

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

FAUSTO HENRIQUE VILELA RESENDE

**Investigação de infecções para Leptospirose e
Neosporose em vacas Nelore**

UBERLÂNDIA - MG

2018

FAUSTO HENRIQUE VILELA RESENDE

**Investigação de infecções para Leptospirose e
Neosporose em vacas Nelore**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária, curso de
graduação em Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia.

Orientador: Felipe Antunes Magalhães

UBERLÂNDIA – MG

2018

FAUSTO HENRIQUE VILELA RESENDE

Investigação de infecções para Leptospirose e Neosporose em vacas Nelore

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária, curso de
graduação em Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia.

Uberlândia,

Banca examinadora:

Prof. Dr. Felipe Antunes Magalhães

Orientador FAMEV-UFU

Profa. Dra. Anna Monteiro Correia Lima

Professora FAMEV-UFU

Médico Veterinário Müller Carrara Martins

Mestrando do PPGCV FAMEV-UFU

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por me dar paciência, coragem e disposição para conseguir atingir meus objetivos.

Ao meu orientador Prof. Felipe Antunes Magalhães que me ajudou e me ensinou bastante dentro de sala de aula e durante todo o projeto, onde dedicou parte do seu tempo para este estudo.

Às pessoas do Laboratório de doenças infectocontagiosas/Doenças Bacterianas dos animais domésticos da Universidade Federal de Uberlândia, em especial a Profa. Dra Anna Monteiro Correia Lima, Danilo Mundim e Vinícius onde todos foram muito profissionais e competentes em seus respectivos trabalhos.

Às pessoas do Laboratório onde foi realizado os exames de Neosporose, em especial à Flávia Batista, Prof. Dr. José Roberto Mineo, Prof. Dr. Tiago Mineo e Ana Cláudia Pajuaba, onde todos foram extremamente competentes, atenciosos e pacientes com nós.

Aos meus pais Fausto Antônio de Resende e Beatriz Junqueira Vilela Resende, pela força e apoio que sempre me deram para tudo em minha vida, que são meu porto seguro e nunca me abandonaram em nenhum momento da vida.

Aos meus amigos Victor Rabelo, Lucas Melo, Guilherme Cassiano, Hugo Carvalho, Muller Carrara, Iago Leão Matheus Franco, Arthur Medeiros, Robert Cunha, Gustavo Sussmann, Natália Monção, Pamella Cássia, Iago Santos, Pedro Geraldo, Otávio Lemos, Yago Fernandes, Eduardo Cairo, pela agradável convivência que tivemos durante esses anos, e grandes amizades que vamos ter para a vida.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Índice reprodutivo de todas as vacas da Fazenda Experimental Capim Branco no ano de 2017 | 28 |
| Figura 2. Índices reprodutivos de todas as vacas da Fazenda experimental Capim Branco no ano de 2018..... | 29 |

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Relação de 50 animais reagentes e não reagentes contra anticorpo anti-*Leptospira spp* e seus respectivos índices reprodutivos do ano de 2017 em Uberlândia-MG 23
- Tabela 2. Relação de 50 animais reagente e não reagentes contra IgG anti-*Neospora caninum* e seus respectivos índices reprodutivos do ano de 2017 em Uberlândia-MG.....23
- Tabela 3. Relação de 25 animais reagente e não reagentes contra anticorpo anti-*Leptospira spp* e seus respectivos índices reprodutivos do ano de 2018 em Uberlândia-MG.....24
- Tabela 4. Relação de 25 animais reagente e não reagentes contra IgG anti-*Neospora caninum* e seus respectivos índices reprodutivos do ano de 2017 em Uberlândia-MG.....24
- Tabela 5. Soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira ssp.* no teste de soroaglutinação de 50 vacas na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Uberlândia em 2017.....25
- Tabela 6. Soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira ssp.* no teste de soroaglutinação de 25 vacas na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Uberlândia em 2018.....25
- Tabela 7. Animais da Fazenda Experimental Capim Branco que não eram reagentes contra anticorpo anti-*Leptospira spp* em 2017 e passaram a ser reagentes em 2018 e suas respectivas titulações.....26
- Tabela 8. Animais da Fazenda Experimental Capim Branco que não eram reagentes contra anticorpo anti-*Neospora caninum* em 2017 e passaram a ser reagentes em 2018.....27
- Tabela 9. Animais sororeagentes contra anticorpo anti-*Leptospira spp* no ano de 2017 e seus respectivos índices reprodutivos no ano de 2018 na Fazenda Experimental Capim Branco em Uberlândia MG.....27

Tabela 10. Animais sororeagentes contra anticorpo anti-*Neospora caninum* no ano de 2017 e seus respectivos índices reprodutivos no ano de 2018 na Fazenda Experimental Capim Branco em Uberlândia MG.....28

Tabela 11. Animais sororeagentes contra anticorpos anti-*Leptospirase spp* e anti-*Neospora caninum* no ano de 2017 e seus respectivos índices reprodutivos no ano de 2018 na Fazenda Experimental Capim Branco em Uberlândia MG.....28

RESUMO

Objetivou-se investigar a ocorrência de problemas reprodutivos e doenças como leptospirose e neosporose em vacas Nelore da Fazenda Experimental Capim Branco da Universidade Federal de Uberlândia. Foram coletadas amostras de sangue de 50 vacas, as quais não possuíam histórico de vacina contra leptospirose, onde foram feitos os exames de leptospirose e neosporose. Após isso, todas essas vacas receberam vacina contra leptospirose com um reforço após 30 dias, e então iniciaram a estação de monta. Numa segunda parte do trabalho foi coletado sangue de 25 vacas, para realizar novamente os exames de leptospirose e neosporose. Para o exame de leptospirose, foi realizado o teste de soroaglutinação microscópica em campo escuro, e para o exame de Neosporose, foi realizado o teste de sorologia de IgG total-ELISA, e após os resultados, esses foram discutidos numericamente. A prevalência observada de leptospirose nos animais foi de 56% em 2017 e de 100% em 2018, sendo que os sorovares mais frequentes foram Sjroe, Wolffii e Pomona. No ano de 2017 foi observado 52% dos animais reagentes contra anticorpo anti-*Neospora caninum* e no ano de 2018 notou-se 88% de reagentes. Quando analisaram animais reagentes para as duas doenças simultaneamente através do diagnóstico realizado em outubro de 2017, observou-se uma taxa de parto no final de 2018 muito baixa, de 58%. O índice de prenhez desses animais em 2017 e 2018 foram 81 e 66%, respectivamente. Conclui-se que na fazenda existe leptospirose, mas não indica que os animais estão doentes. Já Neosporose é uma doença presente no rebanho.

Palavras chave: aborto, prenhez, reprodução

ABSTRACT

The objective was to investigate to investigate the occurrence of reproductive problems and diseases such as Leptospirosis and Neosporosis in cows of the Fazenda Experimental Capim Branco of the Federal University of Uberlândia. Samples were collected from 50 cows, which had no history of leptospirosis vaccine, where Leptospirosis and Neosporosis were performed. After that, all these cows received leptospirosis vaccine with a booster after 30 days, and then started the breeding season. In a second part of the work blood was collected from 25 cows, were used to retest the leptospirosis and neosporosis later. For the leptospirosis test, the microscopic sero-agglutination test was performed in the dark field (MAT), and for the Neosporosis test, the serology test for total IgG-ELISA was performed. The prevalence observed was 56% in 2017 and 100% in 2018, with the most frequent serovars being Sjroe, Wolffi and Pomona. In the year 2017, 52% of the reactive animals were observed against anti-Neospora caninum antibody and in 2018 88% of reagents were observed. When they analyzed reanimating animals for both diseases simultaneously through the diagnosis performed in October 2017, they observed a very low birth rate at the end of 2018 of 58%. The pregnancy rate of these animals in 2017 and 2018 were 81% and 66%, respectively. Therefore it observes data that is not desirable for a beef cattle property. Therefore, it is necessary that measures be taken, such as treatment of these animals, diagnoses of other diseases not studied, among others.

Key word: (abortion); (pregnancy); (reproduction)

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 OBJETIVO | 12 |
| 2.1 Objetivo Geral | 12 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 12 |
| 3.1 Considerações gerais..... | 12 |
| 3.2 Agente etiológico | 12 |
| 3.3 Vias de transmissão e infecção | 13 |
| 3.4 Patogenia do agente | 14 |
| 3.5 Leptospirose em bovinos | 14 |
| 3.6 Diagnóstico..... | 15 |
| 3.7 Tratamento..... | 17 |
| 3.8 Controle e prevenção..... | 18 |
| 3.9 Neospora | 19 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 20 |
| 5 RESULTADOS | 23 |
| 6 DISCUSSÃO | 29 |
| 7 CONCLUSÃO | 32 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 33 |
| ANEXOS: | 37 |

1 INTRODUÇÃO

O rebanho brasileiro apresenta em torno de 220 milhões de animais onde 10,76% desses se encontram no estado de Minas Gerais, tornando esse estado portador do segundo maior rebanho brasileiro. O país é o segundo maior produtor de carne do mundo, representando 14,4% da produção global (CARMADELLI J.C., 2017). Esta produção é bastante significativa, mas, apresenta inúmeros entraves, pois a produtividade do rebanho no Brasil se situa em patamares desfavoráveis no cenário internacional (MARQUES, 2008).

