilização nos animais que eram introduzidos nessa pastagem. O primeiro relato de fotossensibilização hepatógena em pastagem de *Brachiaria spp.* no Brasil foi em 1975 (Driemeier et al. 1998). Atualmente perdas econômicas importantes são causadas em bovinos e ovinos por *Brachiaria decumbens* e outras espécies de braquiária que causam fotossensibilização, principalmente nas regiões Sudeste e Centro Oeste (Riet-Correa; Medeiros 2001, Castro et al. 2009). A toxidez dessas plantas não é constante e uniforme, sendo afetada por diversos fatores que ainda são pouco estudados (Tokarnia et al. 2000).

As braquiárias são capazes de provocar fotossensibilização hepatógena assim como *Panicum spp.*, *Tribulus terrestris*, *Agave lecheguilla* e *Nartheceum ossifragum*. Essas plantas contêm saponinas esteroidais em sua composição que causam colangite e deposição de cristais em ductos biliares, dificultando a metabolização e excreção da fíloeritrina que se acumula e provoca a fotossensibilização (Cruz et al. 2001).

Devido ao que era descrito na literatura a fotossensibilização observada nos animais em pastos de *Brachiaria spp.* era associada a esporidesmina, substância produzida pelo fungo *Pithomyces chartarum* que causa necrose hepática e acúmulo de substâncias fotossensíveis, provocando um quadro de fotossensibilização hepatógena. Porém no Brasil a participação da esporidesmina nos casos de fotossensibilização hepatógena em pastos de braquiária não tem sido confirmada. Os argumentos contra a participação de *P. chartarum* na maioria dos focos brasileiros incluem a baixa densidade ou mesmo ausência de esporos nas pastagens onde ocorreram os casos de intoxicação natural e na impossibilidade de fungos isolados em produzir esporidesmina (Cruz et al. 2001, Castro et al. 2009).

Além disso, as alterações histopatológicas encontradas nos animais intoxicados por *Brachiaria spp.* no Brasil são diferentes das alterações causadas pela esporidesmina (Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa et al. 2007). A esporidesmina afeta primariamente o sistema biliar, causando uma colangite obstrutiva, com extensa necrose na adventícia dos ductos com fibroplasia ativa e cicatrização. Ocorre proliferação de tecido conjuntivo e de ductos biliares próximo ao espaço-porta. Os animais intoxicados por *Brachiaria spp.* no Brasil não apresentam área de necrose e fibroplasia, como descrito na lesão

causada pela esporidesmina, o que leva a acreditar que o princípio ativo responsável pela intoxicação seja um componente da própria planta (Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa et al. 2007).

Animais introduzidos pela primeira vez em pastagens de *Brachiaria* spp. são mais susceptíveis à intoxicação, não se sabe se a maior resistência dos animais que são criados nesse tipo de pastagem se deve a algum mecanismo de adaptação ou se ao longo dos anos ocorreu uma seleção natural dos animais mais resistentes. O pastoreio durante a brotação da planta ou em pastos que se encontraram fechados por um período maior que 30 dias são relacionados com maior toxicidade, nestes casos a doença é mais grave e acomete animais de todas as idades (Riet-Correa et al. 2007). Nos surtos atendidos pelo HVet-UnB, o início das chuvas, principalmente quando a braquiária está brotando, parece ser o período quando a planta é mais tóxica.

Ainda existem lacunas sobre a intoxicação por *Brachiaria* spp. que precisam ser estudadas para melhor esclarecimento, entre elas estão questões como susceptibilidade à intoxicação, se existe resistência adquirida ou genética a essa intoxicação, é necessário também determinar a toxicidade da planta nos diferentes estágios vegetativos e se há diferença de toxicidade entre as espécies de *Brachiaria* spp. além de determinar os principais fatores epidemiológicos que interagem em surtos de intoxicação potencializando a ocorrência do mesmo.

No intuito de esclarecer algumas dessas dúvidas existentes quanto à intoxicação por *Brachiaria* spp. o Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade de Brasília (LPV-UnB) realizou trabalhos com essa planta (Castro et al. 2009).

O primeiro experimento foi realizado para determinar diferença de susceptibilidade à intoxicação entre animais criados no pasto de braquiária e animais que não haviam tido contato com braquiária anteriormente. Nesse estudo foi observado que os animais introduzidos na braquiária apresentavam maior predisposição à intoxicação (9 de 10 animais adoeceram) quando comparado com os animais criados naquele pasto (1 de 10 animais adoeceu).

No segundo experimento foram mantidos ovinos em três piquetes de braquiária com diferentes tempos de crescimento (15, 30 e 45 dias). Notou-se que a planta é tóxica em todos os estágios vegetativos, porém a intoxicação foi mais aguda e grave nos animais que estavam consumindo a planta com menor tempo de crescimento (fase de brotação).

No terceiro experimento foram colocados ovinos, com a mesma idade, criados em braquiária, por isso mais resistentes à intoxicação, em quatro tipos de forragem, *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Panicum maximum* (var Aires) e *Andropogon gayanus* (var Planaltina), para avaliar ganho de peso desses animais. Observou-se que animais resistentes apresentam um ganho de peso melhor em *Brachiaria decumbens* do que nas demais forrageiras.

Sinais Clínicos

Nos ovinos e caprinos intoxicados por *Brachiaria spp.*, os sinais clínicos observados são caracterizados por eczema facial, prurido nos olhos, edema de orelhas, secreção nasal e ocular, mucosas ictéricas e pêlos foscos e eriçados, anorexia, prostração e edema de pálpebra com fotofobia e queratite, porém, outros sinais também podem ser relatados, como, incoordenação, opistótono e erosões no úbere. Animais com icterícia têm o prognóstico desfavorável e muitas vezes não apresentam sinais de fotossensibilização, pela morte rápida.

Há casos hiperagudos caracterizado por rápida depressão, ausência de icterícia, hiperemia das mucosas, edema facial e de orelha e morte rápida (Castro et al., 2009).

Animais com a pele pigmentada podem apresentar sinais cutâneos leves, muitas vezes apresentando somente blefarite e queratite.

Quando a lesão hepática é muito grave apresentam encefalopatia hepática com alterações neurológicas, geralmente com decúbito lateral, opistótono e convulsões ou tremores.

Nos animais intoxicados por *Brachiaria spp.* observa-se, na maioria dos casos, aumento das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT), mas, muitas vezes, esses aumentos são observados em animais normais que se encontram em pastos de braquiária. Também se observa aumento da creatinina e de nitrogênio da uréia sanguínea (BUN) em casos graves.

Tratamento não é eficaz nos casos graves, podendo-se utilizar corticoesteróides (dexametasona) e soro glicosado com resultados variáveis.

Tabela 1: Sintomatologia clínica apresentada em ovinos em 15 surtos de intoxicação por *Brachiaria spp.*, atendidos no Hospital Veterinário da UnB.

Surtos	Sinais Clínicos
1º	Prurido e edema nos olhos e blefarite; vasos episclerais, esclera e mucosas hiperêmicos; erosões no úbere.
2º	Edema de orelha, cabeça e maxila; mucosas hiperêmicas; secreções nasais purulentas; pêlos eriçados e foscos; opistótono; fraqueza; rodopios, prostração e morte.
3º	Eczema facial; edema facial e de olho; incoordenação dos membros pélvicos.
4º	Mucosas ictéricas (+++); pêlo fosco; anorexia e perda de peso;.
5º	Eczema facial, mucosas ictéricas; fossa nasal suja e úmida;
6º	Eczema facial; edema de face e de orelha; vasos episclerais, esclera e mucosas hiperêmicos; pêlos foscos.
7º	Mucosas rosa pálido; secreção ocular e blefarite; pêlos foscos.
8º	Edema facial.
9º	Eczema facial; mucosas hiperêmicas; alopecia nas orelhas e ao redor dos olhos; corrimento nasal (secreção serosa).
10º	Paresia de posteriores; respiração abdominal.
11º	Mucosas hiperêmicas; fossa nasal suja e úmida.
12º	Eczema facial; vasos episclerais, esclera e mucosas hiperêmicos; epífora.
13º	Mucosas rosa pálido; hiperqueratose na ponta das orelhas.
14º	Edema de orelha; mucosas hiperêmicas; epífora; hiperqueratose perioral e periocular; pêlos eriçados e foscos.
15º	Edema de orelha; vasos episclerais, esclera e mucosas ictéricas; fossa nasal suja; pêlos eriçados.

Achados de necropsia e histopatológicos

As principais alterações macroscópicas encontradas durante a necropsia de animais intoxicados por *Brachiaria spp.* são lesões cutâneas de fotodermatite, icterícia hepática, fígado aumentado e de coloração amarelo cobre intensa (Driemeier et al. 1998, Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa et al. 2007).

As alterações histopatológicas são encontradas principalmente no fígado e linfonodos hepáticos e mesentéricos e podem ser encontradas inclusive em animais aparentemente saudáveis, mas que estejam consumindo *Brachiaria spp.*. Observa-se tumefação difusa dos hepatócitos, necrose individual de células hepáticas, megalocitose, bilestase e pericolangite linfocitária de células epiteliais dos ductos biliares. A principal alteração está relacionada com a presença de cristais birrefringentes nos ductos biliares e acúmulos multifocais de macrófagos com citoplasma espumoso (“foam cells”), alguns

contendo imagens negativas de cristais acutiformes (Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa et al. 2007).

Esses macrófagos espumosos podem apresentar-se aglomerados ou fusionados na forma de células gigantes e estão distribuídos por todo parênquima hepático, mas encontram-se em maior quantidade nas proximidades da veia centrolobular. Quando isoladas, essas células são de difícil diferenciação dos hepatócitos adjacentes, mas quando formam aglomerados são fáceis de identificar (Driemeier et al. 1998, Cruz et al. 2001). A presença de estruturas cristalóides fagocitadas por macrófagos no fígado e nos linfonodos leva a acreditar que a toxicidade está relacionada com alguma substância da própria planta, provavelmente saponinas esteroidais (Cruz et al. 2001).

A susceptibilidade e a resistência à intoxicação por Braquiária em ovinos e caprinos são muito complexas, sendo provavelmente composto por resistência genética e/ou adquirida e fatores que determinam a concentração de saponinas na forragem. Apesar disso a Braquiária ainda é a principal opção de forragem no Centro-oeste do Brasil, necessitando de pesquisas para se introduzir medidas específicas de prevenção (Castro et al., 2009)

Deficiência de cobalto e vitamina B₁₂ em ovinos

A deficiência de cobalto tem sido observada no DF principalmente em animais no seu período de maior produção, ou seja, borregos após o desmame, ovelhas prenhas e carneiros no período de monta. Atinge principalmente animais lanados, pois a exigência é maior. Os animais apresentam emaciação e anemia grave, desenvolvendo muitas vezes doenças secundárias como pneumonia, linfadenite caseosa e é freqüente o aparecimento de esteatose hepática (doença do fígado branco), independente da faixa etária. A deficiência de Co/Vitamina B₁₂ leva a um distúrbio do metabolismo do ácido propiônico acompanhado da perda de apetite e morte por inanição. Nos casos observados a quantidade de cobalto no sal mineral era bem menor do que o preconizado. Numa das propriedades com a deficiência o sal mineral era misturado manualmente, sem o uso de misturador, ficando impossível homogeneizar de maneira adequada os ingredientes. O uso de vitamina B₁₂ injetável e introdução de sal mineral comercial para ovinos solucionou o problema.

Referências

1. CASTRO, M. B. DE, SANTOS JR, H. L., MUSTAFA, V. S., GRACINDO, C. V., MOSCARDINI, A. R., LOUVANDINI, H.; PALUDO, G.R., BORGES, J.R.J.; HARAGUSHI, M.; FERREIRA, M.B.; RIET-CORREA, F. *Brachiaria* Spp. Poisoning In Sheep In Brazil: Experimental And Epidemiological Findings. In: 8th International Symposium On Poisonous Plants, 2009, João Pessoa - Pb. Isopp8 Program And Abstracts. Campina Grande - Pb: Ufpb, 2009. P12
2. CRUZ, C.E.F. Contribuição ao estudo da etiopatogenia das lesões hepáticas em ovinos associadas ao consumo de *Brachiaria decumbens*. Arquivos da Faculdade de Veterinária. UFRGS. 29(1): 67-68. Tese de mestrado. 2001.
3. DRIEMEIER, D.; BARROS, S. S.; PEIXOTO, P. V; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; BRITO, M. F.. Estudos histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos ("foam cells"). Pesq. Vet. Bras. V. 18; N. 1; p. 29-34, 1998.
4. EDMONDSON, M.A.; PUGH, D.G. Toxemia in sheep and goat. In Anderson, D.E.; Rings, D.M. Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice 5. Saunders, Philadelphia, 2009.
5. MÉNDEZ & RIET-CORREA, Intoxicação por Plantas e Micotoxinas. In Riet-Correa; Schild; Méndez; Lemos. Doenças dos Ruminantes e Eqüinos. Volume 2. Varela Editora e Livraria, São Paulo, 2001.
6. NAAVARRE, C.B.; PUGH, D.G. Diseases of gastrointestinal system. In Pugh, D.G. Sheep and goat medicine. Saunders, Philadelphia, 2002.
7. PITOMBO, C. A. Doenças dos Ovinos no DF e Entorno. Tese de Doutorado, UFRRJ, 2003. 124 p.
8. RADOSTITIS O.M.; BLOOD D.C.; GAY C.C.. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9 ed.(Português). Rio de Janeiro: Guanabara, 2002.
9. RIET-CORREA & MÉNDEZ, Intoxicação por Plantas e Micotoxinas. In Riet-Correa; Schild; Méndez; Lemos. Doenças dos Ruminantes e Eqüinos. Volume 2, 3ª edição. Editora Palloti, 2007.
10. ROOK, J.S. Pregnancy toxemia in ewes. In Howard, J. L. Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice 4. Saunders, Philadelphia, 1993.

11. RUSSOMANNO, O.M.R.; PORTUGAL, M.A.S.C.; COUTINHO, L.N.; CALIL, E.M.B.; FIGUEIREDO, M.B. *Leptosphaerulina chartarum* (=Pithomyces chartarum) e seu Envolvimento no Eczema Facial. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.70, n.3, p.385-390, jul./set., 2003.
12. SCHILD, A.L. Cetose. In Riet-Correa; Schild; Méndez; Lemos. Doenças dos Ruminantes e Eqüinos. Volume 2, 3ª edição. Editora Palloti, 2007.
13. TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. Plantas Tóxicas do Brasil. Editora Helianthus, Rio de Janeiro; 2000.

