

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CONTROLE DE ANAPLASMOSE BOVINA ATRAVÉS DE IMUNIZAÇÃO COM  
ANAPLASMA CENTRALE

ANDRÉ GUSTAVO CABRERA DALTO

PORTO ALEGRE

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CONTROLE DE ANAPLASMOSE BOVINA ATRAVÉS DE IMUNIZAÇÃO COM  
ANAPLASMA CENTRALE

Autor: André Gustavo Cabrera Dalto

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias na área de concentração em Cirurgia, Morfologia e Patologia Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: David Driemeier

PORTO ALEGRE

2015

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar gostaria de agradecer meus pais pelo apoio incondicional.

Agradeço ao Adrian Federico Cabrera Dalto que além de irmão é com certeza meu melhor amigo e junto com minha cunhada Joyce de Andrade sempre estiveram ao meu lado.

Agradeço a minha companheira Paula Cristina Sieczkowski Gonzalez, com quem convivo desde o início da faculdade. Te amo muito!

Agradeço ao professor David Driemeier que me proporcionou a oportunidade de realizar estagio, mestrado e doutorado ao longo desses últimos 10 anos e por ser para mim um exemplo de dedicação e sabedoria.

Agradeço também a todas as pessoas que fazem ou fizeram parte do setor de Patologia da UFRGS ao longo destes 10 anos.

Agradeço aos pesquisadores Dr. João Ricardo Martins e Dr. José Reck pela coautoria neste trabalho.

Gostaria de registrar um agradecimento especial as pessoas que colaboraram enormemente com esse projeto: Ana Paula, Felipe, Bruno, Hugo, Ramon, Ane e Roberto Henrique.

Agradeço também a Granja & Cabanha VB que viabilizou a realização deste projeto.

Por último, agradeço aos animais pelos quais dedico minha vida.

## **EPIGRAFE**

*“Não é a espécie mais forte que sobrevive, nem a mais inteligente, mas sim a mais adaptável à mudança”*

**Charles Darwin**

*“Vamos suerte, vamos juntos, dende que juntos nacimos; y ya que juntos vivimos sin podernos dividir... Yo abriré con mi cuchillo el camino pa seguir”*

**Martín Fierro**

## RESUMO

A anaplasmoze bovina é uma das principais causas de perdas produtivas e mortes no Rio Grande do Sul em rebanhos bovinos. O *Anaplasma marginale* é o principal agente causador da enfermidade e provoca hipertermia, anemia, prostração, abortos e perdas produtivas nos animais acometidos. Tendo em vista o controle deste hemoparasita em uma propriedade leiteira localizada no município de Eldorado do Sul no Rio Grande do Sul, na qual a incidência da doença era alta, 473 animais foram imunizados com *Anaplasma centrale* na busca de desenvolvimento cruzado para *Anaplasma marginale*. No experimento foram verificadas que a incidência que normalmente era acima de 30% na propriedade passou para níveis inferiores a 5%. No entanto, foram verificados abortos decorrentes da imunização, principalmente nos animais que possuíam menos de 90 dias de prenhes. Já o número de mortes globais na fazenda caiu consideravelmente tendo em vista que a principal causa de morte era a anaplasmoze bovina. Dos animais inoculados com *A. centrale* em torno de 15% apresentaram sintomatologia clínica da enfermidade e precisaram ser tratados com oxitetraciclina no período entre 15 e 30 dias após a imunização. O custo com tratamento empregado na propriedade posterior à imunização caiu em torno de 85% o que provocou impacto significativo economicamente na propriedade.