Para aumentar a produtividade, algumas medidas estão sendo adotadas, alterando-se assim diversas práticas e manejos (PFIZER, 2000). Tais medidas são: aumentar a movimentação de animais, aumentando incidência de animais novos no rebanho, adoção de práticas de manejos reprodutivos como a inseminação artificial, aumento de confinamentos, entre outros. No entanto, a adoção dessas práticas sem o devido cuidado com a sanidade, podem se tornar diferentes portas de entrada para a introdução, manutenção e disseminação de doenças transmissíveis como a leptospirose dentro do rebanho (MARQUES, 2008).

A Leptospirose é considerada uma doença infectocontagiosa provocada por bactérias do gênero *Leptospira* podendo acometer animais domésticos, silvestres e humanos (ELLIS, 1984; DRAGHI et al., 2011). A doença é bastante importante na área da pecuária por gerar perdas econômicas relacionadas à reprodução e produção animal (ELLIS, 1984; DRAGHI et al., 2011).

A Leptospirose também está relacionada a diferentes sinais clínicos que podem levar o animal a morte, dependendo do sorotipo envolvido e da idade do animal acometido (HOMEM et al., 2001). Quando está presente nos rebanhos, sua difusão é rápida, podendo alcançar altos índices de morbidade, podendo se tornar mais graves em animais jovens (ALMEIDA, 1999).

Outra enfermidade que pode causar perdas econômicas e diminuição da produtividade animal é a Neosporose, causada pelo protozoário *Neospora caninum*. Mesmo tendo sido uma doença descrita primeiramente em cães, é uma doença muito importante no cenário econômico da bovinocultura devido aos problemas reprodutivos causados, levando a prejuízos (DUBEY, 1999). O canino, animal muito comum em propriedades rurais é o hospedeiro definitivo abrigando o protozoário e excretando oocistos nas fezes, podendo transmitir a doença para os hospedeiros intermediários, onde o bovino é eleito como um dos principais (MCALLISTER, 1998).

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Analisar índices reprodutivos como intervalo de parto, repetição de cio e aborto, a prevalência e as consequências da leptospirose e neosporose em um rebanho de vacas nelore na Fazenda Experimental Capim Branco da Universidade Federal de Uberlândia, localizada em Uberlândia-MG

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Considerações gerais

A leptospirose bovina é de distribuição mundial ocorrendo com mais intensidade na estação das chuvas em países tropicais e no outono-inverno nos países temperados. Dentre os vários sorovares existentes da Leptospirose, cada sorovar é mais prevalente em uma determinada região, devido à associação com hospedeiro os quais são os reservatórios de infecção, sejam eles natural ou de manutenção (MARQUES, 2008).

As condições climáticas e ambientais são fatores que influenciam na transmissão indireta, pois a sobrevivência da leptospira é beneficiada pela temperatura de 28°C, pela água estagnada e pela umidade alta (GOMES, 2015).

No Brasil a maioria dos casos relatados de leptospirose humana, está inteiramente ligado às condições de vida da população, onde os mais afetados possuem de 20 a 49 anos com maior ocorrência em profissionais como: veterinários, pescadores, caçadores, agricultores e bombeiros. A letalidade dessa doença é da ordem de 5 a 20%, e possui um tratamento com alto custo (BRASIL, 2004).

3.2 Agente etiológico

A bactéria leptospira, pertencente a classe *Eubacteriales*, de ordem *Spirochaetales* e de família *Leptospiraceae* pode ser classificada em dois tipos, uma baseada em sua genética ou baseada nos determinantes antigênicos, sendo que em ambos os grupos, há espécies saprófitas e patogênicas. O primeiro grupo, que não é um causador de doença, é constituído por (*Leptospira biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *Turneria parva* e *Leptonema illini*). Já o grupo causador de doença é constituído por (*Leptospira interrogans* “*sanso stricto*”, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. inadai*, *L. noguchii*, *L. weilli*, *L. kirshneru* e *L. faineii*) (LEVETT, 2001). O mesmo autor ainda afirma que o sorovar que é a composição antigênica

das cepas de leptospira é determinado por aglutinação microscópica com absorção de aglutininas cruzadas. Esses sorovares foram divididos em sorogrupos, onde se encontram 23 sorogrupos e aproximadamente 230 sorovares.

(LEVETT, 2011) ainda destaca que é uma bactéria aeróbia obrigatória e que há um bom crescimento na sua temperatura ótima (entre 28 a 30°C) e pH entre 7,2 a 7,6. Segundo Bharti et al. (2003), a leptospira é uma bactéria espiroqueta que possui diâmetro de 0,1 µm e comprimento de 6 a 20 µm. Elas são finas, helicoidais, podendo apresentar ganchos na extremidade e ter dois filamentos axiais ou endoflagelos, o que as tornam móveis possuindo um movimento rotacional, progressivo e circular.

3.3 Vias de transmissão e infecção

Há diferentes espécies de reservatório da doença, os principais são os roedores, musaranhos, ouriços e animais domésticos como bovino, canino, suíno, equino, caprino e búfalo (BIER, SHIMAKURA, et al., 2013). De acordo com Brasil (2014), a bactéria pode permanecer nos rins dos animais portadores e serem eliminadas no ambiente através da urina por longo período de tempo ou durante o resto da vida do animal. Ela é carregada nos rins devido à ausência de fagócitos na urina, permitindo sua multiplicação nos túbulos contorcidos proximais (PLANK, 2000).

Embora o rato tenha uma importância na disseminação da doença para o rebanho e para o homem, os principais reservatórios de leptospirose dentro de uma propriedade de criação de bovino, são os próprios bovinos infectados, os quais disseminam a bactéria por meio de seus produtos excretados e secretados (VASCONCELLOS, 1997a).

A transmissão da doença pode ocorrer diretamente pelo contato com urina, sangue e tecidos de animais infectados (JULIANO et al., 2000), onde o agente penetra as mucosas ocular, digestiva, respiratória e genital, pele escarificada e até mesmo pele íntegra (BRASIL, 1995), e também indiretamente, através da ingestão de água e alimentos contaminados (JULIANO et al., 2000).

De acordo com Vasconcellos (1997a), nos machos há a transmissão via sêmen, devido à uretra ser o canal comum com a eliminação da urina.

3.4 Patogenia do agente

Após a penetração bacteriana, haverá uma leptospiremia, de um a dois dias após a infecção que pode durar uma semana. Durante esse período de bacteremia haverá ocorrência dos sinais clínicos agudos, mais acentuados em animais jovens, sinais esses que podem ser variados dependendo do sorovar infectante (ADLER, 2015).

Após se disseminar pela corrente sanguínea, a bactéria concentra-se nos pulmões, fígado e baço, causando assim lesões endoteliais, podendo levar a hemorragias, isquemia locais, necrose tubular renal, hepatomegalia, esplenomegalia, entre outros (FELZEMBURGH, 2010). A mesma também pode permanecer nos túbulos renais proximais e no útero. No primeiro, se multiplica e é eliminada na urina. Já no útero de fêmeas gestantes pode causar afecções no final da gestação como aborto, natimortos, doença em neonatos (ADLER, 2015).

Para que a leptospira se aloje nos túbulos renais, os agentes infecciosos atravessam os espaços e junções intertubulares, adentrando no lúmen dos túbulos contorcidos proximais do rim, onde sobrevivem e se multiplicam formando pequenos grumos que são eliminados na urina, caracterizando a leptospiúria (GUIMARÃES et al., 1982).

3.5 Leptospirose em bovinos

Segundo Adler (2015) a leptospirose bovina é disseminada em todo o mundo, com uma grande variedade de sorovares, mas o principal é o sorovar Hardjo onde o Hardjobovis é a cepa mais comum desse sorovar mantido em bovinos. Dentre o sorovar Hardjo, a principal forma de transmissão é o contato direto entre os animais, independente de fatores como clima e região (ELLIS, 1984), mas em outros sorovares presente no País, como Bratislava e Pomona, há uma relação com infecção incidental, podendo estar envolvidas com o contato direto ou indireto do bovino com animais de outras espécies, como suínos. Portanto, quanto menos for tecnificada a produção, maior será a incidência de infecção desses grupos (LILENBAUM e SANTOS, 1995).