DESAFIOS SANITÁRIOS E DE MANEJO NA OVINOCULTURA

**Fernando Henrique Melo Andrade Rodrigues de Albuquerque¹,
Eduardo Luiz de Oliveira², Francisco Selmo Fernandes Alves³**

¹Analista Embrapa Caprinos e Ovinos
Estrada Sobral/Groaíras, km 04 Caixa Postal 145
CEP 62010-970 Sobral-CE

Telefone: (88) 3112-7400 - Fax: (88) 3112-7455

e-mail: fernando@cnpq.embrapa.br

²Analista Embrapa Caprinos e Ovinos
e-mail: eduardo@cnpq.embrapa.br

³Pesquisador Embrapa Caprinos e Ovinos
e-mail: selmo@cnpq.embrapa.br

1. Introdução

As expectativas em relação à criação de ovinos no Brasil estão em evidência nos últimos anos. Relatos sobre as vantagens e perspectivas do crescimento da atividade têm sido constantes (PÉREZ & FURUSHO-GARCIA, 2002; BORGES et al., 2004; REIS, 2009).

O rebanho ovino brasileiro está estimado em 16.019.170 cabeças (IBGE, 2008). Está distribuído na Região Nordeste com aproximadamente 9.379.380 (58,55%), Sul com 4.491.523 (28,04%), Centro-Oeste com 987.090 (6,16%), Sudeste com 664.422 (4,15%) e na Região Norte com 496.755 (3,10%). Esses rebanhos apresentam algumas diferenças, considerando os aspectos raciais e sistemas de exploração utilizados. Na região Sul, os ovinos são destinados tradicionalmente à produção de lã, embora essa tendência esteja mudando pela maior valorização da carne. No Nordeste, o rebanho ovino é constituído principalmente por animais deslanados, destinados à produção de carne e pele (OLIVEIRA & LIMA, 1994; EMBRAPA CAPRINOS, 2008). A ovinocultura de corte tem apresentado um grande crescimento nas regiões Sudeste e Centro-Oeste com características mais tecnificadas.

A exploração de pequenos ruminantes domésticos, historicamente, é uma atividade de grande importância econômico-social, particularmente na maioria dos países que possui regiões de climas árido e semi-árido. Nestas regiões, o segmento da sociedade que tradicionalmente é envolvida no processo produtivo de pequenos ruminantes apresenta elevados níveis de complexidade e multiplicidade de objetivos (ELLIS, 1996). Assim, também no Brasil a produção de caprinos e ovinos para corte, quando comparada com a produção de bovinos, suínos e aves, se caracteriza como uma

exploração multifuncional, tradicionalmente explorada com pouca tecnologia menos especializada, destacando-se os seguintes aspectos (WANDER, 2003): produção de carne, pele e esterco para subsistência das famílias envolvidas; produção de carne, pele e esterco para o mercado; formação de reserva de capital; diminuição dos riscos; complementaridade entre sistemas agropecuários complexos; auto-estima e prestígio do produtor.

Dentre os desafios, deve ser ressaltada a quase completa ausência de políticas públicas, de médio e longo prazo, voltadas para dar sustentação e garantir a longevidade da atividade; de organização e gestão da atividade à luz do agronegócio; de organização das cadeias produtivas das carnes e das peles e seus derivados; de programa de qualificação e especialização de mão-de-obra; de modelos físicos de exploração com foco na alimentação-nutrição e saúde dos rebanhos e no ambiente, compatíveis com as cinco macrorregiões geográficas brasileiras; de implantação de programas, público e privado, de transferência de conhecimentos e tecnologias e de assistência técnica (SIMPLÍCIO & SIMPLÍCIO, 2006).

2. Sistemas de produção

Somente a partir do conhecimento dos sistemas agropecuários existentes, de sua lógica, de seus limites e alcance é que se pode localizar seus pontos de estrangulamento tecnológico e propor mudanças que sejam soluções a problemas colocados e vividos efetivamente pelo produtor (ABROMOVAY, 1985).

A opção por um determinado sistema de produção tem sido condicionada a três fatores básicos: infra-estrutura da propriedade; genética do rebanho e mercado. Observa-se também que a exploração zootécnica de animais domésticos obedece a uma norma que quanto menor o animal, mais curto o ciclo de produção e mais intensiva a atividade, maiores são os cuidados necessários, principalmente higiênico-sanitários, o que implica em mão-de-obra mais especializada (REIS & ÍTAVO, 2009).

Sistemas de produção estão sujeitos a muitos fatores, e são decorrentes de suas finalidades e realidades. Seus índices produtivos (ou zootécnicos) podem refletir sua situação, em níveis tecnológicos e conseqüentemente sua eficiência. Baseado nos índices considera-se a ocorrência, em linhas gerais, de sistemas convencionais, com práticas tradicionais e índices estacionários, e dos melhorados, em modalidade extensiva e intensiva, visando sempre à finalidade comercial, com implementações nas práticas

sanitárias, alimentares, reprodutivas e manejo geral, que refletem na taxa de desfrute elevando a produtividade e eficiência produtiva (BORGES et al., 2005).

De acordo com SÁ et al. (2007), analisando os experimentos que estudam ganho de peso e características da carcaça e da carne de cordeiros, pode-se notar como são variados os sistemas de terminação de cordeiros. Na Figura 1, verifica-se que da gestação da ovelha até o abate do cordeiro são muitos os caminhos que podem ser seguidos. Para se optar por um deles é necessário antes analisar os fatores internos e externos que afetam os sistemas de produção.

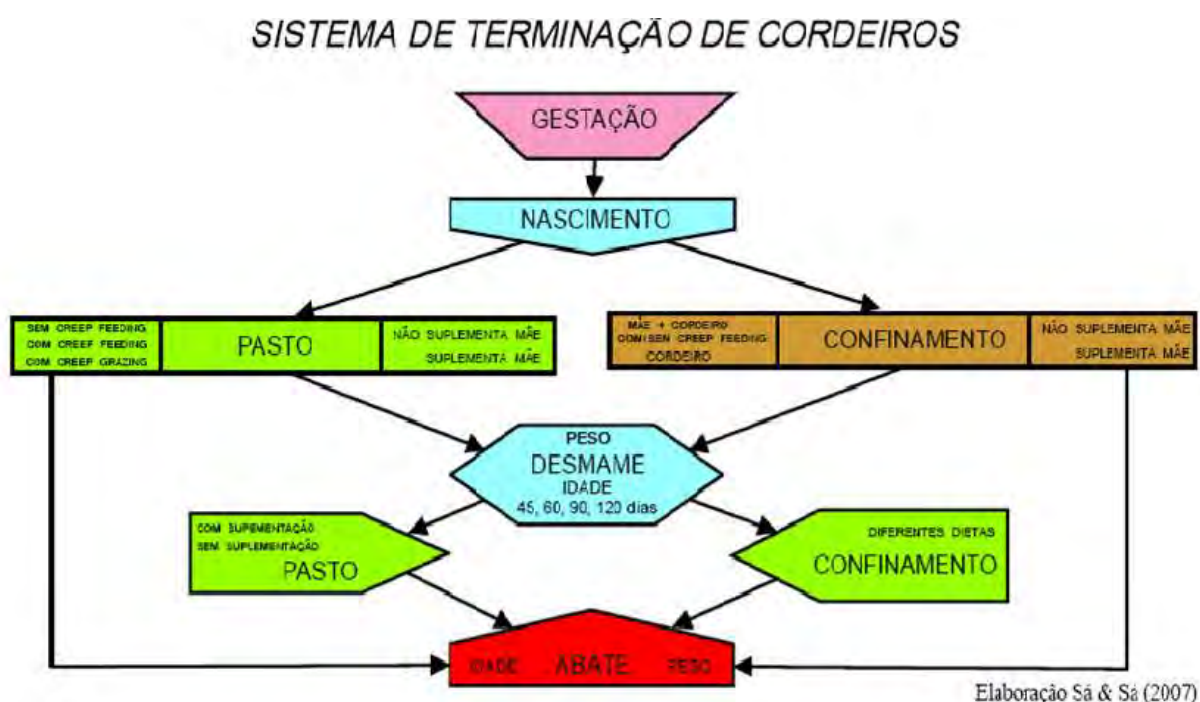


Figura 1. Sistemas de cria, recria e engorda de cordeiros.

Nos sistemas de produção de ovinos de corte, por exemplo, as atividades de manejo devem ser analisadas como um conjunto de ações que compõe um processo produtivo (pré-monta, estação de monta, gestação, parto, lactação, desmama, recria e terminação), pois em cada uma das fases pode-se definir quais os principais aspectos que devem ser priorizados no planejamento e no monitoramento do sistema. Neste contexto destacam-se os riscos sanitários, impactos produtivos e econômicos, além do nível de capacitação técnica e das condições sócio-culturais da mão-de-obra que está executando as atividades de manejo.

- **Produtos x Mercado (Evolução)**
- **Sistemas de Produção (Tipos/Regiões)**
- **Distribuição dos Rebanhos no Brasil**
- **Caracterização dos Produtores (sócio-econômico-cultural)**
- **Tecnologias (tipos/adoção/custo/impacto)**
- **Capacitação da mão-de-obra (manejadores e técnicos)**
- **Expansão da atividade (NE/CO/SE/S/N)**
- **Causas de perdas na ovinocultura**
- **Programa nacional de sanidade de pequenos ruminantes**

3. Aspectos sanitários

Um dos fatores de insucesso na ovinocultura, que se reflete no quadro econômico da produtividade, se deve aos óbitos decorrentes de falhas no manejo sanitário do rebanho.

A incidência de cada doença varia com o sistema de criação. O problema de verminose em animais confinados, por exemplo, é bem menor do que naqueles mantidos no pasto, pois a alimentação que é oferecida deve estar livre de larvas de vermes, reduzindo assim a principal forma de infecção. Já a eimeriose é uma doença freqüente na criação em confinamento e é mais rara em animais em pastejo.

Na Região Nordeste do Brasil, a produção baseia-se na alimentação dos animais com exploração de campos nativos da caatinga, os quais estão sujeitos às estações chuvosa e seca, sendo esta última mais prolongada. Como decorrência, os índices de desempenho são baixos, ocorrendo mortalidade de animais jovens em torno de 20% e idade pra atingir o peso de abate (28 Kg) de 18 meses (GUIMARÃES FILHO et al., 2000). PINTO et al. (2005) aponta o confinamento dos cordeiros como opção durante a época seca, principalmente na região semi-árida, para garantir o ganho de peso dos animais e oferta de carne na entressafra. Da mesma forma, os rebanhos ovinos da região Sul são criados quase que exclusivamente em campo nativo, o que determina baixos índices de produtividade, principalmente pela produção estacional destas pastagens (CANTO et al., 1999).

Dentre os principais problemas sanitários que acometem os rebanhos ovinos no Brasil estão as verminoses, coccidioses, clostridioses, fotossensibilização hepática, mastite, mortalidade de cordeiros, toxemia da gestação, abortos, linfadenite caseosa, pododermatite e ectima contagioso.

- **Fotossensibilização hepática**
- **Mamite em ovelhas de corte**
- **Mortalidade de cordeiros até o desmame**

De acordo com NUNES (2006), um dos principais fatores que afetam os ganhos na produção de ovinos é a mortalidade neonatal de cordeiros. O nível de mortalidade de cordeiros neste período é afetado por uma variedade de fatores relacionados ao manejo e a doenças. ROOK et al. (1990) sugerem que 70% das perdas de todos os cordeiros são devido à problemas nas práticas de manejo e não a doenças infecciosas. Admite-se que agentes infecciosos estão presentes, mas estes são frequentemente oportunistas.

Peso do cordeiro ao nascer, concentração sérica de imunoglobulinas, tipo de parto (simples ou múltiplo), ordem de parto da ovelha e seu comportamento, são fatores que afetam a sobrevivência do cordeiro durante o período neonatal. Aquisição de imunidade passiva advinda do colostro materno está associada fortemente com a proteção contra doenças infecciosas e consequentemente contra a morte de cordeiros na fase inicial de vida (CHRISTLEY et al., 2003). Geralmente a morte do cordeiro ocorre por uma combinação de duas ou mais causas.

NUNES (2006), em estudo realizado no Norte de Minas Gerais com cordeiros da raça Santa Inês (puros e mestiços), relatou taxa de mortalidade neonatal de 27,8%, com maior frequência nas duas primeiras semanas de vida, sendo as principais causas de morte até 90 dias de idade (desmama), pneumonia (35%), inanição/hipotermia (25%). A mortalidade foi maior no grupo de cordeiros oriundos de parto duplo em relação ao simples e também foi mais elevada naqueles cordeiros filhos de ovelhas com escore corporal abaixo de dois. Os principais fatores que predispueram à mortalidade neonatal de cordeiros foram à desnutrição das ovelhas, principalmente aquelas que tiveram parto duplo, as adversidades climáticas e a realização de manejos inadequados para a criação de ovinos.

RIET-CORREA & MÊNDEZ (2001), em estudo realizado no Rio Grande do Sul, relatam que 15% a 40% dos cordeiros nascidos não sobrevivem. Neste Estado, a principal causa de morte neonatal é complexo inanição/hipotermia, responsável por 56 a 78% das perdas, seguidas das distocias (8,6% a 16,7%).

- **Eimeriose (coccidiose)**
- **Pododermatite**

- **Toxemia da gestação**
- **Abortos**
- **Linfadenite Caseosa**
- **Práticas de manejo sanitário (quarentena, isolamento, vacinações, casqueamento, pedilúvio.....)**

Pouca ênfase tem sido dada ao controle de doenças infecciosas em caprinos e ovinos, resultando em consequências sócio-econômicas graves e importantes. A alta frequência de doenças nessas espécies é devida basicamente à falta de acesso a orientação técnica adequada e pela dificuldade de acesso a locais que efetuem o diagnóstico laboratorial. Vale ressaltar que a atividade, em grande parte, é vista por seu aspecto Social, com pouca ênfase no caráter Econômico da atividade. Levantamentos recentes realizados em Minas Gerais (YORINORI & GOUVEIA, 2001; GUIMARÃES & GOUVEIA, 2005) e Ceará (PINHEIRO & GOUVEIA, 2001) indicam que grande parte dos produtores não possuem escrituração zootécnica e financeira da atividade, que na maioria das vezes, é atividade secundária nas propriedades rurais.

No que diz respeito à prevenção e controle de doenças de caprinos ou ovinos, vale ressaltar a situação peculiar que pode ser observada. Para a grande maioria das patologias com relevância na criação de caprinos e ovinos, não há diagnóstico disponível em rotina. E para poucas dispomos no mercado de imunógenos (vacinas e soros imunes) e imunoreagentes para diagnóstico.

4. Aspectos gerais de manejo

- Planejamento e monitoramento do sistema de produção (indicadores produtivos)
- Aspectos Nutricionais (manejo por categoria/exigências nutricionais/reserva alimentar/mineralização/fonte de água)

A alimentação é fator decisivo para a melhoria da produtividade e eficiência dos sistemas de produção. A ovinocultura parece não estar totalmente isenta da inclusão de grãos na dieta de determinadas categorias. As diferenças em ganho de peso dos animais suplementados a pasto são verificadas (CABRAL, 2008) mesmo diante da maior oferta de forrageiras de boa qualidade (MONTEIRO et al., 2007), o que implica em efeito substitutivo no consumo de ração em detrimento ao capim (POMPEU, 2006).