O período de incubação da leptospira gira em torno de quatro a dez dias. O abortamento é uma seqüela comum nessa enfermidade, podendo acontecer com ou sem degeneração placentária. Após a invasão sistêmica, a frequência de abortamento na segunda metade da gestação é maior, provavelmente devido à maior facilidade de invasão da placenta. É comum também que haja o abortamento sem nenhuma previa de doença clínica (MARQUES, 2008).

Os sorotipos Hardjobovis e Hardjoprajitino, estão adaptados aos bovinos e relacionados a duas síndromes, a síndrome reprodutiva e a síndrome da queda brusca de leite. A primeira que está associada ao Hardobovis, é caracterizada por abortos, fetos natimortos, infertilidade da vaca, terneiros fracos. Já a segunda, associada ao Hardjoprajitino, é caracterizada pela flacidez de úbere, queda brusca da produção de leite podendo durar de 2 a 10 dias (em fase aguda), alteração na consistência do leite e do colostro (FAINE, 1999).

Ainda segundo o autor, a infecção pelo sorovar Pomona se tornou menos importante nas últimas décadas, provavelmente devido à vacinação. Este sorovar era o principal relacionado à síndrome reprodutiva, porém atualmente foi substituído pelo Hardjo.

A manifestação clínica da leptospirose bovina pode ser aguda ou crônica. Na forma aguda ocorre de diferentes formas em adultos e bezerros. Nos adultos, normalmente ocorre febre e mastite focal. Já nos bezerros, pode ocorrer febre, anorexia, hemoglobinúria, encefalites, causando um alto índice de mortalidade. Na forma crônica, onde os animais adultos são mais susceptíveis, os sinais clínicos são semelhantes à síndrome reprodutiva já descrita (FAINE, 1999; BURNS et al., 2010).

Os sinais clínicos da leptospirose podem variar dependendo do animal hospedeiro e do sorovar infectante. Em hospedeiros de manutenção, é comum que os animais apresentem baixa resposta sorológica, logo terão poucos sinais clínicos na forma aguda e apresentarão prolongado estado de portador renal. Já nos hospedeiros acidentais os animais apresentarão a doença de forma mais severa com altos títulos de anticorpos aglutinantes e curto estado de portador renal (MARQUES, 2008).

Os animais jovens (bezerros), geralmente são mais seriamente afetados, apresentando sinais clínicos como febre, anemia hemolítica, hemoglobinúria, congestão pulmonar, entre outros (GOMES, 2015).

3.6 Diagnóstico

O diagnóstico de Leptospirose pode ser necessário para várias situações além da descoberta da causa de uma doença clínica de um animal. Pode ser utilizado para um programa de controle ou de erradicação seja em um rebanho ou nacional, para estudo epidemiológico e para diagnosticar animais sadios para um comércio internacional ou até mesmo para a introdução em um rebanho não infectado (ADLER, 2015).

Quanto ao diagnóstico da leptospirose este pode ser feito baseado em sinais clínicos ou por diagnóstico laboratorial. Porém esse segundo é dependente de alguns fatores, como

histórico clínico de vacinação ou não, disponibilidade de testes laboratoriais e de pessoas com experiência. Os testes laboratoriais utilizados podem ser vários, como PCR, ELISA, sorológico, histológico, entre outros. Cada um dos procedimentos apresentam suas vantagens e desvantagens. Sendo assim o uso de uma combinação de testes pode permitir uma alta sensibilidade e especificidade, apresentando uma alta eficiência (ADLER, 2015).

Ao determinar um diagnóstico para leptospirose, é importante saber o perfil bifásico da doença, o qual pode alterar na interpretação do resultado. Na fase inicial da doença a leptospira pode ser encontrada no sangue, líquido e na maioria dos tecidos, diferentemente da fase crônica onde devido ao aparecimento de anticorpos, encontrará mais facilmente nos tecidos de predileção do agente (HIGINO e AZEVEDO, 2014).

O teste sorológico é o mais utilizado para o diagnóstico de leptospirose, e o SAM (soroaglutinação microscópica) é o teste padrão. Para que o teste ocorra com sucesso, deve-se empregar cepas representativas de todos os sorogrupos conhecido no país ou naquela região. Por ser um teste individual em animais, ele é o mais sensível no diagnóstico da infecção aguda, interpretando um aumento dos títulos de anticorpos no soro (ADLER, 2015). Esse teste de soroaglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos é recomendado pela Organização mundial da saúde (LILENBAUM, 1996; VASCONCELLOS 1997b).

Uma complicação relatada por Bolin (2003) sobre a interpretação dos testes sorológicos sobre as reações cruzadas, onde os anticorpos produzidos pelo animal em resposta à uma infecção à um dado sorovar, frequentemente reagem com outro sorovar. Portanto, um animal infectado por um único sorovar pode apresentar anticorpos para mais de um sorovar. Porém em alguns casos, é possível prever esse padrão de reação cruzada, tendo como base o parentesco entre os diferentes sorovares do gênero *Leptospira*. Mas assume-se que o título mais alto está relacionado ao sorovar infectante. Outro problema relatado pelo mesmo autor é devido à difusão da vacina no mundo, onde os bovinos geralmente desenvolvem baixos níveis de anticorpos aglutinantes, os quais permanecem por até três meses, ou até animais que desenvolvem altos títulos permanecendo por seis meses ou mais.

Mais outro fator relatado por Bolin (2003), é a perda no consenso do que é significante para diagnosticar a infecção. Muitos autores consideram significativo um título de 100. Há divergências no ponto de corte para diagnosticar a infecção, pois o título pode ser excessivo em animais vacinados, mas pode não ser alcançados em animais infectados. Portanto, esse diagnóstico deve ser realizado com cautela, considerando os sinais clínicos e históricos de vacinação.

De acordo com ADLER (2015), nos bovinos (hospedeiros de manutenção) em relação ao sorovar Hardjo, os animais mostram uma baixa resposta aglutinante à infecção. Principalmente na época de aborto, onde os títulos podem estar muito baixos ou até negativos. Em casos assim, para estabelecer um diagnóstico, deve-se analisar a resposta sorológica de todo o rebanho, e não individual.

O teste de ELISA tem a possibilidade de detectar anticorpos de classe IgM e IgG, o que permite esclarecer há quanto tempo ocorreu a infecção, onde a imunoglobulina IgM é detectada antes que o IgG, porém esta segunda permanece mais alto por maior tempo. A partir desses dados, consegue-se identificar o nível de produção de anticorpos após a infecção (HARTMAN et al., 1984; LILENBAUM, 1996). É afirmado por Coelho M.J. et al. (2008), que esse teste apresenta alta sensibilidade e especificidade, e também possui uma alta correlação de positivos para SAM com positivos para ELISA.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) também é um método que pode ser usado para detectar DNA de leptospira em amostras tanto de urina como de tecidos, porém o primeiro é mais confiável. Apesar de detectar presença de leptospiras, não detecta o sorovar infectante (BOLIN, 2003).

Outro método utilizado, porém como teste populacional é a microscopia de campo escuro. É uma técnica rápida para identificar leptospiras na urina e é vantajosa por ser rápida, mas possui pontos negativos, como baixa especificidade e sensibilidade (LEVETT, 2001).

A histopatologia é um método a ser utilizado na detecção de leptospirose, a partir da análise de tecidos como rins, pulmão, fígado e placenta no adulto. Com a aplicação do corante a base de prata ou histoquímicos, permite a detecção de leptospiras ou antígenos destas, nos órgãos citados (ADLER, 2015).

Algumas doenças que afetam a reprodução animal e comprometem a eficiência reprodutiva possuem aspectos semelhantes como anestro, falha de concepção, infertilidade, morte embrionária e fetal, entre outros. A IBR (Rinotraqueíte Infecciosa Bovina), BVD (Diarréia Viral Bovina), Leptospirose, Campilobacteriose e Brucelose são consideradas as mais importantes clinicamente e epidemiologicamente, afetando bovinos de todo o Brasil (JUNQUEIRA, 2006; ALFIERI et al., 2017; ALVES et al., 2011).

3.7 Tratamento

Bovinos que apresentam leptospirose aguda, devem ser tratados com o antibiótico estreptomicina (12,5 mg/kg, 2 vezes ao dia, durante 3 dias) ou tetraciclina (10-15 mg/kg, 2

vezes ao dia, durante 3-5 dias). O primeiro tratamento, com estreptomicina, pode ser associado com ampicilina (ADLER, 2015).