A adição de grãos na dieta de ovinos tem se justificado em situações nas quais a categoria a ser alimentada é exigente, mas também apresenta alto potencial de pagamento da suplementação, em produção, e acima de tudo, adequação econômica ao mercado. Em outras palavras, o uso de grãos na alimentação de ovinos deve estar atrelado a avaliações de conversão alimentar (ganho de peso, em kg/consumo de suplemento, em kg) e aliado a avaliação econômica de tal prática.

- Causas de descarte de animais (mamite/linfadenite/problemas de cascos
- Instalações (densidade animal/localização/separação de categorias/limpeza e higienização)
- Capacitação da mão-de-obra (manejadores e técnicos)

Referências bibliográficas

1. AMARANTE, A.F.T. Controle de endoparasitoses dos ovinos. In: A PRODUÇÃO ANIMAL NA VISÃO DOS BRASILEIROS, SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, FEALQ, 2001, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba, 2001. p. 461-473.
2. BARROS, N.N.; DIAS, R.P.; RIBEIRO, V.Q.; VASCONCELOS, V.R. **Produção intensiva de borregos para abate no Nordeste do Brasil**. Sobral: Embrapa Caprinos, 12p., 2001.
3. CAMERON, N.D.; DRURY, D.J. Comparison of terminal sire breeds for growth and carcass traits in crossbred lambs. **Anim. Prod.**, v.40, p.315-322, 1985.
4. CARNEIRO, R.M.; PIRES, C.C.; MULLER, L.; CARDOSO, A.R.; NETO PERES, D.; VOLLENHAUPT, L.S. Crescimento e conversão alimentar de cordeiros de parto simples e duplo. **Jornal Ovelheiro**, v.12, n.76, p.4-5, 2003.
5. CARVALHO, S.R.S.T.; SIQUEIRA, E.R. Produção de cordeiros em confinamento. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINOCULTURA, 1., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras – MG: UFLA, 2001, p.125-142.
6. COSTA, C.A.F.; VIEIRA, L.S.; PANT, K.P. Valores de eritrócitos e eosinófilos em cordeiros deslanados, antes e depois de medicações anti-helmínticas. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.21, n.2, p.193-201, 1986.
7. EUCLIDES FILHO, K. O melhoramento genético e os cruzamentos em bovinos de corte. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC.1996.35p.
8. FERNANDES, F.D.; BARROS, N.N.; ARAÚJO, M.R.; FIGUEIREDO, E.A.P.; SILVA, F.L.R. **Efeito do genótipo e de níveis nutricionais sobre o desempenho de**

- cordeiros F1 produzidos por cinco raças de carneiros.** In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos. Relatório Técnico do Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos 1988/1995. Sobral, 1996. p. 73-76.
9. FURUSHO-GARCIA, I.F.; PEREIRA, I.G. Manejo de cruzamentos na ovinocultura. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINOCULTURA, 3, 2003, Lavras. **Anais...** Lavras – MG: UFLA, 2003, p. 49-79.
 10. FURUSHO-GARCIA, I.F.; PEREZ, J.R.O.; BONAGURIO, S.; ASSIS, R.M.; PEDREIRA, B.C.; SOUZA, X.R. Desempenho de cordeiros Santa Inês puros e cruzas Santa Inês com Texel, Ile de France e Bergamácia. **Rev. Bras. Zootec.**, v.33, n.6, p.1591-1603, 2004.
 11. GARCIA, C.A.; COSTA, C.; MONTEIRO, A.L.G.; NERES, M.A.; ROSA, G.J.M. Níveis de energia no desempenho e nas características de carcaça de cordeiros alimentados em *Creep Feeding*. **Rev. Bras. Zootec.**, v.32, n.6, p.1371-1379, 2003.
 12. HARRINGTON, R.B. Animal breeding – an introduction. Danville: Intertate Publishers, 1995. p., 167-179. (Chepter 14 – Sheep breeding).
 13. JORDÃO, L.P. Cruzamentos e heterose. **Rev. Criador.**, v.76, p.42-57, 1982.
 14. LEYMASTER, K.A.; SMITH, G.M. Columbia and Suffolk terminal sire breed effects. *J. Anim. Sci.*, v.53, p.1225-1235, 1981.
 15. LÔBO, R.N.B.; MARTINS FILHO, R., FERNANDES, A.A.O. Efeitos de fatores genéticos e de ambiente sobre o peso ao nascimento de ovinos da raça Morada Nova no sertão do Ceará. **Ciência Animal**, v.2, n.1, p.95-104, 1992.
 16. MACEDO, F. A. F.; ZUNDT, M.; MEXIA, A.A. Parâmetros reprodutivos de matrizes ovinas, rebanho base para produção de cordeiros para abate. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.27, n.2, p.127-133, 2003.
 17. MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Efeito da raça do padreador e da época de monta sobre a eficiência reprodutiva de ovelhas deslanadas acasaladas com reprodutores de raças especializadas para corte. **Rev. Bras. Zootec.**, v.27, n.1, p.54-59, 1998.
 18. MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A.; BARBIERI, M.E. Acasalamento entre ovelhas deslanadas e reprodutores especializadas para corte: desempenho produtivo até a desmama. **Rev. Bras. Zootec.**, v.28, n.4, p.706-712, 1999.
 19. MEXIA, A.A.; MACEDO, F.A.F.; ALCADE, C.R.; SAKAGUT, E.S.; MARTINS, E.N.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S.M.; MACEDO, R.M.G. Desempenhos reprodutivos e produtivos de ovelhas Santa Inês suplementadas em diferentes fases da gestação. **Rev. Bras. Zootec.**, v.33, n.3, p.658-667, 2004.

20. OLIVEIRA, G.J.C. A raça Santa Inês no contexto da expansão da ovinocultura. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINOCULTURA, 1, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras – MG: UFLA, 2001, p. 1-20.
21. PEREIRA, J.C.C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 3ª ed., Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 2001.555p.
22. PEREZ, J.R.O.; PILAR, R.C. Raças ovinas e cruzamentos de interesse zootécnico. In: OVINOCULTURA: **Aspectos produtivos**. Lavras:GAO, 2002.
23. QUESADA, M.; McMANUS, C., D'ARAÚJO COUTO, F.A. Efeitos genéticos e fenotípicos sobre características de produção e reprodução de ovinos deslanados no Distrito Federal. **Rev. Bras. Zootec.**, v.31, n.1, p.342-349, 2002.
24. RODA, D.S.; SANTOS, L.E.; DUPAS, W.; CUNHA, E.A.; FEITOZA, A.S.L. Avaliação do peso ao nascer e ao desmame e mortalidade pré-desmame em cordeiros Santa Inês, Suffolk e cruzados Suffolk. **B. Indústr. Anim.**, v.47, n.2, p.153-157, 1990.
25. SILVA, F.L.R.; ARAÚJO, A.M. Características de reprodução e de crescimento de ovinos mestiços Santa Inês, no Ceará. **Rev. Bras. Zootec.**, v.29, n.6, p.1712-1720, 2000.
26. SILVA SOBRINHO, A.G. Aspectos quantitativos e qualitativos da produção de carne ovina. In: A PRODUÇÃO ANIMAL NA VISÃO DOS BRASILEIROS, SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, FEALQ, 2001, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba, 2001. p. 425-446.
27. SIQUEIRA, E.R. **Recria e terminação de cordeiros em confinamento**. In: NUTRIÇÃO DE OVINOS, FUNEP, 1996, Jaboticabal. P. 175-212.
28. SIQUEIRA, E.R.; FERNANDES, S.; MESQUITA, V.S.; MACEDO, F.A. Efeito do peso ao abate sobre a eficiência de produção de cordeiros da raça Hampshire Down terminados em confinamento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, Botucatu, SP,1998. **Anais...**VIÇOSA:SBZ.1998.
29. SOUSA, W.H.;LÔBO,R.N.B.;MORAIS,O.R. Ovinos Santa Inês: estado da arte e perspectivas. In: SINCORTE, 2, 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa – PB, 2003, p.501-522.
30. SOUZA, P.H.F.; SIMPLÍCIO,A.A. Efeito da amamentação controlada ou contínua, sobre o desempenho produtivo de crias da raça Santa Inês. **Ciênc. Vet. Tróp.**, v.2, n.3, p.175-179, 1999.

31. STRIZKE, D.J.; QHITEMAN, J.V.; MCNEW, R.W. Transmitted effect of purebreed versus crossbreed rams on rate and variability of lamb growth. **J. Anim. Sci.**, v.58, p.1138-1143, 1984.

BEM-ESTAR, AMBIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

**Eliane Vianna da Costa-e-Silva¹, Paola Moretti Rueda², Josephina Montanari
Rosa Rangel¹, Carmem Estefânia Serra Neto Zúccari¹**

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
UFMS, Campo Grande, MS

²Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – FAMEZ / UFMS
GERA-MS – Grupo de Estudos em Reprodução Animal do Estado
de Mato Grosso do Sul, UFMS/ CNPq
e-mail: licsilva@nin.ufms.br

1. Introdução

A medicina veterinária tem fundamentado o entendimento da qualidade de vida na saúde animal (SAMBRAUS, 1990). Com esta visão os Cursos de Medicina Veterinária estruturam a formação do profissional que se envolverá diretamente com o animal de produção para prevenir ou identificar e tratar doenças oferecendo em sua grade curricular conteúdos aplicados à *Sanidade*: epidemiologia e doenças infecciosas; *Saúde Animal*: Clínica e Cirurgia e paralelamente a *Zootecnia*, em que oferece-se o aprendizado das técnicas de criação e as disciplinas que envolvem a nutrição, com uma visão voltada para a produtividade. Nasceu aí um paradigma para a ciência veterinária que tinha por tradição o entendimento de que um animal tem uma ótima qualidade de bem-estar se estiver **saudável (livre de doença) e bem alimentado**. Com estas necessidades satisfeitas o animal não teria razão para sofrer. Este conceito esquece fatores fundamentais que fazem parte do bem-estar de um animal e que consiste na satisfação das suas **necessidades etológicas**, que podem resultar em sofrimento psicológico para os quais nós médicos veterinários fomos menos preparados para compreender, diagnosticar e muito menos para solucionar ou tratar (ALGER, 2008).

No mundo, as mudanças do conceito de saúde do animal vem sendo pressionadas pelo mercado consumidor que começou a exigir da cadeia produtiva mais do que a garantia sanitária e de paladar da carne. A demanda internacional conclama por um sistema de produção que respeite o animal e lhe dê garantias de bem-estar do nascimento ao abate. Estas mudanças envolvem uma revisão de hábitos arraigados na lida com o gado, e por isto

são muitas vezes difíceis para o homem do campo, seja ele o peão, o produtor e mesmo o técnico, parecendo às pessoas envolvidas uma preocupação excessiva e dispendiosa com o animal. Mas, aos poucos, aqueles que acompanharam esta evolução conceitual dos produtos de origem animal e modificaram o manejo, adequaram infra-estrutura e treinaram pessoal, perceberam os benefícios à saúde dos animais, à rotina de trabalho, às pessoas envolvidas com o manejo dos animais e principalmente o retorno financeiro agregado a um novo produto mais seguro, nutritivo e saboroso. Isto estimulou os profissionais ligados à produção animal a revisarem seus fundamentos, o que aconteceu mais rapidamente na formação dos médicos veterinários e zootecnistas em países desenvolvidos. No Brasil, essas mudanças são mais recentes e muitos cursos ainda não oferecem disciplinas específicas de Etologia e, muito menos, Bem-estar animal incorporadas ao currículo.

O efeito da doença sobre o Bem-estar animal e sobre a sua adaptabilidade ao ambiente é mais óbvio aos nossos olhos. O efeito de uma laminite, mastite ou uma diarreia aguda sobre um animal é fácil de ser observado, pois refletem-se em vários sinais clínicos reflexos do desconforto, da dor do animal e o tratamento veterinário que reduz as consequências da doença visivelmente melhora o bem-estar do animal. No entanto, muitas vezes, o bem-estar ruim não é só uma consequência de uma saúde ruim, mas também a causa do comprometimento da saúde de um animal e mesmo do rebanho.

Neste contexto, a relação do animal com o ambiente terá papel primordial tanto no processo produtivo em si, garantindo qualidade do produto, como no sentido de garantir bem-estar ao animal *per si* e, por consequência, conferindo satisfação ao mesmo e ao consumidor.

Esta revisão pretende discutir conceitos importantes para a compreensão do Bem-estar, suas causas e consequências sobre a saúde dos ruminantes e o papel do ambiente e da adaptabilidade nesta condição.

2. Bem-estar animal

Muita confusão tem se dado na utilização do termo Bem-estar animal. Isso tem origem na sua aplicação confusa e algumas vezes indevida ou mesmo incorreta de diferentes conceitos por parte daqueles que se arriscam a falar sobre a temática utilizando-se do conceito popular sem o aprofundamento devido na ciência.

O conceito de Bem-estar na língua portuguesa é o “estado de satisfação física ou moral; conforto” (FERREIRA, 2004). O termo popular traz uma referencia a uma *sensação boa* em relação ao ambiente e à condição do indivíduo, envolvendo uma percepção não só física, mas psicológica. No entanto, esse conceito não pode ser estendido para a utilização científica dada ao vocábulo. *Para a ciência*, bem-estar é o “estado de um indivíduo em relação as suas tentativas de se adaptar ao seu ambiente” (BROOM & JOHNSON, 1993).

Essa definição traz implicações interessantes que distanciam o conceito científico do popular: *Bem-estar é uma característica do indivíduo, não é algo que pode ser fornecido a ele*. A ação humana pode melhorar o bem-estar animal, mas não nos referimos como bem-estar o proporcionar um recurso ou uma ação. Bem-estar pode variar entre muito pobre e muito bom. Não podemos simplesmente pensar em preservar e garantir o bem-estar, mas sim em melhorá-lo ou assegurar que ele é bom dando ao animal recursos para que ele alcance uma condição boa de Bem-estar. E também traz implicações que distanciam o conceito científico dos antropomorfismos observados em alguns discursos pouco sustentados na lógica e na filosofia da ciência: a condição de qualidade boa de bem-estar para indivíduos de uma dada espécie é inerente aos componentes neuro-fisiológicos intra-específicos que definirão a sua percepção sensorial e senciência e às necessidades comportamentais, físicas e psicológicas e suas interações com o ambiente que lhe é oferecido. Deduz-se então que estas percepções são, não só, espécie-específicas como tem um componente individual muito forte dependente das experiências de vida de cada um.

Logicamente que a abordagem científica do bem-estar animal demanda que este estado seja medido cientificamente. Independentemente de considerações morais, a sua medida e interpretação deve ser objetiva. Para definir a condição de Bem-estar de um animal tem-se adotado Indicadores de bem-estar animal: fisiológicos, comportamentais, de saúde e produtivos.

2.1. Ambiência e ambiente

Uma vez que o bem-estar animal relaciona-se com o ambiente, é preciso entender o conceito de ambiência para poder relacioná-lo com o objeto de estudo, neste caso o bovino. A ambiência animal refere-se às relações entre o animal e o ambiente que o cerca (SOUZA, 1992).

Ambiente é o espaço constituído por um meio físico e, ao mesmo tempo, por um meio psicológico preparado para o exercício das atividades dos animais que nele vivem (PARANHOS DA COSTA, 2000). O ambiente externo do animal compreende todos os fatores físicos, químicos, biológicos, sociais e climáticos que interagem com o animal, produzem reações no seu comportamento e definem, assim, o tipo de relação animal-ambiente (CURTIS, 1983).

Os fatores físicos do ambiente incluem espaço, arquitetura da pastagem, luz, som e equipamentos; os gases presentes na atmosfera figuram como exemplos de fatores químicos; e a própria natureza do material alimentar representa um fator biológico do ambiente. Os fatores psicológicos incluem o medo, a ansiedade decorrentes de interações sociais inter (interação humano-animal) e intra-específicas que incluem a taxa de lotação, o comportamento e a ordem de dominância, ocasionando disputas por recursos ou espaço (FRASER e BROOM, 1990; EWING et al., 1999).

Além disso, os fatores climáticos: temperatura, umidade relativa do ar, movimento do ar (ventos) e radiação são fonte de estresse agudo ou crônico. O ambiente térmico do animal é composto por elementos como a temperatura, velocidade e umidade do ar e ainda a radiação solar. Muitas vezes, esses componentes ocorrem em valores extremos dificultando a resposta produtiva ou mesmo a sobrevivência do animal (CURTIS, 1983).

2.2. Estresse

Os indicadores fisiológicos de Bem-estar animal estão relacionados com a resposta fisiológica ao estresse. O empobrecimento do bem-estar caracteriza-se por uma resposta endócrina clássica de estresse, liberando inicialmente adrenalina e noradrenalina e posteriormente glicocorticóides.

Como as situações ameaçadoras requerem uma ação vigorosa, as respostas autonômicas e endócrinas que as acompanham são catabólicas, isto é, elas ajudam a mobilizar reservas energéticas do corpo. A adrenalina afeta o metabolismo de glicose, tornando os estoques de nutrientes dos músculos disponíveis para o fornecimento de energia necessária à fuga. Juntamente com a noradrenalina, aumentam o fluxo sanguíneo para os músculos e com isso aumentam os batimentos cardíacos (CARLSON, 2002).

A produção central de hormônio liberador de corticotropina (CRH) resulta em ativação de componentes periféricos do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, conduzindo ao aumento do hormônio adenocorticotrófico (ACTH) que age sobre a glândula adrenal promovendo a síntese e liberação dos glicocorticóides, principalmente o cortisol (RUSHEN *et al.*, 1999). Os glicocorticóides desencadeiam respostas muitas vezes controversas, levam à uma gama heterogênea de ações que vão desde a estímulo de respostas imediatas ao estresse até à supressão de respostas, prevenindo uma superatividade que poderia ser patológica (SAPOLSKY *et al.*, 2000).

Uma excelente definição é dada no livro de BROOM & JOHNSON (1993) de que Estresse é “um efeito ambiental sobre um indivíduo que coloca uma sobrecarga sobre o seu sistema de controle e reduz seu *fitness*, que envolve aumento na mortalidade e insucesso no crescimento ou na reprodução”. Entenda-se o termo *fitness*, sob o ponto de vista ecológico, como sucesso reprodutivo. Nesse caso, por definição, o termo associa situações desagradáveis para um indivíduo como algo que, dependendo da intensidade, da duração ou da capacidade individual de resposta, pode vir a comprometer o desenvolvimento do animal e a reprodução.

O termo estresse também pode ser definido como um sintoma resultante da exposição do animal a um ambiente hostil, com conseqüentes prejuízos para a homeostase. Este animal, por sua vez, responde com uma série de reações não específicas de adaptação, ativando mecanismos físicos e fisiológicos, na tentativa de restabelecer o equilíbrio orgânico (homeostase).

Como as principais respostas ao estresse são mediadas pela adrenalina e cortisol verifica-se uma alteração no quadro leucocitário, minutos após a secreção da primeira, enquanto que as alterações decorrentes da ação dos corticosteróides só se manifestam algumas horas após a submissão ao estímulo estressante. Os achados registrados na literatura no que se refere aos efeitos do estresse sobre o sistema imune são conflitantes e de difícil interpretação. Estas discrepâncias poderiam ser em parte explicadas pelos tipos e duração dos agentes estressores e se os pesquisadores mediram aspectos inatos ou adaptativos do sistema imune (SALAK-JOHNSON e McGLONE, 2009). Neutrofilia e/ou linfocitose são esperadas devido à atividade da adrenalina (JAIN, 1993). A adrenalina liberada sob várias formas de estresse agudo, físico ou emocional, promove uma neutrofilia

transitória (JAIN, 1993), denominada pseudoneutrofilia, em que se detecta uma duplicação do valor normal de neutrófilos sanguíneos, durante dez a vinte minutos. Este aumento seria decorrente do desvio das células do *pool* marginal em direção ao *pool* circulante, atribuído ao efeito β -adrenérgico da adrenalina e redução da aderência dos neutrófilos à parede vascular (GRAHAM, 2000). Os corticóides liberados endogenamente, em resposta ao estresse, promovem uma leucocitose típica com neutrofilia, geralmente sem desvio à esquerda, linfopenia e eosinopenia; em bovinos a monocitose seria um achado inconstante (JAIN, 1993). GRAHAM (2000) afirma que a neutrofilia é moderada (entre duas a três vezes o normal dependendo da espécie animal), porém descreve a monocitose como um fato.

2.3. Bem-estar animal e a susceptibilidade à doença

Uma das conseqüências do bem-estar pobre é o aumento da suscetibilidade à doenças, obviamente que a imunossupressão no estresse crônico contribui vigorosamente para o surgimento de processos infecciosos. Segundo BROOM (1988) a relação entre doenças e bem-estar pode ser estabelecida por meio de três abordagens:

- Dados clínicos relativos a indivíduos doentes;
- Estudos experimentais e levantamentos que comparam a incidência de doenças em diferentes sistemas de manejo ou tratamentos;
- Estudos da funcionalidade do sistema imunológico de indivíduos sob diferentes tratamentos.

Algumas situações podem ser mais diretamente relacionadas com bem-estar pobre que outras, tais como: estabulação, transporte, cirurgias, etc. e ocasionam o surgimento de doenças oportunistas em situações de estresse agudo ou aumentam a incidência de outras sob condições de estresse crônico.

RUTHERFORD et al. (2009) avaliaram a incidência de laminite em rebanhos manejados tradicionalmente ou sob sistema orgânico. Observaram incidência menor de laminite no segundo, e que esse um problema de causas multifatoriais. Dentre os fatores que podem ter favorecido a menor incidência estão o tipo de piso adotado: animais alojados em piso de palha apresentaram menor incidência da doença do que quando alojados em

pisos duros como concreto. Outro fator predisponente é o tempo de espera para a ordenha, pois pode haver uma diminuição ou parada do fluxo sanguíneo para os pés o que teria um efeito deletério.

Algumas alterações clínicas ou índices produtivos são tão estreitamente correlacionados com bem-estar animal que são consideradas indicadores de Bem-estar: lesões de pele, prevalência de desordens do locomotor e mastite, escore de condição corporal, taxa de mortalidade mais elevada, nível de limpeza do animal, contagem de células no leite, além de sinais comportamentais como tempo de descanso, tempo de ruminação (WAIBLINGER et al., 2001, SANT'ANNA et al., 2008). Na literatura outras patologias ainda são associadas ao estresse crônico tais como úlceras gástricas em bezerros, paraqueratose rumenal; abscessos de fígado, cistos foliculares, endometrites (EWING et al., 1999). Atualmente, o comportamento alterado pode funcionar como um sinal preditor da doença, mais especificamente alterações dos comportamentos alimentar e social (WEARY et al., 2009).

Outra consequência do estresse no manejo pré-abate é a perda da qualidade de carcaças pelo aumento de hematomas, surgimento de PSE (*Pale, Soft and Exudative*) que expressa carne pálida, flácida e exudativa; e as carnes DFD (*Dark, Firm and Dry*) denominação dada para carnes escuras, firmes e secas (PARANHOS DA COSTA et al., 2002). O estresse físico resultaria em queda do glicogênio o que ocasionaria o aparecimento de carne DFD (WARRIS, 1984).

2.4. Bem-estar animal e as alterações comportamentais

A relação entre alterações comportamentais e doença é estreita e mais ou menos óbvia: em resposta a alterações clínicas comportamentos anômalos surgem. Por essa razão muitas doenças são conhecidas por seus sinais clínicos comportamentais.

SELYE (1965) denominou o conjunto de reações não específicas do estresse de síndrome da adaptação geral (SAG), subdividindo-a didaticamente em três fases:

- *Reação de alarme* - decorrente da ação da adrenalina, em que se detecta aumento da frequência cardíaca, da pressão arterial, do aporte sanguíneo, da

freqüência respiratória, dilatação dos brônquios, dilatação da pupila com exoftalmia e elevação do número de linfócitos;

- *Reação de resistência* - uma vez que o agente agressor mantenha a sua ação, há hiperatividade do córtex da supra-renal, em que se observa atrofia do timo e das estruturas linfáticas, úlceras estomacais, aumento do número de glóbulos brancos e diminuição do número de eosinófilos;
- *Fase de exaustão* - em que pode ocorrer a morte do indivíduo caso os agentes agressores persistam.

Obviamente que a resposta fisiológica e comportamental do estresse é menos uniforme do que a proposta pela teoria de Selye (BROOM e JOHNSON, 1993). Atualmente reconhece-se que os glicocorticóides são secretados tanto em situações estressantes quanto não estressantes como copula e caça. Além do que há uma grande variação individual na secreção dos glicocorticóides e em muitos casos, tem sido observada uma correlação pobre com efeitos adversos e específicos de diferentes agentes estressores. Estas observações nos levam a ponderar que os glicocorticóides não seriam o melhor indicador do estresse (BROOM e JOHNSON, 1993). Contudo o cortisol ainda é utilizado como um indicador em diversos trabalhos na literatura científica (BOISSY e LE NEINDRE, 1996; BRISTOW e HOLMES, 2007; DAVIS *et al*, 2008; FELDMAN *et al*, 2000; JAIN, 1993).

O estudo objetivo dos comportamentos alterados em animais doentes pode ser definido como *etologia clinica veterinária*: mas esta área de atuação não estuda apenas a expressão comportamental de animais doentes, mas a ontogênese de comportamentos anômalos, a freqüência, forma e organização espacial (FRASER & BROOM, 1990). Segundo BROOM & JOHNSON (1993), comportamentos anômalos podem ocorrer simplesmente por dificuldade de expressar um movimento, podem também ter a origem em falhas da função comportamental; falha na obtenção de um recurso ou por uma frustração específica; por inability de escapar a um perigo iminente. Todas essas explicações se originam de alguma forma na falha do animal em harmonizar-se com o ambiente, perante os diferentes estímulos a que está sujeito sejam eles físicos, biológicos ou psicológicos.

Dentre as alterações comportamentais as que mais impressionam o ser humano são os comportamentos estereotipados, considerados um dos mais importantes e evidentes

indicativos de problemas crônicos com o bem-estar. Estereotipias são comportamentos repetitivos que não apresentam função aparente. Comportamentos estereotipados tem sido descritos em animais estabulados sob condições que comprometam o bem-estar, principalmente ocasionados por ócio, estresse social ou espacial. ISHIWATA et al. (2007) registraram aumento de comportamentos anômalos em bois suplementados quando comparados com animais a pasto, principalmente estereotipias orais tais como lambar-se e aos outros, lambar objetos e enrolar a língua.

Existem na literatura muitas descrições de estereotipias em animais submetidos a manejo intensivo, isolamento social, privação de movimento, ou superpopulação (BROOM & JOHNSON, 1993). As estereotipias mais comuns em ruminantes são movimento do corpo repetitivo lateral ou cranio-caudal (*Rocking, swaying and weaving*); Balançar cabeça ou cauda (*Rubbing*); Virar os olhos (*Eye-rolling*) em vitelos; Enrolando a língua (*Tongue-rolling*) em animais confinados seja gado de leite ou corte; Lambendo uns aos outros (*Licking, crib-whettin ou, allogrooming*) em bezerros, lambar a si mesmo (*self-grooming*); além de sodomia em machos confinados (FRASER & BROOM, 1990; BROOM & JOHNSON, 1993; LAWRENCE & RUSHEN, 1993). Geralmente a solução mais comum para a eliminação das estereotipias é a retirada do fator de estresse, ou seja a melhoria do bem-estar animal.

No entanto, em situações de manejo de rotina em animais livres as atitudes na lida com o animal, as decisões de manejo a infra-estrutura utilizada podem ocasionar comprometimento do bem-estar ainda que em situações temporalmente curtas, mas que levam à condições de estresse agudo e afetam o comportamento imediato e futuro destes animais em situações e locais similares. Dentre as alterações que podem ocorrer, uma que tem sido objeto de estudo, pois é um parâmetro de avaliação da qualidade do manejo do rebanho é a reatividade, um componente do temperamento. O temperamento é definido como o conjunto de comportamentos dos animais em relação ao homem, geralmente atribuído ao medo (FORDYCE *et al.*, 1982). PARANHOS DA COSTA *et al.* (2002) têm adotado uma definição diferenciada para **temperamento** no seu sentido mais amplo, ou seja, o conjunto de traços psicofisiológicos estáveis de um dado indivíduo, determinando suas reações emocionais, que seria um conceito mais amplo do que as medidas notadamente registradas na literatura. Diferentes parâmetros têm sido utilizados para

avaliar temperamento: medindo a tendência dele ser agressivo, ágil, atento, curioso, dócil, esperto, medroso, reativo, teimoso, tímido, etc, registrando um ou outro componente do temperamento.

O aumento da reatividade acarreta maior custo em função de aumentar a demanda de funcionários e o tempo despendido com o manejo dos animais; diminuir a segurança de trabalho, diminuir a vida útil da estrutura de curral, diminuir o rendimento de carcaça e a qualidade de carne devido à contusões e estresse no manejo pré-abate (PARANHOS DA COSTA *et al.*, 2002).

Um fator importante de estresse ao manejo é a *Interação humano-animal*. A qualidade desta relação precisa ser melhor avaliada, pois além do tempo despendido no cuidado dos animais é preciso saber se os estímulos foram positivos, negativos ou neutros; enfim se a interação foi agradável ou não para cada um. Uma rotina de manejo boa certamente pode evitar acidentes com animais durante a vacinação, pesagens, exame andrológico, etc., mas será que poderia evitar perdas como mortalidade embrionária após o diagnóstico de gestação precoce, doenças oportunistas com IBR, ou simplesmente perda de peso, reclamação muito comum.