O animal pode ser tratado também apenas com uma dose única de diidroestreptomicina, na concentração de 25 mg/kg a qual é suficiente para cessar a eliminação de leptospiros por parte dos animais infectados em uma semana após o início do tratamento (GERRITSEN et al., 1994). Porém, de acordo com ADLER (2015), alguns sorovares em infecção crônica podem resistir, como o Hardjo e o Prajitano, podendo nesse caso usar a Oxitetraciclina injetável de longa duração, na dose de 20 mg/kg ou amoxicilina, na dose de 15 mg/kg com 2 injeções em um intervalo de 48 horas, assim consegue-se substituir a estreptomicina nos tratamentos de doença crônica, sendo portanto o mais recomendado.

3.8 Controle e prevenção

A profilaxia para leptospirose deve ser tomada baseando em ações que atuem diretamente sobre os animais, como a imunoprofilaxia a partir da vacinação, atitudes dirigidas para controle dos reservatórios da doença, tratamento de animais infectados e até do ambiente (LANGONI, 1999).

O controle e a prevenção, segundo Lilenbaum e Santos (1995) podem ser feitos de duas formas, a primeira no caso de infecções incidentais, e a segunda no caso de infecções de sorovar que são mantidos por bovinos. Na primeira, inclui os sorovares como Pomona, Icterohaemorrhagiae ou Bataviae, entre outros, o qual deve ser identificado no rebanho, e de que forma o rebanho está sendo exposto devido aos reservatórios naturais. Assim, é possível estabelecer medidas de higiene e de tecnificação da produção para redução da incidência da doença. Na segunda, quando a infecção é determinada pelo sorovar Hardjo, deve-se tomar três medidas simultâneas: tratar os animais sororeagentes do rebanho com antibiótico; realizar vacinação estratégica do rebanho 30 dias antes da estação de monta com uma vacina que contenha os sorovares principais daquela região; proibir introdução de animais novos no rebanho, a não ser que sejam negativos ou previamente tratados com antibiótico. Além de todas essas medidas, deve-se monitorar o rebanho através de sorodiagnóstico anual, lembrando que o uso da vacinação é um entrave para o diagnóstico sorológico da leptospirose, já que os anticorpos pós-vacinais persistem por até seis meses. Isso dificulta a diferenciação de títulos vacinais de reações oriundas de infecção. Portanto, recomenda-se a vacinação sempre associada com o tratamento com antibiótico para eliminação do portador renal.

3.9 Neospora

Neospora caninum apesar de ser um protozoário descrito primeiramente em cães, também é um protozoário de grande importância para a bovinocultura devida estar relacionado a problemas reprodutivos e ser um dos principais causadores de aborto em bovinos (DUBEY, 1999). Diversas espécies selvagens são consideradas hospedeiro intermediário, porém os bovinos foram estabelecidos como os principais, onde os animais infectados permanecem carreadores do parasito por toda a vida sendo que não há sinais claros de desenvolvimento de proteção imunológica desenvolvida pelo próprio hospedeiro, sendo assim é uma importante fonte para manter o parasita dentro do rebanho (DUBEY, 2003).

Segundo McAllister (1998), Trees e Williams (2005), o ciclo biológico do *Neospora caninum* envolvem dois tipos de hospedeiros, o definitivo e o intermediário. O primeiro abriga o agente e é responsável por excretar oocistos nas fezes, os quais se esporulam e são infectantes para os hospedeiros intermediários. Já o segundo, ao ingerir esses oocistos esporulados desenvolvem cistos deciduais. Portanto a transmissão horizontal ocorre devido à ingestão dos oocistos esporulados pelos bovinos pois foram excretados no ambiente através dos caninos. Já a transmissão vertical acontece da vaca gestante para o feto e apresenta grande importância por manter o protozoário no rebanho, uma vez que essa infecção congênita leva ao nascimento de bezerros persistentemente infectados.

De acordo com Dubey (2003), a infecção é caracterizada devido às perdas reprodutivas das fêmeas, podendo culminar na morte embrionária e em abortos, no primeiro e segundo terço da gestação respectivamente. Já a mortalidade fetal e aborto no terço final são mais difíceis de acontecer, porém haverá nascimento de bezerros persistentemente infectados. E esses animais persistentemente infectados, mesmo não apresentando alteração clínica, são soropositivos, abrigam parasito encistado em vários tecidos, sendo assim, são considerados portadores. Portanto esse protozoário é de ampla importância epidemiológica, mesmo não havendo estudos globais estimando o gasto com Neospora, alguns trabalhos já estipulam valores de bilhões de dólares por ano (REICHEL, et al., 2011).

Nas fêmeas prenhes persistentemente infectadas, há uma possível reativação da infecção que pode estar relacionada à imunossupressão fisiológica da gestação, podendo resultar em uma transmissão vertical para o feto através da placenta. Devido a imunidade protetora do animal não conseguir combater a infecção, poderá haver consequências reprodutivas repetidas vezes durante a vida dos animais infectados (INNES et al., 2002).

O diagnóstico de leptospirose pode ser realizado de diversas formas, e a detecção de diferentes subtipos de anticorpos indica apenas o contato prévio com o parasito. Os diferentes métodos de diagnóstico dessa enfermidade podem ser por detecção direta do protozoário por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), imuno-histoquímica, isolamento parasitário ou por detecção indireta através de sorologia no qual os anticorpos específicos contra as proteínas do protozoário são localizados em técnicas baseadas em imunoensaio como ELISA, Immunoblot e Imunofluorescência direta (IFAT).

Portanto, objetiva-se fazer um estudo sobre a existência, a prevalência e as consequências da leptospirose e da neosporose sobre o rebanho de bovinos de corte da Fazenda Experimental Capim Branco da Universidade Federal de Uberlândia. Descobrir-se-à as sorovares infectantes e avaliar a influência da vacinação do rebanho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi previamente submetido ao CEUA sob o número 027/18. A pesquisa foi realizada na fazenda experimental Capim Branco da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia localizada no município de Uberlândia, na região do Triângulo Mineiro que apresenta altitude média de 863 metros, situando-se aproximadamente a 18° 55' 207" de latitude sul e a 48° 16' 38" de longitude oeste de Greenwich. O clima predominante é classificado como tropical de altitude com temperaturas amenas e chuvas divididas em duas estações, úmida e seca. De acordo com a classificação de Köppen o clima é classificado como "Cwa" sendo mesotérmico úmido subtropical de inverno seco, com temperatura média de aproximadamente 23°C, porém já foram registradas máximas de 37,4°C e mínimas de 1°C. Quanto ao regime pluviométrico é o regime tropical, onde as chuvas de verão iniciam-se em outubro/novembro (estação úmida) e encerra-se em torno de março/abril (estação seca) apresentando uma precipitação acumulada média de 1870 mm anuais (UBERLÂNDIA, 2016).

Foram selecionadas 58 vacas para estação de monta do início de 2017, porém 8 desses animais já haviam sido descartados logo após a estação de monta, pois não engravidaram ou abortaram. Esses animais encontravam-se com escore corporal entre 3 e 3,5 (escala de 0 a 5), da raça Nelore com peso médio de 450 kg com idade entre 3 a 7 anos. Lembrando que todos os animais estudados permanecem na mesma fazenda e com as mesmas condições de vida desde o início do estudo e continuaram até o final.

No dia 31 de outubro de 2017 foi realizado a colheita de sangue de 50 animais pela veia caudal sob métodos de contenção adequados e puncionou-se aproximadamente 8 mL, sendo armazenado em tubo a vácuo esterilizado sem anticoagulantes, o qual foi identificado e estocado em isopor. Na sequência o material coletado foi levado rapidamente para o laboratório, onde foi dessorado e o soro transferido para eppendorf identificados que foram submetidos ao congelamento a -20°C . No mesmo dia também se realizou a vacinação desses animais com vacina contra Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, Diarreia Viral Bovina, Leptospirose, Parainfluenza tipo 3 e Vírus Sincicial Respiratório Bovino, na dose de 5 mL por animal, pela via subcutânea onde tal procedimentos foi realizado sob métodos adequados de contenção. Houve o reforço da vacina que foi realizado 30 dias após a primeira dose. Todos os animais do experimento não possuíam histórico de vacinação reprodutiva anterior. Foram coletados informações de índices reprodutivos desses animais próximo à época de vacinação, sendo esses resultados vindos da estação de monta de final de 2016 e início de 2017. Com o soro sanguíneo desses animais, foi realizado o exame de Soroaglutinação microscópica para leptospirose e exame de Sorologia de IgG total-ELISA para neosporose, e os resultados obtidos foram correlacionados com os respectivos índices reprodutivos.

Em uma segunda parte do trabalho, coletamos sangue desses animais novamente, porém com alguma ressalva, devido ao descarte realizado no final de 2017 em que 3 vacas foram fistuladas 1 descartada devido a idade, e assim juntamente com o descarte realizado durante o ano de 2018, onde 9 animais que abortaram, 7 não emprenharam durante a estação de monta, e mais 5 animais que já haviam parido e por decisão de bem estar animal também não foram coletadas, 25 animais deixaram de ser coletados, sendo assim, coletamos dos 25 animais restantes. A partir dessa coleta, em que os animais já estão vacinados, realizou-se os exames de Soroaglutinação microscópica para leptospirose e de Elisa para neosporose, e com esses resultados, foi feita uma relação com os índices reprodutivos.

Na primeira coleta de sangue, realizamos os exames para 50 animais. Devido aos descartes e a escolha de não coletar animais que já haviam parido, a segunda coleta de sangue foi realizada de 25 animais.

De acordo com Brasil (1995), o exame de soroaglutinação microscópica foi realizado da seguinte forma: pipetou-se 2,45 mL de solução salina sendo armazenado em tubos de vidro de tamanho médio (10 mL); as amostras de soro armazenados no eppendorf e foram descongeladas à temperatura ambiente e logo depois agitadas no mixer (2800 rpm durante 5 segundos). Foi pipetado 50 μL do soro e acrescentamos no tubo de vidro médio. A mistura formada foi agitada para homogeneização. Em uma placa de fundo chato com pocinhos, na

vertical identificou-se com as letras de A a X correspondente aos 22 sorovares de *Leptospira*. E na horizontal, as fileiras foram enumeradas de 1 a 50 e no segundo exame de 1 a 25, correspondente a cada amostra sanguínea. E assim colocamos 50 μL do que foi homogeneizado em cada pocinho de A a X, correspondente ao número de cada animal e reservaremos a placa.

Em outra placa de fundo chato, colocou-se 50 μL de solução salina em cada pocinho e, na capela de exaustão devidamente limpa, foram colocados os 50 μL de cada sorovar nesses pocinhos, e no microscópio, foi feita a avaliação dos sorovares. Ainda na capela, pipetou-se 2 mL de cada sorovar, e colocou-os em 22 tubos de vidro pequenos, identificados de A a X.

Após isso, foram pipetados 50 μL de cada sorovar que estão nos tubos de vidro pequenos e colocados em cada pocinho da placa que foi reservada na sua respectiva coluna vertical. A placa foi envolvida no papel filme e aguardou-se por 1 hora. A leitura foi feita no microscópio e para os animais positivo, foi realizada a titulação.

A partir desses resultados de triagem, os resultados positivos foram novamente testados, porém em diluições diferentes de 1:200 até chegar 1:1600, considerando positivos da mesma forma, aqueles que tiveram mais de 50% de aglutinação, obtendo assim a titulação dos animais positivos.

O exame de Sorologia de IgG total-ELISA para neosporose foi realizado da seguinte forma:

Primeiramente foi realizada a sensibilização, onde foi incubado em microplacas de baixa afinidade 10 $\mu\text{g/mL}$ de antígeno (NLA) diluído em tampão carbonato de sódio 0,06M (pH 9,6) overnight à 4°C. O volume era de 50 $\mu\text{L/poço}$.

No outro dia, foi realizada a lavagem das placas 3 vezes com PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T). O volume total foi de 150 $\mu\text{L/poço}$. Após a lavagem, foi incubado amostras de soro em duplicata na diluição de 1:200 em PBS-T molico 5% por 1 hora a 37°C gerando um volume total de 50 $\mu\text{L/poço}$. No final dessa 1 hora, as placas foram lavadas novamente por 6 vezes com PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T) gerando um volume total de 150 $\mu\text{L/poço}$. Após a lavagem, foram incubadas por 1 hora as placas com anticorpos secundários espécie específicos, marcados com peroxidase: IgG de coelho anti-IgG de bovino 1:20000 diluído em PBS-T molico 1%, gerando um volume de 50 $\mu\text{L/poço}$. Após essa 1 hora, as placas foram lavadas 6 vezes novamente com PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T), gerando um volume de 150 $\mu\text{L/poço}$.

Para a revelação-ABTS, adicionamos 50 $\mu\text{L/poço}$ do substrato enzimático, e a partir daí determinamos a densidade óptica (DO) a 405nm.

O exame de todas as vacas que estão aptas à reprodução, foi utilizado nessa pesquisa. Os resultados dos exames de Leptospirose e Neosporose serão confrontados com os índices reprodutivos como aborto, repetição de cio, natimortos, entre outros.

5 RESULTADOS

O soro dos 50 animais, proveniente da primeira coleta antes da vacinação contra doenças reprodutivas, foram analisados no laboratório pelo teste de Soroaglutinação Microscópica de leptospirose e teste de Elisa para neosporose.

Do total, 28 animais foram reativos para pelo menos um dos sorovares testados, sendo os títulos encontrados de 1:100 ou mais. Portanto, houve uma prevalência de 56% dos animais para leptospirose. Dentre os 28 animais sororeagentes para leptospirose, 25 apresentaram uma gestação e parição normal e os outros três apresentaram problemas, onde três abortaram.

Dos outros 22 animais que não foram positivos para nenhum sorovar testado, todos apresentaram uma gestação normal, levando a parição de bezerros vivos e sadios como descrito na Tabela 1.

Ao analisar os animais positivos para neosporose, 26 animais estavam positivos sendo que apenas um abortou. Dentre os 24 animais negativos, 22 apresentaram uma gestação normal e dois abortaram, como descrito na Tabela 2.

Tabela 1 – Relação de 50 animais reagente e não reagentes contra anticorpo anti-*Leptospira spp* e seus respectivos índices reprodutivos do ano de 2017 em Uberlândia-MG

| | Pariu | Não Pariu | Total | (%) |
|--------------|--------------|------------------|--------------|------------|
| Sororeagente | 25 | 3 | 28 | 56 |
| Negativo | 22 | 0 | 22 | 44 |
| Total | 47 | 3 | 50 | 100 |

Tabela 2 – Relação de 50 animais reagente e não reagentes contra IgG anti-*Neospora caninum* e seus respectivos índices reprodutivos do ano de 2017 em Uberlândia-MG

| | Pariu | Não Pariu | Total | (%) |
|--------------|--------------|------------------|--------------|------------|
| Positivo | 25 | 1 | 26 | 52 |
| Negativo | 22 | 2 | 24 | 48 |
| Total | 47 | 3 | 50 | 100 |

Na segunda coleta após a vacinação dos animais, 100% das 25 amostras de soro analisados no laboratório pelo teste de soroaglutinação microscópica foram reagentes para

pelo menos um dos sorovares testados, com títulos de 1:100 ou mais. Porém, todos os animais apresentaram uma gestação normal, levando a parição de bezerros sadios. Sendo assim, houve uma prevalência elevada como apresentado na Tabela 3.

Nessa mesma coleta, nota-se que 88% dos animais foram reagentes para neosporose. Porém todos os animais, tanto os positivos quanto os negativos, apresentaram uma gestação normal levando a 100% de parição, como observado na Tabela 4.

Tabela 3 – Relação de 25 animais reagentes e não reagentes contra anticorpo anti-*Leptospira spp* e seus respectivos índices reprodutivos do ano de 2018 em Uberlândia-MG

| | Pariu | Não Pariu | Total | (%) |
|------------------|--------------|------------------|--------------|------------|
| Sorovar Positivo | 25 | 0 | 25 | 100 |
| Sorovar Negativo | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Total | 25 | 0 | 25 | 100 |

Tabela 4 – Relação de 25 animais reagentes e não reagentes contra IgG anti-*Neospora caninum* e seus respectivos índices reprodutivos do ano de 2017 em Uberlândia-MG

| | Pariu | Não Pariu | Total | (%) |
|--------------|--------------|------------------|--------------|------------|
| Positivo | 22 | 0 | 22 | 88 |
| Negativo | 3 | 0 | 3 | 12 |
| Total | 25 | 0 | 25 | 100 |

Dos dados analisados da primeira coleta, representados pela Tabela 5, nota-se uma maior prevalência do sorovar Pomona com 18 casos (32,16% de prevalência), seguido do sorovar Sjroe com 13 casos (23,22% de prevalência) e em terceiro lugar, encontra-se o sorovar Wolffii com 7 casos, representando (12,5% de prevalência).

A partir da segunda coleta, que estão na tabela 6, nota-se uma maior prevalência do sorovar Pomona com 26 casos (44,06% de prevalência), seguido do sorovar Wolffii com 17 casos (17% de prevalência) e em terceiro lugar, nota-se o sorovar Grippotyphosa com 6 casos (10,16% de prevalência).