É inevitável que práticas humanas aversivas ocorram no decorrer da vida do animal, como vacinação, marcação e castração. No entanto, inúmeras atitudes comuns na lida com o animal são perfeitamente evitáveis: elevação da voz, pancadas e utilização de ferrão, seja ele, elétrico ou não. O aumento do nível de medo dos animais pelos humanos determina respostas que dificultam mais ainda o manejo dos animais: maior distância de fuga, dificultando o manejo de alimentação, dos cuidados sanitários, da ordenha e das práticas zootécnicas e resultando em estresse agudo ou crônico.

Há fortes evidências de que existem períodos críticos, como o nascimento e a desmama, para a definição das relações entre humanos e bovinos. Bezerros manejados de forma gentil próximo ao nascimento e ao desmame foram menos reativos à presença humana, com a supressão de respostas agressivas mesmo após muitos meses desde o manejo gentil (BOIVIN *et al.*, 1992; KROHN *et al.*, 2001). Em trabalhos realizados com ratos já se tem evidenciado que o estresse pré-natal sobre a mãe ou os cuidados maternos podem definir um efeito materno futuro sobre o comportamento da progênie, estabelecendo

diferenças individuais em respostas defensivas e estratégias reprodutivas no animal adulto (CAMERON et al., 2005).

A adoção de manejo racional pode melhorar não só a saúde como os índices produtivos e reprodutivos de um rebanho. SILVA et al. (2007) diminuíram o gasto com medicamentos, a taxa de mortalidade, a ocorrência de diarreia e os sinais de desidratação em bezerros de um rebanho leiteiro.

Já há indicações de que é possível modificar a intensidade dessas reações pela seleção, uma vez que vários autores encontraram valores moderados de herdabilidade em diferentes raças, variando entre: 0,17 e 0,58, dependendo do tipo de escore utilizado e da raça (DICKSON *et al.*, 1970; BURROW *et al.*, 1988; MORRIS *et al.*, 1994). Há ainda a possibilidade de amansar o gado, através dos processos de habituação e de aprendizado associativo (condicionamento), durante o manejo (BECKER, 1996).

Manejos sanitários de rotina como vermifugação, sincronização de cio aumentam a reatividade do gado. Os manejos consecutivos no curral acarretam respostas fisiológicas e comportamentais típicas de comprometimento do bem-estar com a ocorrência de sensibilização ao manejo (FERREIRA DA SILVA et al., 2009; RUEDA et al. 2009). RUEDA (2009) observou ainda alterações no leucograma de vacas nelore evidenciando um aumento no valor absoluto de eosinófilos que diminuiu a probabilidade de gestação em vacas Nelore submetidas a Inseminação artificial em tempo fixo.

3. Considerações Finais

A relação entre bem-estar animal e saúde é estreita e bi-direcional caracterizando-se por componentes multifatoriais ambientais que envolvem componentes físicos, biológicos e psicológicos. No entanto, na interface entre os fatores causais e o bem-estar animal encontra-se um forte componente - o ser humano que por meio de atitudes e estratégias de manejo pode interferir positivamente ou negativamente no sofrimento animal.

Referências Bibliográficas

1. ALGER, B. Who is responsible for animal welfare? The veterinary answer. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v 50, Suppl 1, S11, 2008. doi:10.1186/1751-0147-50-S1-S11

2. BOISSY, A.; LE NEINDRE, P. Behavioral, cardiac and cortisol responses to brief peer separation and reunion in cattle. **Physiology & Behavior**, v.61, n5, p.693-699, 1996.
3. BOIVIN, X, LE NEINDRE, P, CHUPIN, J.M. Establishment of cattle-human relationships. **Appl. Anim. Behav. Sci.**, v. 32, p. 325-335, 1992.
4. BRISTOW, D.J., HOLMES, D. S. Cortisol levels and anxiety-related behaviors in cattle. **Physiology & Behavior**, v.90, p.626-628, 2007.
5. BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. **Stress and animal welfare**. London: Chapman & Hall, 1993. 211p.
6. BROOM, DM. The relationship between welfare and disease susceptibility in farm animals. In: Gibson, TE (Eds) **Animal disease – a welfare problem**. London: BVA Animal Welfare Foundation. p. 22-29.
7. BURROW, H.M., SEIFERT, G.W., CORBET, N.J. A new technique for measuring temperament in cattle. AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 17, **Proc....** P.154 – 157, 1988
8. CAMERON, NM, CHAMPAGNE, FA, PARENT, C, FISH, EW, OZAKI-KURODA, K, MEANEY, M. The programming of individual differences in defensive responses and reproductive strategies in the rat through variations in maternal care. **Neurosci. and Behav. Rev.** v. 29, p. 843-865, 2005.
9. CARLSON, N. R. **Fisiologia do comportamento**. 7.ed. Barueri-SP: Manole, 2002.699p.
10. CURTIS, S.E. **Environmental management in animal agriculture**. Iowa: Iowa State University Press, 1983, 409 p.
11. DAVIS, A.K.; MANEY, D.L.; MAERZ, J.C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. **British Ecological Society**, p. 1-13, 2008.
12. DICKSON, DP, BARR, GR, JOHNSON, LP et al. Social Dominance and temperament of Holstein cows. **J. Dairy Sci.**, v.53, n.7, p. 904–907, 1970.
13. EWING, SA, LAY Jr., DC, VON BORELL, E. **Farm animal well-being – stress**

physiology, animal behavior, and environmental design. Upper Saddle River, new jersey: Prentice Hall. 1999. 357p.

14. FELDMAN B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology** 5^aed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1174p.

15. FERREIRA, ABH. **Mini Aurélio – O Dicionário da Língua Portuguesa.** 6^a Ed. Curitiba: Editora Positivo, 2004. 896p.

16. FORDYCE, G, GODDARD, ME, SEIFERT, GW The measurement of temperament in cattle and the effect of experience and genotype. **Australian Soc. Animal Production.** v.14, p. 329-32, 1982.

17. FRANCISCO DA SILVA, AG, RUEDA, P M, ARAÚJO, DG, ZÚCCARI, CESN, COSTA-E-SILVA, EV. Reatividade de Tourinhos Nelore após Manejos Sucessivos In: XI Congresso Internacional de Zootecnia, 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Zootec- 20009. São Paulo: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos FZEA/USP, 2009. v.cd-rom. p.1 – 4

18. FRASER, AF; BROOM, DM. Farm animal behaviour and welfare. 3ed. London: Baillière Tindall, 1990. 437p.

19. GRAHAM S. S. Neutrophils. In: FELDMAN B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology.** 5^a ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.281-296.

20. ISHIWATA, T, UETAKE, K, KILGOUR, RJ, EGUCHI, Y, TANAKA, T. Oral behaviors of Beef Steers in Pen and Pasture Environments. **Journal of Applied Animal Welfare Science,** v.10, n. 2, p. 185–192, 2007.

21. JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology.** Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417p.

22. KROHN, C.C., HAGI, J.G., BOIVIN, X. The effect of early handling on the socialization of Young calves to humans. **Appl. Anim. Behav. Sci.,** v.74, p. 121-133, 2001.

23. LAWRENCE, AB; RUSHEN, J. **Stereotypic animal behaviour – Fundamentals and applications to welfare.** Wallingford: Cab International. 1993. 211p.

24. ORRIS, C.A., CULLEN, N.G., KILGOUR, R., BREMNER, K.J. Some genetic factors affecting temperament in *Bos taurus* cattle. **New Zealand J. Agric. Res.**, v. 37, p. 167–175, 1994.
25. PARANHOS DA COSTA, M.J.R. Ambiência na produção de bovinos de corte a pasto. In: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 18, 2000, Florianópolis, **Anais...** Florianópolis, SBEt, 2000, p.26-42.
26. PARANHOS DA COSTA, M.J.R., COSTA E SILVA, E.V., CHIQUITELLI NETO, M., ROSA, M. S. Contribuição dos estudos do comportamento de bovinos para implementação de programas de qualidade de carne. In: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 20, 2002. Natal, **Anais...** Natal, SBEt, 2002, p.71-89.
27. RUEDA, P. M. **Alterações comportamentais e hematológicas em fêmeas bovinas submetidas a inseminação artificial em tempo fixo.** 2009. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS, Campo Grande – MS, 2009.
28. RUSHEN, J.; TAYLOR, A.A.; PASSILLÉ, A.M. Domestic animals fear of humans and its effect on their welfare. **Appl. Anim. Behav. Sci.**, v.64, p.285-303, 1999.
29. SALAK-JOHNSON, J. L, MCGLONE, J.J. Making sense of apparently conflicting data in the literature about stress and immunity: Aspects of the immune system respond differently to stress. <http://www.depts.ttu.edu/porkindustryinstitute/Topics%20Stress%20&%20Immunity/Stress%20and%20Immunityrevb.doc> Consulta em 19/agosto/2009.
30. SALPOLSKY, RM, ROMERO, M, MUNCK, AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine reviews.** v.21, p.55-89, 2000
31. SAMBRAUS, HH. Applied Ethology – It's task and limits in veterinary practice. **Appl. Anim. Behav. Sci.**, v. 59, p. 39-48, 1998. 1990.
32. SANT'ANNA, A. C.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; Rosa, M. S.; MAGALHÃES SILVA, L. C.; OLIVEIRA, C. R. **O comportamento como indicador do bem-estar de vacas leiteiras confinadas e semi-confinadas.** In: ENCONTRO ANUAL

DE ETOLOGIA, 26. Poços de Caldas: SBEt, 13-16, nov. 2008. **Anais...** CD-Rom

33. SELYE, H. **Stress a tensão da vida** São Paulo: Ibrasa, 2ª ed.1965.
34. SILVA, L. C. M., MADUREIRA A. P., PARANHOS DA COSTA, M. J. R. **Mais carinho no manejo de bezerros leiteiros: uma experiência bem sucedida**. In: XXXXIV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2007, Jaboticabal, cd-rom.
35. SOUZA, C.F. **Eficiência de diferentes tipos de bezerreiros, quanto ao conforto térmico, na primavera e no verão em Viçosa - MG**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - Minas Gerais. 1992. 94 p.
36. WAIBLINGER, S., KNIERIM, U, WINCKLER, C.. The Development of an Epidemiologically Based On-Farm Welfare Assessment System for use with Dairy Cows. **Acta Agric. Scand.**, Sect. A, Animal Sci., suppl. 30, p.73– 77, 2001.
37. WARRIS, P.D. The Behaviour and blood profile of bulls which produce dark cutting meat. **J. Sci. Food Agric.** v.35, p. 863-868, 1984.
38. WEARY, DM, HUZZEY, JM, Von KEYSERLINGK, MAG. BOARD-INVITED REVIEW: Using behavior to predict and identify ill health in animals. **J Anim Sci**, v.87, p.770-777, 2009.

INSTALAÇÕES E SAÚDE EM REBANHOS LEITEIROS

Robson Vilela Sá Fortes

Coordenador Assistência Técnica – Gado de Leite
Equipe Rehagro

Introdução

O bem-estar animal é, atualmente, um assunto de grande interesse; fazendo crescer a preocupação com o sistema de criação dos animais. Avanços na genética, associado à melhor qualidade das instalações, dos equipamentos e da alimentação têm proporcionado melhores índices de conversão alimentar, maior crescimento e maior produção de leite por animal. Por outro lado, o aumento dos preços dos insumos e diminuição dos preços pagos aos produtores levou a queda das margens de lucro, fazendo com que os sistemas de criação se tornassem mais intensivos; onde o espaço por animal foi reduzido em troca de um ambiente controlado capaz de permitir a maximização do nível produtivo individual. A popularização destes sistemas de produção intensiva, muitas vezes sem as condições ideais e até mesmo básicas para seu desenvolvimento, fez com que se levantassem dúvidas sobre o respeito do bem-estar dos animais. Associado à questão do bem-estar animal há também um crescente interesse pelos danos causados por este tipo de produção intensiva no que diz respeito ao meio- ambiente. Os produtores vêm buscando maneiras de melhorar o bem estar dos animais, uma vez que a forma como os animais são mantidos e os cuidados a eles destinados afetam diretamente a sua produção, interferindo de forma negativa ou positiva no resultado econômico e financeiro. Este assunto é de fundamental importância nos sistemas de produção de leite e as instalações desses sistemas estão diretamente relacionadas com a saúde e bom desempenho do rebanho.

Sistema de produção

Toda e qualquer tipo de instalação depende exclusivamente do sistema de produção a ser utilizado, como: sistema de pastejo rotacionado ou contínuo, semi-confinamento e confinamento; e dentro de cada realidade, qual seria o tipo de exploração a ser utilizada. Nunca devemos esquecer que quando fazemos a opção para sistemas

intensivos de produção, estamos de forma automática aumentando seu risco, devendo então, estar conscientes e preparados para isso.

Em qualquer sistema de produção precisamos atingir o principal objetivo das instalações que é proporcionar o máximo de conforto animal, para o melhor desempenho produtivo e conseqüentemente maior lucratividade. A falta de conforto térmico, talvez seja um dos maiores problemas na exploração intensiva de bovinos de leite. A radiação solar, ventilação, temperatura e umidade do ambiente, são os principais eventos que, em conjunto, são os principais determinantes do conforto. Desta forma torna-se necessário criar condições para amenizar esses efeitos negativos causadores de estresse calórico, usando instalações bem dimensionadas e de desenho correto.

Depois da alimentação a reposição de animais tem sido o maior custo dos sistemas de produção de leite, principalmente nos confinamentos. Segundo (Cook et al., 2004), o conforto adequado pode ser a diferença entre 20 e 30 % de leite produzido a mais e uma reposição de até 40%, comum em algumas situações para 25% que seria considerada aceitável para os sistemas de confinamentos.

De acordo com Cook (2007), a produção de leite e a manqueira são os dois principais e primeiros indicadores a serem observados dentro do sistema de produção, e em conseqüência da manqueira, que é uma importante referência da falta de conforto, seguiram vários problemas de saúde como laminite, desordens metabólicas, saúde da glândula mamaria, problemas de reprodução, dentre outros de menor impacto econômico.

Instalações

De acordo com (Friend et al., 1977; Collins et al., 1980), vacas podem ser mantidas com espaço de cocho de 0,2 m por animal sem afetar negativamente a ingestão de matéria seca ou a produção de leite, em sistemas de produção com alimentação *ad libitum*. Contudo, o aumento da densidade animal nos sistemas de produção está ligado à redução das distancias inter-individual e aumento de comportamento agressivo (Keeling and Duncan, 1989), o que pode talvez limitar a capacidade de algumas vacas de se alimentarem.

Em sistemas extensivos de pastagens, o gado sincroniza o comportamento, enquanto uns pastam outros ruminam ao mesmo momento (Miller and Wood-Gush,

1991). Estudos têm mostrado que essa sincronização de comportamento pode ser reduzida quando o gado está alojado de forma intensiva (Miller and Wood-Gush, 1991), talvez pela competição por espaços e outros recursos. Friend and Polan (1974), relataram que apenas 66% das vacas se alimentam ao mesmo tempo quando se tem 0,5 m de cocho por vaca. Recentemente, DeVries et al. (2003a) encontraram que com 0,6m de cocho por vaca, menos de 70% das vacas se alimentam ao mesmo tempo. Esses resultados sugerem que o espaço de cocho por vaca é um limitante para que os animais se alimentem juntos, principalmente nos períodos de pico de alimentação, por exemplo, após a ordenha da manhã. Se o espaço de cocho for limitado, isso levará ao aumento da competição das vacas pela alimentação, fazendo com que algumas vacas mudem a hora de se alimentarem para evitar agressões (Miller and Wood-Gush, 1991), nesses casos as vacas subordinadas terão o acesso ao cocho limitado durante os picos de alimentação, (Friend and Polan 1974). Dessa forma, o aumento da competição por alimento pode reduzir a ingestão de matéria seca e aumentar a taxa de alimentação, possivelmente aumentando o risco de problemas metabólicos, tais como deslocamento de abomaso para a esquerda e acidose ruminal sub-clínica (Shaver, 2002).

Um estudo conduzido por DeVries et al. (2004), na Universidade de British Columbia, foi comparado 0,5 m e 1,0 m de cocho por vaca, com a intenção de permitir um maior espaço entre as vacas no momento da alimentação e uma diminuição das interações agressivas entre as vacas, possibilitando um maior tempo de alimentação e avaliando a condição das vacas subordinadas nos casos de restrição de espaço de cocho. Os autores encontraram que as vacas com maior espaço de cocho tiveram 14 e 10% a mais de acessos ao cocho e total de tempo se alimentando durante o dia, respectivamente, quando comparadas aquelas com menor espaço de cocho. Durante os 90 min após o fornecimento do alimento, obteve-se um aumento de 24% do número de acessos ao cocho, como pode ser observado na figura 1.

Segundo Spencer (2009) o limite mínimo de espaço de cocho por vaca seria de 0,75 e 0,6 m, para vacas de maternidade e vacas em lactação respectivamente.

Respeitar os limites de espaço por animal nas diferentes categorias é fundamental para que tenhamos melhor conforto e conseqüentemente melhor saúde dos animais das diferentes categorias dentro do rebanho leiteiro, com isso diminuindo os problemas e aumentando o desempenho dos animais.

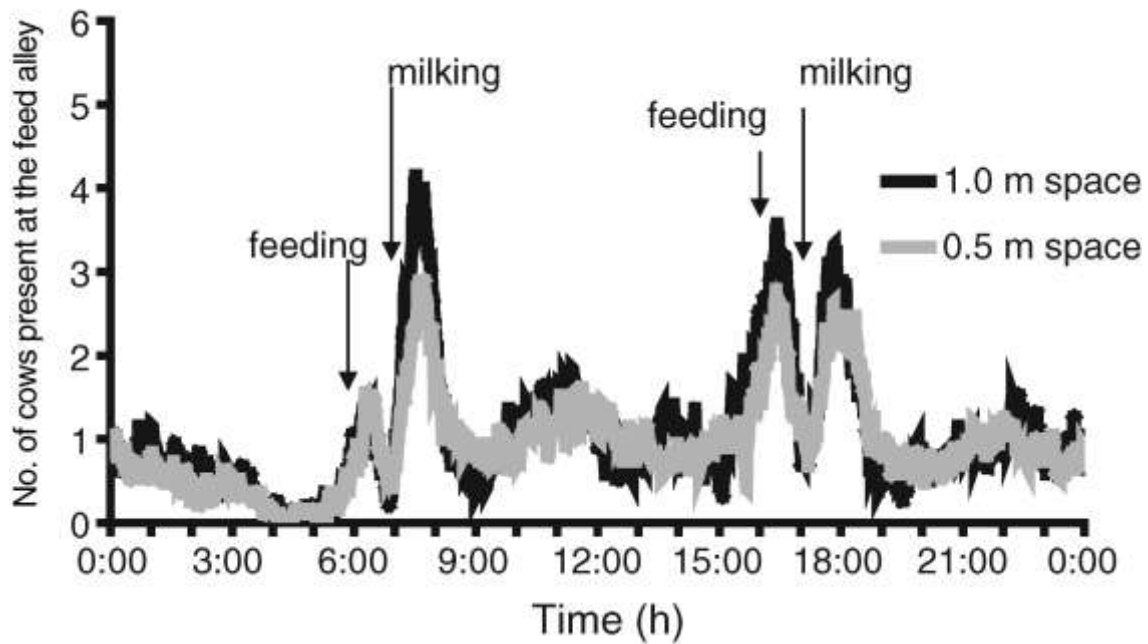


Figure 1. Number of cows per group present at the feed alley over a 24-h period (number for each 60-s interval during the day) for both 0.5 m and 1.0 m feeding space per cow treatments. Data are averaged for 7 d per treatment for 4 groups, each containing 6 cows.

Fonte: DeVries et al 2004

Durante o planejamento e construção de uma nova instalação, devem ser realizadas algumas escolhas, como tipo de piso (superfície), as dimensões, divisões, design e etc., uma opção correta para cada caso é de grande importância para o sucesso da atividade. Investimentos em instalações levam muitos anos para que possam ser depreciados e uma vez mal feitos iremos jogar dinheiro fora.

Em vacas confinadas em sistemas tipo “Free Stall” o piso e a cama vão ter maior influência no conforto e sanidade das vacas. O piso deve ser feito com material que suporte o peso dos animais e ao mesmo tempo cause o menor impacto negativo possível sobre os cascos, sendo que o piso padrão utilizado nas instalações é o concreto, que deve possuir composição, inclinação e design próprio, de acordo com a área onde será utilizado. Estudos têm mostrado que a utilização de pisos de borracha tem maior preferência pelos animais, por serem menos abrasivos aos cascos e conseqüentemente mais confortáveis, mas o custo desse material ainda inviabiliza o seu uso. Superfície de camas macias tem sido sugerido como o aspecto mais importante no design dessa parte da instalação (Nordlund et al., 2004), e a areia é recomendada como sendo o ideal para

esse tipo de superfície para vacas leiteiras (Bickert, 2000), com diminuição das lesões de jarrete (Vokey et al., 2001). Entretanto existem várias outras opções disponíveis para utilização em camas, como: colchões de borracha, serragem dentre outros.

Vacas de leite gastam aproximadamente 8 às 16h deitadas por dia (Dechamps et al., 1989), e entre 35 e 175 min por dia em pé (Stefanowska et al., 2001). Para que isso ocorra é de grande importância um bom manejo de cama, no que se diz respeito à limpeza e reposição.

O pico de atividade das vacas é observado por até uma hora após a ordenha da manhã. Cook et al. (2005), sugerem que esse é o melhor momento para se avaliar a ocupação das camas pelas vacas, e o objetivo é que 85% das vacas se encontrem deitadas, retirando-se do total de vacas as que estiverem se alimentando ou bebendo água, contabilizando apenas as deitadas, de pé sobre a cama ou nos corredores. .

Em um trabalho de Cook et al. (2005), foi encontrado que vacas com colchões para se deitarem possuíam 3 vezes mais chance de desenvolver manqueira de escore 3 e 4 (escala de 0 a 4), do que vacas que tinham areia na cama. Nesse mesmo trabalho houve diferença significativa entre os tempos que as vacas ficavam em pé, 3,44h e 1,83h por dia, para sistemas com colchão e areia, respectivamente.

O tempo em que as vacas ficam deitadas é de grande importância, pois dessa maneira elas diminuem o estresse nos pés, contribuindo para redução dos níveis de manqueira, aumentando o fluxo de sangue para a glândula mamária e com isso favorecendo a produção de leite, aumentando o tempo de ruminação e com isso diminuindo os riscos de acidose ruminal sub-clínica, laminite e aumentando o consumo, dentre outros benefícios.

Tabela 1. Tempo gasto, pelos 10% de vacas que produzem mais leite, e a média do rebanho, comendo, descansando e nos corredores

Atividade	Top – 10%	Média
Comendo(h)	5,5	5,5
Descansando(h)	14,1 ^a	11,8 ^b
Nos corredores(h)	1,1 ^b	2,2 ^a

Fonte: Matzke, 2003

O manejo das camas ainda possui fundamental importância na condição de sujeidade das vacas, influenciando fortemente a sanidade do úbere, camas mal manejadas

aumentam as chances das vacas se deitarem sobre fezes (matéria orgânica) nas camas ou mesmo nos corredores. A verificação dos casos clínicos de mastite ambiental, juntamente com o escore de sujidade deve ser usada como uma ferramenta de identificação de problemas na cama. As fontes predominantes de coliformes e de streptococcus ambientais (*S.uberis*, *S.dysgalactiae*, *Enterococcus* spp.) são fezes e camas. Se mantivermos a limpeza das camas e conseqüentemente das vacas diminuiremos os problemas relacionados à mastite ambiental.

Schreiner e Ruegg (2003) usaram um sistema avaliando o escore de sujidade do úbere na sua face caudal, de acordo com a figura 2 e Cook (2007) também propõe escores de avaliação (figura 3) seguindo a descrição do grau de contaminação de 1250 vacas em 8 rebanhos. Após avaliar higiene do úbere, calcularam a média de 22% de escore 3 e 4 e fizeram uma associação significativa entre a menor higiene do úbere e a aumento linear na prevalência da infecção intramamaria da vaca com um patógeno ambiental. Nesse estudo, constatou-se que as vacas com o escore de sujidade de úbere 3 ou 4 tinham 1,5 vezes mais chances de se infectarem com um patógeno quando comparadas com as de escore 1 ou 2. O estudo descreveu que quando se compara isoladamente apenas o escore da sujidade da parte baixa do membro posterior da vaca (abaixo do jarrete), não se observou uma relação direta de maior sujidade com aumento de contaminação na glândula mamaria por um patógeno ambiental.

Quanto pior o design e o manejo das instalações, principalmente piso e cama, maior será a quantidade de vacas mancadas. O grau de manqueira pode ser classificado em escores, em escala de 1 a 5, sendo 1 a vaca que não apresenta manqueira e 5 a vaca com manqueira severa. Vacas mancadas ficam menos tempo deitadas, por terem dificuldade (dor), em se deitar e levantar, conseqüentemente esse desconforto leva essas vacas a diminuir o consumo de matéria seca e produzirem menor quantidade de leite, como pode ser visto na tabela 2.

Tabela 2. Redução da ingestão de matéria seca e produção de leite de acordo com o escore de locomoção

Escore de locomoção	% de redução Ingestão de Matéria seca	% de redução Produção de Leite
2	1	0
3	3	5

4	7	17
5	16	36

Fonte: P.H. Robinson, Ph.D., Dept. of Animal Science, UC Davis

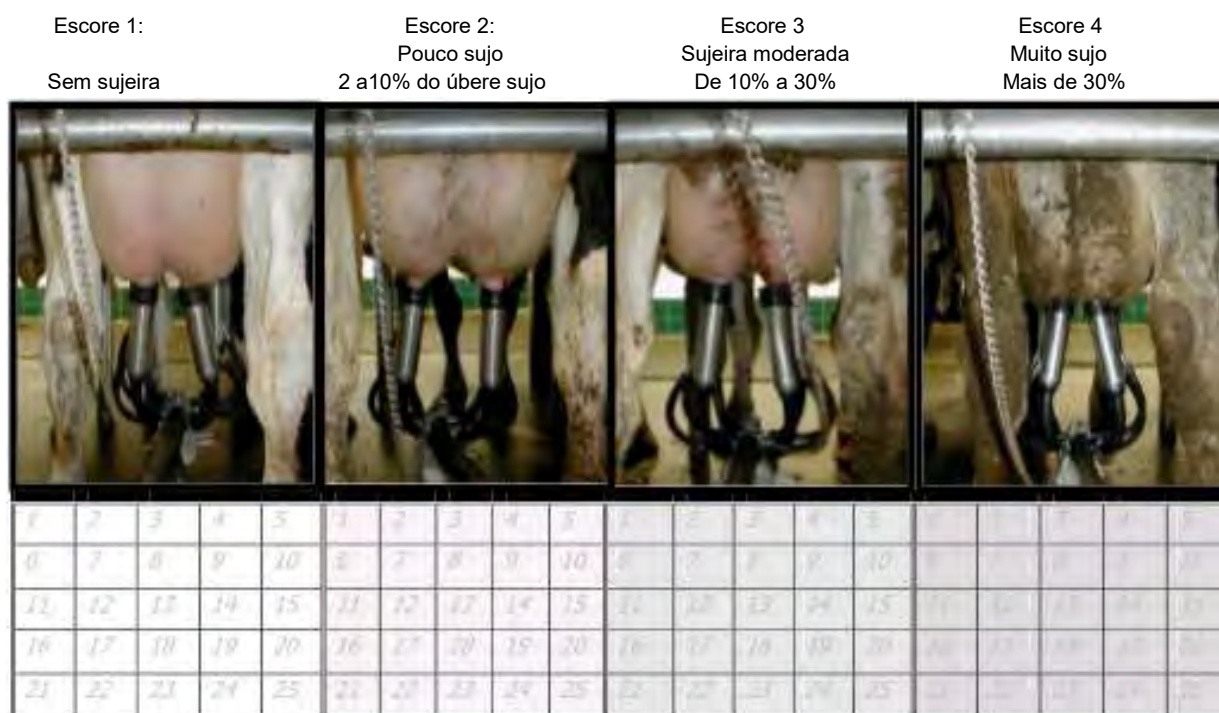


Figura 2. Escore de sujidade do úbere de vacas leiteiras

Fonte: <http://www.uwex.edu/milkquality/PDF/UDDER%20HYGIENE%20CHART.pdf>

Além da perda direta pela diminuição da produção de leite pela vacas com escore de locomoção maior do que 2 têm-se ainda a perda indireta como aumento dos dias em aberto, menor taxa de concepção ao primeiro serviço, aumento da taxa de descarte dentre outras variáveis como pode ser visto na tabela 3.

Tabela 3. Relação entre vacas com escore de locomoção maior que 2 e aumento do risco de falhas reprodutivas.