Tabela 5 – Soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira ssp.* no teste de soroaglutinação de 50 vacas na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Uberlândia em 2017

| Sorovares | 1:100 | 1:200 | 1:400 | Total | (%) |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Sjroe | 13 | - | - | 13 | 23,22 |
| Pomona | 17 | 1 | - | 18 | 32,16 |
| Wolffi | 7 | - | - | 7 | 12,5 |
| Hardjoprajitino | 2 | - | - | 2 | 3,57 |
| Bratislava | 2 | - | - | 2 | 3,57 |
| Grippotyphosa | 2 | - | - | 2 | 3,57 |
| Guaricura | 5 | - | - | 5 | 8,94 |
| Australis | 1 | - | - | 1 | 1,78 |
| Autumnalis | 2 | - | - | 2 | 3,57 |
| Tarassovi | - | - | - | - | 0,00 |
| Shermani | 1 | - | - | 1 | 1,78 |
| Javanica | 1 | - | - | 1 | 1,78 |
| Panama | 1 | - | - | 1 | 1,78 |
| Djasiman | 1 | - | - | 1 | 1,78 |
| Icterohaemorrhagiae | - | - | - | - | 0,00 |
| Canícola | - | - | - | - | 0,00 |
| Total | 55 | 1 | - | 56 | |

Tabela 6 – Soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira ssp.* no teste de soroaglutinação de 25 vacas na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Uberlândia em 2018

| Sorovares | 1:100 | 1:200 | 1:400 | Total | (%) |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Sjroe | - | - | - | - | 0,00 |
| Pomona | 24 | - | 2 | 26 | 44,06 |
| Wolffi | 15 | 2 | - | 17 | 28,81 |
| Hardjoprajitino | - | - | - | - | 0,00 |
| Bratislava | - | - | - | - | 0,00 |
| Grippotyphosa | 6 | - | - | 6 | 10,16 |
| Guaricura | - | - | - | - | 0,00 |
| Australis | 1 | - | - | 1 | 1,69 |
| Autumnalis | - | - | - | - | 0,00 |
| Tarassovi | 2 | - | - | 2 | 3,38 |
| Shermani | 1 | - | - | 1 | 1,69 |
| Javanica | - | - | - | - | 0,00 |
| Panama | 2 | - | - | 2 | 3,38 |
| Djasiman | - | - | - | - | 0,00 |
| Icterohaemorrhagiae | 3 | - | - | 3 | 5,08 |
| Canícola | 1 | - | - | 1 | 1,69 |
| Total | 55 | 2 | 2 | 59 | |

De acordo com os dados da tabela 7, podemos observar que dos 25 animais analisados no ano de 2018, 13 deles eram soronegativos no ano anterior e após a vacinação se tornaram positivos, sendo que 10 apresentaram titulação de 1:100, um apresentou titulação de 1:200 e dois apresentaram titulação de 1:400.

Tabela 7 – Animais da Fazenda Experimental Capim Branco que não eram reagentes contra anticorpo anti-*Leptospira spp* em 2017 e passaram a ser reagentes em 2018 e suas respectivas titulações

| Vacas | (2017) | (2018) | (2018) | (2018) |
|-------|--------|--------|--------|--------|
| | 1:100 | 1:100 | 1:200 | 1:400 |
| 14 | - | + | - | - |
| 36 | - | + | - | - |
| 103 | - | + | - | - |
| 105 | - | + | - | - |
| 112 | + | + | - | - |
| 231 | - | + | - | - |
| 279 | + | + | - | - |
| 282 | + | + | - | - |
| 283 | - | + | + | - |
| 285 | + | + | - | - |
| 287 | + | + | + | - |
| 290 | + | + | - | - |
| 296 | + | + | - | - |
| 297 | - | + | - | - |
| 301 | + | + | - | - |
| 302 | + | + | - | - |
| 304 | - | + | - | - |
| 308 | + | + | - | - |
| 310 | + | + | - | - |
| 312 | - | + | - | - |
| 314 | - | + | - | - |
| 319 | - | + | - | - |
| 367 | + | + | - | - |
| 377 | - | + | - | + |
| 390 | - | + | - | + |
| Total | 12(+) | 21 | 2 | 2 |
| | 13(-) | | 25(+) | |

Dentre as 22 vacas que foram positivas para neosporose em 2018, 10 delas haviam sido negativas no ano anterior, tornando assim soropositivas entre um ano e outro como pode ser observado na Tabela 8

Tabela 8 – Animais da Fazenda Experimental Capim Branco que não eram reagentes contra anticorpo anti-*Neospora caninum* em 2017 e passaram a ser reagentes em 2018

| Vacas | Reação 2017 | Reação 2018 |
|-------|------------------------------|--------------|
| 14 | + | + |
| 103 | + | + |
| 105 | + | + |
| 112 | - | + |
| 231 | + | + |
| 279 | - | + |
| 282 | - | + |
| 285 | - | + |
| 286 | + | + |
| 287 | - | + |
| 290 | - | + |
| 296 | + | + |
| 297 | - | + |
| 301 | - | + |
| 302 | - | + |
| 304 | + | + |
| 308 | + | + |
| 310 | + | + |
| 312 | - | + |
| 319 | + | + |
| 377 | + | + |
| 390 | + | + |
| Total | 12 positivas 10 negativas | 22 positivas |

Na Tabela 9, foi comparado as vacas reagentes contra anticorpo anti-*Leptospira spp* no ano de 2017 com seus respectivos índices em 2018. Porém dos 28 animais sororeagentes, 3 foram descartados, sendo assim foram analisados 25. Desses 25 animais analisados, 3 animais não ficaram gestantes, 7 abortaram e 15 pariram, ou seja, dentro dos sororeagentes, houve uma taxa de parição de 60%, taxa de aborto de 28% e apenas 12% não ficaram gestantes.

Na Tabela 10, representando os 26 animais diagnosticados como sororeagentes para neosporose em 2017, sendo que o índice reprodutivo de todos foram avaliados em 2018, teve uma taxa de parição de 70%, taxa de aborto de 23% e apenas 7% não ficaram gestantes.

Tabela 9 - Animais sororeagentes ao anticorpo anti-*Leptospira spp* no ano de 2017 e seus respectivos índices reprodutivos no ano de 2018 na Fazenda Experimental Capim Branco em Uberlândia MG

| Vacas positivas em 2017 que foram analisadas | Pariu em 2018 | Não emprenhou em 2018 | Abortou em 2018 |
|--|---------------|-----------------------|-----------------|
| 25 | 15 | 3 | 7 |
| 100% | 60% | 12% | 28% |

Tabela 10 - Animais sororeagentes ao anticorpo anti-*Neospora caninum* no ano de 2017 e seus respectivos índices reprodutivos no ano de 2018 na Fazenda Experimental Capim Branco em Uberlândia MG

| Vacas positivas em 2017 | Pariu em 2018 | Não emprenhou em 2018 | Abortou em 2018 |
|-------------------------|---------------|-----------------------|-----------------|
| 26 | 18 | 2 | 6 |
| 100% | 70% | 7% | 23% |

Ao realizar uma análise dos animais reagentes em 2017 para leptospirose e neosporose simultaneamente com os seus respectivos índices reprodutivos de 2018, nota-se uma taxa de parição muito baixa, de 58%, juntamente com 34% de aborto.

Tabela 11 – Animais sororeagentes contra anticorpos anti-*Leptospirrose spp* e anti-*Neospora caninum* no ano de 2017 e seus respectivos índices reprodutivos no ano de 2018 na Fazenda Experimental Capim Branco em Uberlândia MG

| Soropositividade para ambas as doenças em 2017 | Pariu em 2018 | Não emprenhou em 2018 | Abortou em 2018 |
|--|---------------|-----------------------|-----------------|
| 12 | 7 | 1 | 4 |
| 100% | 58% | 8% | 34% |

Foi analisado também, o índice de parição, aborto e de perdas embrionárias dos animais nos anos de 2017 e 2018.