Índices Reprodutivos	Fator relativo de risco
Dias para 1º Serviço	2,8 x
Dias em aberto	15,6 x

Maior nº de serviços/Concepção	9,0 x
Risco de descarte	8,5 x

Fonte: Adaptado de Sprecher et al., 1997

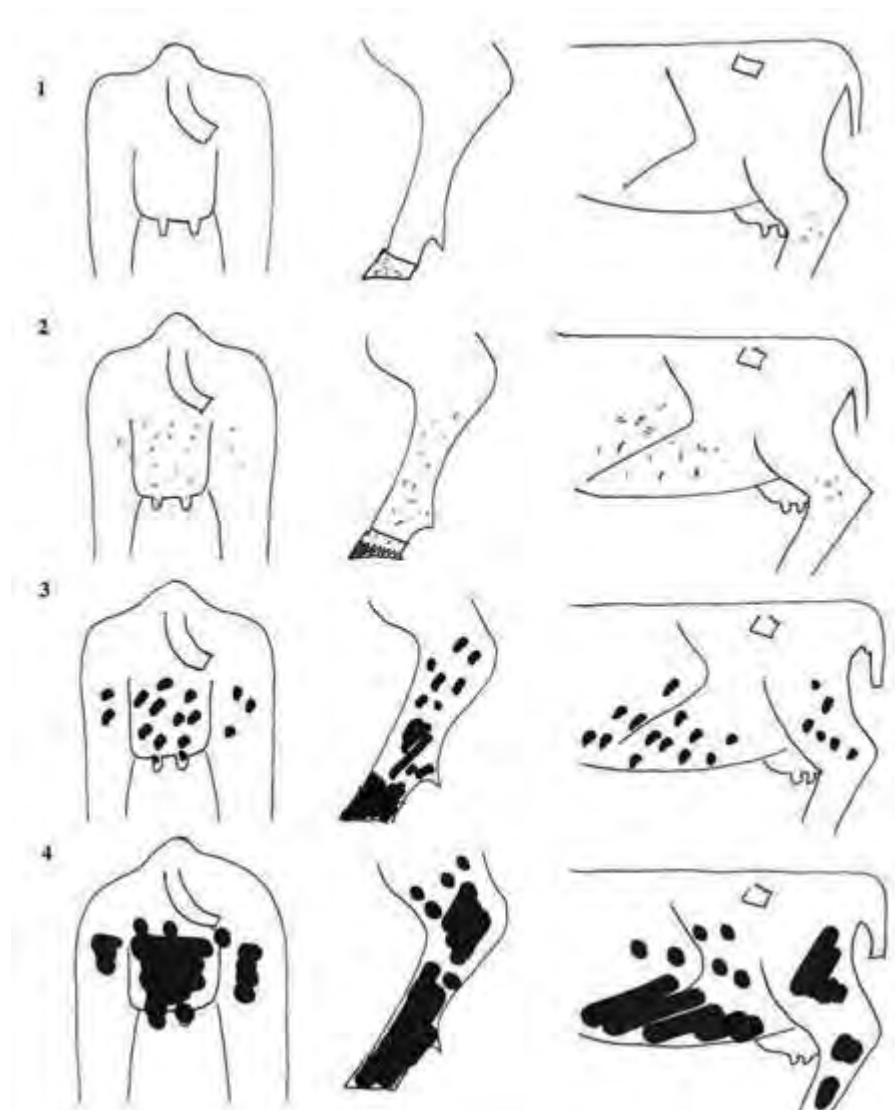


Figura 3. Classificação do escore de higiene, em uma escala de 1-4 em três regiões do corpo: úbere, parte baixa das pernas e parte alta das pernas e flanco.

Fonte: Cook N. B., 2007

Todas essas informações foram obtidas de rebanhos confinados e temos poucas informações científicas a respeito desses problemas nos rebanhos em pasto. Nota-se que nos sistemas de pastejo rotacionado com altas lotações, são sérios os problemas nas áreas de descanso quando essas não são bem planejadas, pois utilizamos desse sistema

no período de verão, que coincide com o maior volume de chuvas do ano, e com isso temos grande acúmulo de lama nas áreas de descanso, as quais deixam de ser áreas de descanso e passam a ser um fator de estresse para as vacas, além do acúmulo de lama também nos corredores. Tudo isso leva a grandes problemas, como aumento nos casos de mastite ambiental, problemas de casco, diminuição da produção por causa da situação de estresse, dentre outros problemas. Devido a isso, um bom dimensionamento das áreas de descanso e largura dos corredores é de fundamental importância para o sucesso do sistema.

Considerações finais

A definição do tipo de sistema, animais e instalações a ser explorado é de grande importância para o sucesso da atividade.

O dimensionamento e design das instalações de acordo com o nível de intensificação proposto terão grande influência nos índices de produtividade e saúde dos animais.

O monitoramento de índices de conforto e produtividade são fundamentais para detecção de falhas e de pontos críticos onde se pode agir para promover melhorias do conforto e da saúde, e, conseqüentemente da produtividade dos animais.

Referências bibliográficas

1. BICKERT, W. G. **Milking herd facilities**. Pages 27–45 in Dairy Free Stall Housing and Equipment. MWPS-7, 7th ed. Midwest Plan Service, Iowa State University, Ames. 2000.
2. COLLIS, K. A., M. J. VAGG, P. T. GLEED, C. M. COPP, B. F. SANSOM. The effects of reducing manger space on dairy cow behavior and production. **Vet. Rec.** 107:197–198. 1980.
3. COOK, N. B., T. B. BENNETT, AND K. V. NORDLUND. Effect of free stall surface on daily activity patterns in dairy cows with relevance to lameness prevalence. **J. Dairy Sci.** 87:2912–2922. 2004.
4. N. B. COOK, T. B. BENNETT, AND K. V. NORDLUND. Monitoring indices of cow comfort in free-stall-housed dairy herds. **J. Dairy Sci.** 88:3876–3885. 2005.

5. COOK, N. B., AND D. REINEMANN. **A tool box for assessing cow, udder and teat hygiene.** Pages 31–43 in 46th Natl. Mastitis Counc. Mtg. Proc. San Antonio, Texas. Natl. Mastitis Counc. Inc., Madison, WI. 2007.
6. DECHAMPS, P., B. NICKS, B. CANABT, M. GIELEN, AND L. ISTASSE. A note on resting behaviour of cows before and after calving in two different housing systems. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 23:99–105. 1989.
7. DEVRIES, T. J., M. A. G. VON KEYSERLINGK, AND K. A. BEAUCHEMIN. Diurnal feeding pattern of lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 86:4079–4082. 2003a.
8. DEVRIES, T. J., M. A. G. VON KEYSERLINGK, AND D. M. WEARY. Effect of feeding space on the inter-cow distance, aggression, and feeding behavior of free-stall housed lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 87:1432–1438. 2004.
9. DEVRIES, T. J., AND M. A. G. VON KEYSERLINGK. Time of feed delivery affects the feeding and lying patterns of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 88:625–631. 2005.
10. FRIEND, T. H., AND C. E. POLAN. Social rank, feeding behavior, and free stall utilization by dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 57:1214–1220. 1974.
11. FRIEND, T. H., C. E. POLAN, AND M. L. MCGILLIARD. Free stall and feed bunk requirements relative to behavior, production and individual feed intake in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 60:108–116. 1977.
12. MILLER, K., AND D. G. M. WOOD-GUSH. Some effects of housing on the social behaviour of dairy cows. **Anim. Prod.** 53:271–278. 1991.
13. KEELING, L. J., AND I. J. H. DUNCAN. Inter-individual distances and orientation in laying hens housed in groups of three in two different-sized enclosures. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 24:325–342. 1989.
14. ROBINSON, P. H., Acessado em:<http://animalscience.ucdavis.edu/faculty/robinson/Articles/FullText/PDF/web200101.PDF> 28/09/2009.

15. SHAVER, R. D. Rumenacidosis in dairy cattle: Bunk management considerations. **Adv. Dairy Technol.** 14:241–249. University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada. 2002.
16. SCHREINER D A; RUEGG P L. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. **Journal of dairy science.** V 86(11):3466-72. 2003.
17. SPENCER, H. Comunicação pessoal. 2009.
18. SPRECHER ET AL., 1997. **Theriogenology** 47:1179
19. STEFANOWSKA, J., D. SWIERSTRA, C. R. BRAAM, AND M. M. W. B. HENDRIKS. Cow behaviour on a new grooved floor in comparison with slatted floor, taking claw health and floor properties into account. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 71:87–103. 2001.
20. NORDLUND, K. V., N. B. COOK, AND G. R. OETZEL. Investigation strategies for laminitis problem herds. **J. Dairy Sci.** 87(E Suppl.):E27–E35. 2004.
21. VOKEY, F. J., C. L. GUARD, H. N. ERB, AND D. M. GALTON. Effects of alley and stall surfaces on indices of claw and leg health in dairy cattle housed in a freestall barn. **J. Dairy Sci.** 84:2686–2699. 2001.

ASPECTOS LEGAIS E TÉCNICOS DOS EFLUENTES E RESÍDUOS EM SISTEMA INTENSIVO DE PRODUÇÃO DE LEITE

Israel José da Silva

Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof. Associado - Escola de Veterinária

Introdução

Até a década de 1970, no Brasil, os dejetos de animais não eram considerados um fator preocupante, pois a concentração de animais era pequena e os solos das propriedades tinham capacidade de absorvê-los.

Com o aumento da produtividade e a concentração de animais por área, este quadro mudou. A preocupação com a poluição do ambiente e, de maneira especial, com os recursos hídricos, tornou a destinação de dejetos de animais e a industrialização de seus produtos uma ameaça ao equilíbrio ambiental de várias regiões do País.

A preocupação com a destinação de efluentes e resíduos teve seu primeiro momento na atividade de suplementar os solos com nutrientes, atividade até hoje muito utilizada. Posteriormente, houve a implantação dos biodigestores no Brasil, devido à crise do petróleo no primeiro plano em 1979 e depois pelos apagões devido a falta de energia. O uso de resíduos na suplementação alimentar dos animais foi também muito pesquisada, mas com a descoberta dos príons e a encefalopatia espongiforme (doença da vaca louca) o Governo Brasileiro proibiu em 1996, através da Instrução Normativa Ministerial nº 15, o uso da cama de aviário ou qualquer outra fonte de proteína de origem animal, provenientes de mamíferos, na alimentação de ruminantes, colocando um fim neste tipo de procedimento.

Hoje com a globalização vivemos sob a égide de protocolos internacionais como o Protocolo de Kioto (Japão, 1997) que preconiza a redução de emissões de gases geradores do efeito estufa e consequentemente com a geração de créditos de carbono.

Pela compra de Créditos de Carbono uma indústria situada em país industrializado poderá compensar a sua poluição comprando créditos, que funcionam como uma medida compensatória. As multinacionais localizadas nos países ricos que não podem reduzir seus níveis de poluição são as principais investidoras. O primeiro período de limitação e redução de emissões começou em 2008 e tem previsão para continuar até 2012, integrando a política do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL). Por meio deste mecanismo,

países desenvolvidos remuneraram aos países em desenvolvimento para reduzirem a emissão dos GEE (Gases do Efeito Estufa), como uma maneira de cumprir parte de seus compromissos.

Para a emissão de outros gases de efeito estufa será usada a equivalência em CO₂, para efeito de quantificação. Está previsto no protocolo, que o preço da tonelada de CO₂, pode variar de US\$3,00 a 5,00 e as multas por tonelada serão de 40€ podendo alcançar cifras de 100€/ tonelada até o ano de 2012. Torna-se oportuno lembrar que somente geram créditos ações de adicionalidade, ou seja, apenas os projetos executados por empresas com acreditação internacional poderiam fiscalizar e remunerar pela não emissão de GEE e projetos construídos sem esta chancela não gozariam destes benefícios.

Até pouco tempo não se cogitava em tecnologias mais eficazes para o controle da poluição ambiental produzida pela bovinocultura. Os sistemas de confinamento total, não estavam tão presentes no cenário. Sistemas como suinoculturas, laticínios e frigoríficos eram na agropecuária o alvo da fiscalização. Entretanto as ações do ministério público tem voltado seu foco para bovinocultura confinada, principalmente nas modalidades de criação como "tie stall" e "free stall" que fazem uso da água nos procedimentos de limpeza e higienização.

É interessante ressaltar que a formação dos profissionais de ciências agrárias que vão trabalhar com estas culturas (veterinários, agrônomos e zootecnistas) tem em sua formação acadêmica uma ênfase muito pequena na pós produção, ou seja, o ensino está voltado para a formação de técnicos que visam uma maior produção, em menor tempo e espaço o que invariavelmente leva a uma maior concentração de carga poluidora para o ambiente. Logo, torna-se necessário, uma adequação do conhecimento para uma forma de produção com maior sustentabilidade ambiental e procedimentos que minimizem a produção do efluente e de sua carga orgânica ou química para o solo, ar ou água.

A retirada de águas pluviais das lagoas, a redução de manejos hídricos na higienização e a remoção de resíduos sólidos antes destes serem lançados estão entre as opções que colaborariam para o padrão de lançamento de resíduos previstos nas instruções normativas do FEAM, IGAM, IEF e CONAMA.

Em resumo, tratar efluentes consiste em: evitar a sobrecarga de matéria orgânica em rios, córregos e lagos; reduzir o risco de transmissão de doenças; agregar valor a produção animal e melhorar a condição física do solo.

A Legislação

A formação profissional nas áreas de produção animal e medicina veterinária tem um perfil tecnicista que visa muito as formas de produção mais eficientes e rentáveis nem sempre levando em consideração a forma sustentável e limpa de se produzir. A Constituinte de 1988 e as Leis, Decretos, Portarias, Instruções Normativas de Órgãos Ambientais, implementaram alguns ajustes de conduta, que deverão reconstruir e reorganizar toda esta arquitetura da forma de se produzir animais e seus produtos.

As certificações nas formas de produção terão de estar em conformidade com o Código das águas Dec. 24.643/34, com as áreas de preservação permanentes (APP) e Reserva Legal e seguir todos os passos previstos para o Licenciamento Ambiental, onde as **Licenças Prévia (LP) de instalação (LI) e de operação (LO)** deverão ser concedidas antes do projeto entrar em atividade.

A **Licença de Operação Corretiva (LOC)** é concedida para empreendimento em operação e a **Autorização Ambiental de Funcionamento (AAF)** é uma licença simplificada dada aos empreendimentos de pequeno porte ou classe 1 e 2 conforme o quadro abaixo:

CLASSES	POTENCIAL POLUIDOR
1	PEQUENO PORTE E PEQUENO OU MÉDIO POTENCIAL POLUIDOR
2	MÉDIO PORTE E PEQUENO POTENCIAL POLUIDOR
3	PEQUENO PORTE E GRANDE POTENCIAL POLUIDOR OU MÉDIO PORTE E MÉDIO POTENCIAL POLUIDOR
4	GRANDE PORTE E PEQUENO POTENCIAL POLUIDOR
5	GRANDE PORTE E MÉDIO POTENCIAL POLUIDOR OU MEDIO PORTE E GRANDE POTENCIAL POLUIDOR
6	GRANDE PORTE E GRANDE POTENCIAL POLUIDOR

Fonte:D. N. COPAM nº 130, 14/01/09. D.E. “Minas Gerais” 16/01/09

Os micro produtores ou microempresas são classificados como **Não passíveis de Licenciamento**.