58 vacas analisadas em 2017

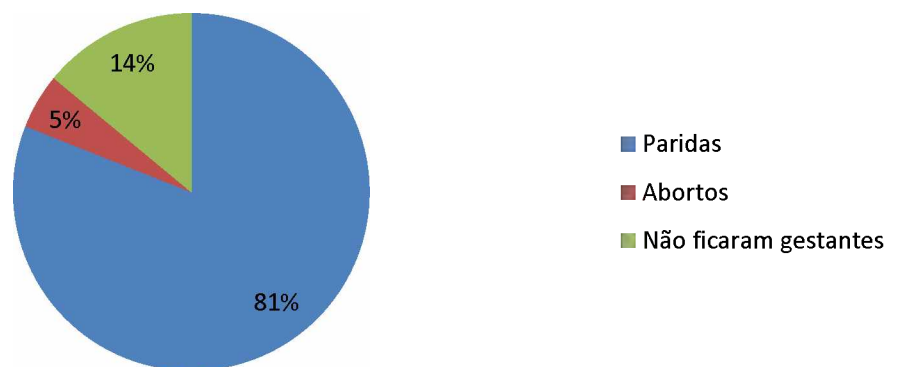


Figura 1: Índice reprodutivo de todas as vacas da Fazenda Experimental Capim Branco no ano de 2017

46 Vacas analisadas em 2018

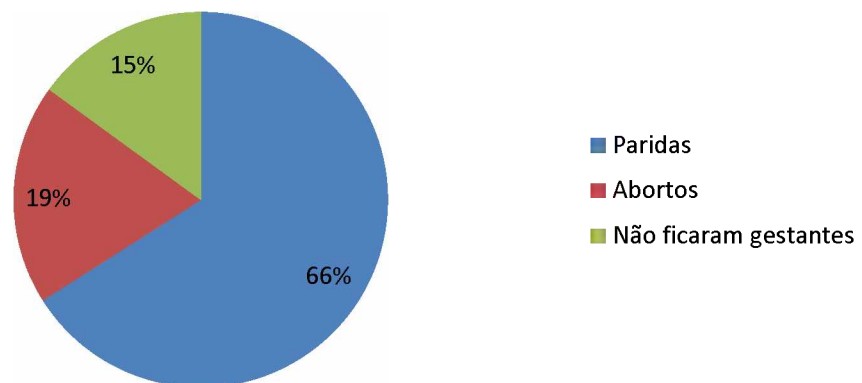


Figura 2: Índices reprodutivos de todas as vacas da Fazenda experimental Capim Branco no ano de 2018

6 DISCUSSÃO

Baseado nos poucos estudos existentes sobre Leptospirose em gado de corte principalmente na região do Triângulo Mineiro faz-se necessária comparação com estudos de estados vizinhos.

Os dados apresentados notamos alterações entre um ano e outro. Isso ocorreu devido à metodologia da fazenda, onde há descarte de animais que abortam ou que não ficam gestantes durante a estação de monta. Sendo assim, vimos que no ano de 2017, 58 animais foram selecionados para o estudo, porém oito vacas não ficaram gestantes após a terceira inseminação artificial e assim foram descartadas, logo apenas 50 vacas continuaram no estudo, onde se coletou sangue de todas e apenas 46 foram vacinadas com Cattlemaster Gold devido a 4 descartes realizados que é composta pelos seguintes agentes: Vírus da Rinotraqueíte Infecciosa bovina (IBR), Vírus da Diarreia Bovina (BVD), Parainfluenza tipo 3 (PI3), Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV) e *Leptospira* (*Canícola-Grippotyphosa-Hardjo-Icterohaemorrhagiae-Pomona*). Dessas 50 que permaneceram no estudo, três abortaram, e assim duas permaneceram na reprodução e uma foi descartada. No ano de 2018, 46 vacas entraram para a estação reprodutiva. Essa diferença de quatro animais foi devido a quatro descartes realizados, sendo uma que abortou em 2017 e 3 que foram fistuladas. Dessas 46 que participaram da estação de monta, 39 ficaram gestantes e sete não ficaram após a terceira

inseminação e já foram logo descartadas. Das 39 gestantes, nove abortaram no terço médio de gestação e já foram logo descartadas, havendo então 30 vacas paridas no final do ano de 2018. Sendo assim, de 30 animais no final do ano, foi coletado sangue de 25 animais, pois os cinco restantes já haviam parido e estavam no pasto. Foi realizado comparações entre animais reagentes no ano de 2017 com índices reprodutivos de 2018 devido aos descartes anuais dos animais que apresentaram problemas reprodutivos e não sendo possível realizar a coleta do sangue.

O primeiro índice retratado foi a quantidade de animais que eram soropositivos para pelo menos um sorovar de leptospirose no ano de 2017, mantendo uma prevalência de 56%. Com base no estudo de Castro et al. (2008) realizado em São Paulo com gado de leite, o qual apresentou uma prevalência de 49,4%, esses animais estão em um grau de infecção mais exacerbado. No entanto, esse número é bem menor que o encontrado por Miashiro et al (2013) onde foram testadas 2.766 fêmeas de corte no Pantanal-MS e foi obtido uma prevalência de 79,8%. Dentre esses 50 animais analisados, três não pariram, sendo que dois abortaram e um não ficou prenhe. Todas eram soropositivas para *Pomona* e apresentavam titulação de 1:100.

Quanto à Neosporose, nota-se uma soropositividade de 52% dos animais, ou seja, esses animais em alguma época de sua vida foram infectados por *N. caninum* e produziram anticorpos específicos. Quando se compara esse valor a um estudo de Ragozo et al. (2003), onde foram avaliados 802 animais e houve uma ocorrência de Neosporose de 23,6% de animais positivos, há uma discrepância nos resultados, onde a fazenda analisada nesse estudo apresentou uma taxa de animais soropositivos muito maior.

No segundo ano de análise, onde foram testadas 25 fêmeas, há 100% de animais soropositivos para pelo menos um sorovar, no entanto, esse resultado pode ser devido à vacinação contra sorovares *Leptospira canicola*, *L. grippityphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. Pomona*, causando uma reação e tornando animais sororeagente, mesmo que em titulações baixas. Porém, antes da vacinação, 52% desses animais eram soronegativos e se tornaram soropositivos além de que dois deles obtiveram titulação de 1:400 e um obteve titulação de 1:200.

Ao analisar Neosporose em 2018, não houve uma soropositividade de 100% dos animais como leptospirose, mas obteve um alto índice de 88%. Essa diferença entre as enfermidades ocorreu devido à vacina conter apenas fatores contra Leptospirose. Mesmo assim, ainda houve um acréscimo de animais infectados de 2017 para 2018, onde 10 animais eram negativos em 2017 e se tornaram positivos em 2018, portanto um acréscimo de 45%.

Esse acréscimo pode ter ocorrido devido a presença de cachorros na propriedade, esses que são considerados um grande fator de risco para os animais por serem hospedeiros definitivos (MCALLISTER, 1998)

A partir desse estudo, é possível traçar um perfil sorológico e epidemiológico desse rebanho no município de Uberlândia. A ocorrência de amostras reagentes no teste de soroaglutinação microscópica em campo escuro foi alta, onde na primeira análise os sorovares mais prevalentes foram Pomona (32,16%), Sjroe (23,22%) e Wolffi (12,5%). Já na segunda análise foi Pomona (44,06%), Wolffi (17%) e Grippytyphosa (10,16%). Podemos perceber que o sorovar Sjroe foi erradicado da segunda análise, isso ocorreu devido às divisões dos sorovares em sorogrupos, em que os sorovares são muito parecidos.

Devido aos descartes realizados no começo de cada ano analisado de animais que abortaram ou não emprenharam, foi impossível realizar a coleta destes no final de seus respectivos anos. Sendo assim foram realizadas comparações entre o diagnóstico de cada enfermidade com os índices reprodutivos no ano seguinte dos mesmos animais. Logo as correlações foram feitas entre todos os animais sororeagentes para leptospirose ou neosporose no ano de 2017 com seus índices reprodutivos em 2018. E por último, foram correlacionados também todos os animais soropositivos para leptospirose e neosporose no ano de 2017 com seus índices reprodutivos em 2018. Sendo assim ao analisar apenas leptospirose, onde havia 25 vacas soropositivas no final de 2018 pois 3 haviam sido descartadas no final da estação de monta de 2016/2017, houve uma taxa de 60% de parto, 12% não ficaram gestantes e 28% abortaram. Quando se analisa apenas Neosporose, nota-se uma taxa de parto de 70%, 23% de aborto e 7% que não ficou gestante. Esses resultados estão extremamente a baixo quando se compara a um rebanho onde são utilizadas três IATF como pode ser observado no estudo do Marques et al. (2008) onde demonstra uma taxa de 91,1% de prenhez sendo que segundo Junqueira e Alfieri (2006), deve atingir taxas mínimas de 92 a 96% de concepção, 85 a 90% de nascimento e apenas 1 a 2% de abortamento. Porém esses resultados ainda pioram quando se comparam os diagnósticos de 2017 de ambas as enfermidades concomitantemente em relação ao seus respectivos índices reprodutivos, notando-se uma taxa de parto de apenas 58%, sendo que 8% não ficaram gestantes e 34% abortaram.

Os índices de parição e de aborto pioraram quando comparados de 2017 para 2018, onde nota-se uma queda de 15 pontos percentuais no número de vacas paridas, saindo de 81% para 66%. Devido ao protocolo da fazenda não utilizar de touro de repasse e se beneficiar de 3 IATF, ou seja, após a primeira IATF se faz o diagnóstico de gestação precoce para que as vacas vazias possam ser ressincronizadas e isso repetindo por duas vezes, percebe-se uma

baixa taxa de prenhez. Sendo assim esse baixo índice fica mais evidente quando comparado a um estudo realizado por Marques et al. (2008) onde é possível obter resultados bem melhores do que os encontrados, em que após a terceira IATF houve obtenção de 91,1% de taxa de prenhez.

7 CONCLUSÃO

Grande quantidade dos animais avaliados são sororeagentes para Leptospirose, mas poucos são considerados doentes.

Neosporose é uma doença presente no rebanho avaliado e que prejudica a eficiência reprodutiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADLER, B., **Leptospira and Leptospirosis**. Clayton: Springer, 2015. 102-103 p.
- ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A. F. **Doenças infecciosas que impactam a reprodução de bovinos**. Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte: 2017. v. 41, n. 1, 133-139.
- ALMEIDA, L.P. **Epidemiologia da leptospirose: fontes de infecção e vias de transmissão**. Viçosa: Cadernos Didáticos 61 UFV, 1999. 32 p.
- ALVES, T.M., et al. **Campilobacteriose genital bovina e triconomose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle**. Pesquisa Veterinária Brasileira. Belo Horizonte, 2011.
- BHARTI, A.R.; NALLY, J E.; RICALDI, J N. et al. **Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance**. 12. Ed.: The Lancet infectious diseases, 2003. 757-771 p. v. 3.
- BIER, D.; SHIMAKURA S E; MORIKAWA V M. et al. **Análise espacial do risco de Leptospirose canina na Vila Pantanal, Curitiba**: Pesqui Vet Bras, 2013. 33-74 p.
- BOLIN, C.A.; **Diagnosis and control of bovine leptospirosis**. Proceedings of the 6th Western Dairy Management Conference, Reno: 2003. 155-160 p.
- BRASIL, **Secretaria de Vigilância em Saúde**: Distribuição espacial da Leptospirose. Rio de Janeiro: 1995
- BRASIL, **Secretaria de Vigilância em Saúde**: Guia de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2014.
- BRASIL. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. Brasília: Ministério da saúde, 2004. 200 p.
- BURNS, B. M., et al. **A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf**: Implications for reproductive efficiency in northern Australia. Australia: Animal Reproduction Science, 2010.
- CASTRO, V.; AZEVEDO S.S.; GOTTI, T. B. **Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva**. São Paulo, Brasil. 2008.

CAMARDELLI, A.J.. **ABIEC: Perfil da pecuária no Brasil.** 2017 .

COELHO, M.J.; SOLIS, I.V.; MARRUFO, M.C., et al. **Serological survey of canine leptospirosis in the tropics of Yucatan Mexico using two different tests.** Acta tropica: Basel, 2008 v. 106, n.1.

DUBEY, J.P. **Review of Neospora caninum and neosporosis in animals.** Korean J. Parasitol 2003, v.41, 1-16 p.

DUBEY, J.P. **Recent advances in Neospora and neosporosis.** Vet. Parasito, 1999. 349-367 p.

ELLIS, W.A. **Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control.** Prev. Vet. Med. 1984.

FAINE S.; ADLER B.; BOLIN C. et al. **Leptospira and Leptospirosis.** 2^a ed. MedSci, Melbourne. p. 353, 1999.

FELZEMBURGH R.D.M.. **História natural e transmissão da leptospirose urbana: estudo longitudinal.** Salvador: Arca, 2010.

FORMIGONI, Ivan. **Maiores rebanhos e produtores de carne bovina no mundo,** 2018.

GERRITSEN M.J.; KOOPMANS M.J.; PETERSE D. **Sheep as maintenance host for Leptospira interrogans serovar hardjo subtype hardjobovis.** 1994.

GOMES, M. J. P. **Gênero Leptospira spp.** FAVET, UFRGS, Porto Alegre. P. 52. 2015

GUIMARÃES, M. C.; CÔRTEZ, J. A.; VASCONCELLOS, S. A.; et al. **Epidemiologia e controle da leptospirose em bovinos. Papel do portador e o seu controle terapêutico.** Comunicação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo, 1982 v. 6-7, n. 1-4, 21-34 p.

HARTMAN, E.G.; VAN HOUTEN, M; VAN DER DONK, J.A. **Determination of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in sera of experimentally intected dogs by solid: phase enzyme-linked immuosorbent assay.** Veterinary Immunology and Immunopathology, v.7, p. 43 - 51, 1984.

HIGINO, S.S.; AZEVEDO, S.S. **Leptospirose em pequenos ruminantes: situação**

- epidemiológica atual no Brasil.** Arquivos do Instituto Biológico, 2014. v. 81, n. 1, 86-94 p.
- HOMEM, V.S.F.; HEINEMANN, M.B.; MORAIS, Z.M.; et al. **Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2001. v. 34, n. 2, 173-180 p.
- INNES, E.A.; ANDRIANARIVO, A.G.; BJÖRKMAN, C. et al. **Immune responses to Neospora caninum and prospects for vaccination.** Trends Parasitol., v.18, 2002, 497-504 p.
- JULIANO, R. S. et al. **Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na Microrregião de Goiânia-GO .** Ciência Rural, v. 30, n. 5, p. 857-862, 2000.
- JUNQUEIRA, J.R.; ALFIERI A. A. **Falhas na reprodução na pecuária bovina de corte em ênfase para causas infecciosas.** Seminário de Ciências Agrárias, Londrina, 2006: vol. 27, n. 2, 289-298 p.
- LANGONI, H. **Leptospirose: Aspectos de saúde animal e de saúde pública.** Revista de Educação Continuada do CRMV-SP. São Paulo, 1999. v 2.
- LEVETT, P.N. **Leptospirosis Clinical Microbiology** 2001. 296-326 p.
- LILENBAUM, W. **Atualização em leptospiroses bovinas.** Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro. 1996. v. 18, n. 1, p. 9-13.
- LILENBAUM, W., SANTOS, M.R.C. **Leptospirose em reprodução animal: Papel do serovar *hardjo* nas leptospiroses bovinas no Rio de Janeiro.** Niterói: Revista Brasileira de Ciências Veterinárias, 1995. v.2, n.1, 1-6 p.
- MARQUES, A.E. **Prevalência de anticorpos anti- *Leptospira* spp. e aspectos epidemiológicos da infecção em bovinos no estado de Goiás.** Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.
- MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. et al. **Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*.** International Journal for Parasitology, v. 28, n.9, p. 1473-1478, 1998
- PFIZER. **Vacinação contra rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD) e leptospirose:** Atualização técnica. Guarulhos: Laboratórios Pfizer Ltda, 2000., n. 50, 1-6 p.

- PLANK, R.; DEAN D. **Microbes and Infection**. Elsevier. California, 2000. V 2.
- RAGOZO A.M., PAULA V.S., SOUZA L.P., et al. **Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2003.
- REICHEL, M.P.; ALEJANDRA, A.M.; GONDIM, L.F.; et al. **What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – the billion dollar question**. International Journal for Parasitology, v. 43, p. 133-142, 2013.
- TREES, A.J.; WILLIAMS, D.J. **Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii***. Trends Parasitol, v.21, 2005, 558-561 p.
- UBERLÂNDIA, Secretaria Municipal de Planejamento Urbano e Meio Ambiente. **Banco de dados integrados de Uberlândia**. Uberlândia, 2016.
- VASCONCELLOS, S. A. **Leptospirose bovina**. Atualização Técnica – Laboratórios Pfizer Ltda., Guarulhos, 1997 a, n. 34, 1-5 p.
- VASCONCELLOS, S. A. **prova de soro-aglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose**: Elementos fundamentais para a interpretação dos resultados. Circular Técnico - FMVZ-USP, São Paulo, 1997b, 6 p.

ANEXOS:

Universidade Federal de Uberlândia

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

- Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) -

Rua Ceará, S/N - Bloco 2D, sala 08 - Campus Umuarama - Uberlândia-MG CEP
38405-315; e-mail: ceua@propp.ufu.br; www.comissoes.propp.ufu.br
Telefone: 3225-8652



ANÁLISE FINAL Nº 199/18 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 027/18

Projeto Pesquisa: “Influência da vacinação nos índices reprodutivos em gado de corte”

Pesquisador Responsável: Anna Monteiro Correia Lima

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

Situação: PROTOCOLO DE PESQUISA **APROVADO**.

OBS: A CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 05 de dezembro de 2018.

Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão

Coordenador da CEUA/UFU
Portaria nº 665/17