Por sua vez os empreendimentos serão licenciados de acordo com o ano de início da atividade e de acordo com o potencial poluidor. **Logo empreendimentos com início anterior a 01/06/1983 são isentos de LP** e aqueles **anteriores à 10/03/1981 estarão isentos de LP e LI** e finalmente os empreendimentos **iniciados após 01/06/1983 deverão obter todas as três licenças LP, LI e LO** para funcionarem.

Explorações de bovinos na forma de confinamento como free stall e tie stall são enquadrados na atual legislação conforme o porte (pequeno, médio e grande) e potencial poluidor (pequeno, médio e grande) de acordo **Deliberação Normativa COPAM nº 130, de 14 de Janeiro de 2009**, que Altera os artigos 1º e 5º e a Listagem G - Atividades Agrossilvipastoris do Anexo Único da Deliberação Normativa Copam nº 74, de 9 de setembro de 2004, publicada no Diário do Executivo “Minas Gerais” de 16/01/2009) estabelece o seguinte para o item G-02-07-0 Bovinocultura de leite, bubalinocultura de leite e caprinocultura de leite e dá outras providências

Potencial. Poluidor/Degradador: Ar: P Água: M Solo: M Geral: M

Porte:

de cabeças de $200 \leq 1.000$: Pequeno

Número de cabeças de $1000 \leq 2.000$: Médio

Número de cabeças > 2.000 : Grande

Sendo as classes classificadas conforme o quadro abaixo:

BOVINOCULTURA DE LEITE	CLASSE
DE 200 A 1000 CABEÇAS	1
DE 1000 A 2000 CABEÇAS	3
MAIS DE 2000 CABEÇAS	5

Fonte:D. N. COPAM nº 130, 14/01/09. D.E. “Minas Gerais” 16/01/09

Considerando o porte poluidor, a bovinocultura de leite e bubalinocultura são considerados de pequeno porte quando o número de cabeças estiver entre 200 até 1000 e requerem apenas a **Autorização Ambiental de Funcionamento (AAF)** de 1000 a 2000 cabeças são considerados de médio porte. E acima de 2000 cabeças são considerados de

grande porte e requerem as **licenças LP, LI e LO** para funcionarem. Quando o número de cabeças for inferior a 200 o empreendimento dispensa o licenciamento.

As penalidades aplicadas pelas infrações poderão variar de simples advertência até suspensão parcial ou total das atividades e o valor das atuações oscilam de R\$50,00 até R\$500 mil, podendo atingir cifras de até R\$50 milhões. Entretanto, atenuantes poderão ser aplicadas caso a propriedade possua reserva legal e recursos hídricos e agravantes poderão ser adicionados à pena, se houver riscos de danos à saúde humana ou a propriedades vizinhas e etc...

Perfil dos resíduos

Os sistemas intensivos dependendo do tipo de manejo geram resíduos com variada concentração de sólidos e água, diferente de efluentes urbanos onde 99,9% é água. Na fração sólida entretanto, temos sólidos orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos, além de microrganismos.

Logo a fração sólida é o alvo no tratamento, entretanto, o perfil e composição (física, química e biológica) do efluente é que determinará qual o melhor método para removê-los. Em virtude da classificação destes, é que projetamos o tratamento, pois eles podem ser classificados quanto ao tamanho e estado físico (em suspensão e dissolvidos), pelas características químicas (voláteis e fixos) e pela decantabilidade (sedimentáveis e não sedimentáveis).

Dentro das características químicas, ao se submeter os sólidos a uma temperatura na mufla (550°C) a fração orgânica é volatilizada, ao passo que a fração inerte não. Isto demonstra o perfil do efluente, onde a matéria volatilizada representa a matéria orgânica e a fração inerte representa a parte inorgânica ou mineral.

Considera-se ainda como resíduos sólidos sedimentáveis (expresso em mL/L) aqueles que são capazes de sedimentar no período de 1 hora, em cone Imhoff. Neste caso o sobrenadante será a fração não sedimentável.

Nos esgotos de explorações animais, a matéria orgânica carbonácea, representa o principal constituinte sólido do efluente, responsável pela poluição das águas e pelo

consumo de oxigênio dissolvido, utilizado no metabolismo dos microrganismos para estabilização da matéria orgânica.

A matéria orgânica (M.O) dos efluentes pode apresentar-se de forma solúvel e particulada, podendo ser biodegradável ou inerte. Os componentes da matéria orgânica por sua vez são complexos e de difícil caracterização em laboratório, sendo determinados por métodos diretos e indiretos. Quando se emprega métodos diretos a determinação é feita pelo Carbono Orgânico Total, já nos métodos indiretos mede-se o consumo de oxigênio pela Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e pela Demanda Química de Oxigênio (DQO).

A relação DQO/DBO, no esgoto urbano varia de 1,7 a 2,4, mas nos despejos de explorações de animais em confinamento, esta pode ser de maior magnitude. O tratamento deverá ser dimensionado conforme o tipo de produtos inertes e voláteis contidos nos efluentes e resultantes do material empregado na cama (areia, cepilho, pneu triturado) e na suplementação alimentar (como minerais de alta ou baixa biodisponibilidade de elementos com p ex. P, Ca) empregados no sistema de produção.

Então, a orientação no sistema de tratamento do efluente, seguirá a seguinte ordem: Se a fração inerte não for importante em termos de poluição do corpo receptor o tratamento poderá ser biológico e geralmente com menor custo e complexidade, mas se esta fração for poluidora, a indicação deverá ser de um tratamento físico-químico.

Outras abordagens dentro da ótica do tratamento de efluentes , passam também por elementos que são alvos na legislação, como a concentração de coliformes fecais, nitrogênio , potássio e fósforo que terão que ser ajustados ao padrão de lançamento para o corpo receptor de cada situação em que o empreendimento se encontra.

Na caracterização quantitativa deve-se levar em consideração a vazão e a continuidade ou descontinuidade do descarte dos efluentes. O conhecimento da vazão máxima, média e mínima devem ser avaliadas, quando o descarte for contínuo. O volume e a periodicidade destes, quando as operações forem em bateladas (batch); e a variabilidade de parâmetros passíveis de leitura em campo, tais como condutividade, pH e temperatura, se estes forem exigidos para o padrão de lançamento, quando o resíduo for de um perfil químico específico com alguns metais pesados e agrotóxicos por exemplo.

As Alternativas

Técnicas hoje disponíveis como disposição no solo, esterqueiras, lagoas de tratamento de efluentes, compostagem, biodigestores e reatores anaeróbios em manta de lodo fazem parte de complexos viáveis para o tratamento de efluentes, que não se completam quando empregados isoladamente.

Dentro do novo divisor de águas (efeito estufa e escassez de água) há necessidade de se rever parâmetros do sistema de produção como forma de arraçamento, higienização, consumo de água para bebida e lavagem de instalações em sistemas de "flushing", repensando e desenhando novos sistemas de produção como tie stall e free stall para reduzir de forma efetiva o volume de efluentes líquidos de um estabelecimento. Há leis ambientais que obrigam a adoção de soluções como lagoas e esterqueiras, soluções estas pouco indicadas, devido ao dispêndio de áreas e dificuldade de remoção de lodo ou do transporte deste para disposição no solo.

O aumento e adensamento de unidades produtoras, para redução de custos, economia de escala e a limitação de área para a construção das unidades de tratamento, forçou a migração e criação de novos "clusters" em Estados com maior extensão territorial como Goiás e Mato Grosso, o que adia o emprego de soluções mais eficazes e exporta o problema para outras regiões do País.

Existe uma carência de pesquisas, que adequem tecnologias de tratamento de efluentes de bovinocultura criados em larga escala, com escassez de água e alta concentração de efluentes, que sejam acessíveis ao produtor. Há uma deficiência na formação de técnicos que entendam o processo dentro das vertentes química, física e microbiológica, para a partir daí, se criar uma legislação pertinente à redução do impacto poluidor da atividade.

Nas tendências mundiais o cenário não é confortável para o produtor, pois legislações como a européia e a americana são cada vez mais restritivas e incorporam em seu bojo, conceitos como o balanço de N e P. No Brasil, a resolução do CONAMA, IN 357 de 2005, estabelece padrão de lançamento de efluentes em corpos de água. E a IN 375 de 2006 do mesmo órgão regulamenta a aplicação de lodo no solo. A pressão dos mercados compradores do primeiro mundo, impõem restrições de compra, para as empresas que não respeitam o meio ambiente. A escassez de água e o pagamento pelo seu uso, vão requerer

tecnologias restritivas na produção animal. Finalmente, o apelo ao bem estar animal e qualidade de alimentos, implicarão em maiores áreas para produção (selo verde).

As Estratégias

A implementação de técnicas para a remoção de poluentes das águas residuárias de sistemas confinados de bovinos, deve ser feita com cautela, pois na concepção atual, pensa-se primeiro em instalar os animais e então ajusta-se o sistema de tratamento ao projeto já concebido. Isso gera custos altos na adequação devido a filosofia de construção pensando-se primeiro no animal, mas negligenciando totalmente as opções da forma de tratamento dos efluentes, o que não raro, acaba por onerar os custos na construção de lagoas, canaletas, bombeamento de chorume e/ou água. A concepção dos novos projetos deve ser integrada (forma de produção, legislação, captação e tratamento). Vários projetos em outros tipos explorações como na suinocultura, tiveram que ser interditados e só após a adequação, obtenção de licença de operação corretiva (LOC), retornaram a atividade

Na concepção e contrato destes projetos, o efluente não passa por um separador de sólidos que seria de grande valia para uma menor produção de lodo e consequentemente uma redução na frequência da limpeza das câmaras de lodo e de tanques. Novamente se repetem os erros do passado onde a pressão para adoção de uma tecnologia não leva em consideração o custo benefício, a durabilidade e o do perfil do resíduo a ser tratado e qual beneficiamento seria mais adequado para esta ou aquela propriedade. Estes fatores pesarão fortemente para o descrédito da tecnologia e desestímulo do produtor.

Qualquer forma de tratamento de efluentes deverá considerar o tamanho do empreendimento e a área de solo disponível, a disponibilidade dos recursos hídricos e a outorga para usá-los, a classe de água onde os efluentes serão lançados, a capacitação da mão de obra, a legislação ambiental local, o rigor da fiscalização, e a aprovação de inovações tecnológicas junto ao órgão ambiental local.

Os sistemas de produção para a bovinocultura, em decorrência da grande variabilidade dos efluentes das propriedades, deverão ter um projeto específico para outorga do uso de água (existe uma grande variabilidade nas formas de captação da água e as políticas para o uso desta já são regulamentadas pelo decretos estaduais 44.574 de

22/06/200, 44.844/08 de 25/06/2008.e comitês de bacias Hidrográficas, implicando em concepções diferentes para cada projeto). O padrão de remoção de patógenos e nutrientes, serão de acordo com a outorga e o lançamento compatível ao corpo receptor, de acordo com a classe de água conforme a Deliberação Normativa do COPAM 010/1986 -art. 2º que classifica as coleções de água em 5 classes e cada uma com seu uso preponderante e dispostas de forma hierárquica da classe um (1) que pode ser usada com uma simples desinfecção até classe 3 (três) que deverá ser submetida ao tratamento clássico para o uso. As normas descritas no Relatório de Política Ambiental do COPAM, abaixo, detalham de forma resumida os requisitos para a implantação de um Projeto.

Relatório de política ambiental segundo normas do COPAM (Conselho Estadual de Política Ambiental)

1-Informações específicas:

1.1-área construída e total

1.2-tipo de mão-de-obra

2-Processos produtivos:

2.1-lay out do empreendimento

2.2-equipamentos - filtros, bombas, tanques

3.3-fluxo do processo - tempo da operação /produtos intermediários e finais / mensal.

3-Insumos e produtos

3.1-consumo de rações e matéria prima usada

4-emissões - incluir

4.1-DBO, DQO, O2 dissolvido, SDT, etc.

4.2-composição dos efluentes líquidos (fertilização)

4.3-tipo: efluente contínuo, descontínuo, período;

5-Águas pluviais

5.1-precipitações médias

5.2-destinação de águas pluviais

6-Sistema de controle de tratamento de efluentes líquidos

6.1-relação de todos os sistemas

6.2-capacidade e motivo de escolha

6.3-área e volume

6.4-composição físico química

Anexar croquis, mapa das construções e disposição final efluentes líquidos, sólidos e para fertirrigação, análise e monitoramento destes.

Conclusão

Um País como o Brasil, com vocação para exportação de produtos agropecuários, têm que urgentemente evoluir para adotar o tratamento na forma integral, e assim evitar impactos ambientais. São paradigmas difíceis de serem quebrados, pois se o resíduo não gera receita direta, há necessidade de considera-lo como custo.

As minas de cobre de Montana-EUA conforme relato de Diamond (2005), foram fechadas por pressão popular, pois o custo do passivo ambiental gerado tornava o grama do cobre americano, insustentável, quando comparado ao cobre extraído no Chile, entretanto, as políticas para extração do metal nesse País, possivelmente não agrega custos do passivo ambiental e de saúde pública.

Este exemplo se encaixa bem ao quilograma da carne e do litro de leite produzidos no Brasil, altamente competitivos, quando comparado aos países que os subsidiam, mas nós técnicos teremos de nos preocupar com o passivo gerado. A nossa legislação sem um suporte técnico adequado, determina metas da nossa área de atuação, muitas vezes restritivas a um crescimento sustentável do setor.

Com a legislação cada vez mais rigorosa no primeiro mundo, cabe ao Brasil avaliar as consequências futuras e o queremos. O País necessita ter fortes políticas de proteção ambiental, visto a dimensão territorial para a produção animal e os mananciais de água potável que possuímos. Negligenciar os impactos destas atividades é comprometer todo o nosso futuro nos segmentos agrossilvopastoris do País. Neste caso, a qualidade dos produtos não poderá ser balizada pelas características organolépticas e sanitárias, mas produzidos também, sem a geração de um passivo ambiental que recaia para as futuras gerações.

Referencias

1. <http://www.cnpsa.embrapa.br/invtec/index.html>
2. Colapso; Como as Sociedades Escolhem o Fracasso ou o Sucesso; Jared M. Diamond; 2005, 689p.
3. Construção e operação de biodigestores. Batista, L. F. EMBRATER, Brasília, 1981, 45p.
4. Decreto Nº 44.844, 25 de junho de 2008. Publicado no Diário executivo Minas Gerais de 26/06/2008.
5. Deliberação Normativa COPAM nº 130, de 14 de Janeiro de 2009. Diário do Executivo “Minas Gerais” 16/01/2009)
6. Deliberação Normativa do COPAM de 10/12/1986 publicada no Diário Executivo Minas Gerais em 10/01/1987.
7. Suinocultura, meio ambiente e competitividade. Miele, M. & Kunz, A. Suinocultura Industrial; Nº07; ano 30; 2007;p 26-29.
8. VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 2ed. 2004, DESA/UFMG, editora SEGRAC, 243p.
9. VON SPERLING. M., Lagoas de Estabilização, 2ed. 2002, DESA/UFMG, editora FCO, 196p.