**Palavras chaves:** *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, imunização, anaplasmoze, bovinos.

## ABSTRACT

Bovine anaplasmosis is a major cause of production losses and deaths in Rio Grande do Sul cattle herds. The *Anaplasma* is the main causative agent of cattle disease. It causes hyperthermia, anemia, prostration, abortions and reduces milk production in affected animals. In order to control this hemoparasite on a dairy farm located in the municipality of Eldorado do Sul in Rio Grande do Sul, where the disease incidence was high, 473 animals were immunized with *Anaplasma centrale* in the search for cross-protective immunity for *Anaplasma marginale*. The property anaplasmosis incidence, which usually was above 30%, became 5% after the immunization. However, abortions were observed resulting from inoculation, especially in animals that had less than 90 days of pregnancy. The global number of deaths on the farm dropped considerably given that the main cause of death was the bovine anaplasmosis. 15% of animals inoculated with *A. centrale* showed clinical symptoms of the disease between 15 and 30 days after immunization and had to be treated with oxytetracycline. The amount of money spent with anaplasmosis treatment decayed 85% after the immunization, which caused significant economic impact on the property.

**Key words:** *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, immunization, anaplasmosis, bovine.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> Esquema do ciclo de desenvolvimento do <i>Anaplasma marginale</i> no bovino e no carrapato.....	16
<b>Figura 2</b> Esfregaço sanguíneo bovino. Presença de eritrócitos parasitados com <i>Anaplasma Marginale</i> (URQUHART et al., 1998) .....	19

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Nº de animais imunizados de acordo com idade, gênero e situação gestacional. ....	24
<b>Tabela 2</b> Animais imunizados que apresentaram reação de 15-30 dias após inoculação conforme idade e gênero. ....	25
<b>Tabela 3</b> Abortos ocorridos após a inoculação, de acordo com a idade da fêmea e tempo gestacional no momento da imunização. ....	25
<b>Tabela 4</b> Perdas gestacionais globais na propriedade de acordo com o ano. ....	26
<b>Tabela 5</b> Porcentagem de animais que apresentaram sinais clínicos de anaplasmosose e necessitaram de tratamento ao longo dos anos em relação ao rebanho total. ....	26
<b>Tabela 6</b> Número de animais mortos na propriedade de acordo com o ano. ....	27
<b>Tabela 7</b> Estimativa da utilização de medicamentos para tratamento de anaplasmosose de acordo como ano. ....	27



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**%** – Por cento

**ELISA** – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Teste imunoenzimático)

**IPDVF** – Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor

**Kg** – quilograma

**mg** – miligrama

**mm<sup>3</sup>** – milímetro cúbico

**Nº** – Número

**P.C.R.** – Reação em Cadeia da Polimerase

**TPB** – Tristeza Parasitária Bovina

**UFRGS** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1 Histórico</b> .....	<b>12</b>
<b>2.2 Etiologia</b> .....	<b>13</b>
<b>2.3 Distribuição Geográfica</b> .....	<b>14</b>
<b>2.4 Transmissão</b> .....	<b>14</b>
2.4.1 Transmissão biológica .....	14
2.4.2 Transmissão mecânica .....	14
2.4.3 Transmissão transplacentária .....	14
<b>2.5 Patogenia</b> .....	<b>15</b>
2.5.1 Ciclo de vida no vertebrado .....	15
2.5.2 Ciclo de vida no invertebrado .....	15
<b>2.6 Sinais clínicos</b> .....	<b>17</b>
2.6.1 Fase aguda .....	17
2.6.2 Fase superaguda .....	17
2.6.3 Fase crônica .....	18
<b>2.7 Diagnóstico</b> .....	<b>18</b>
2.7.1 Clínico.....	18
2.7.2 Esfregação de sangue e órgãos .....	18
2.7.3 Sorologia.....	19
2.7.4 P.C.R. e Imunohistoquímica .....	19
2.7.5 Necropsia .....	20
2.7.6 Diagnóstico diferencial .....	20
2.7.6.1 Babesiose .....	20
2.7.6.2 Carbúnculo hemático .....	20
2.7.6.3 Botulismo.....	20
<b>2.8 Tratamento</b> .....	<b>21</b>
<b>2.9 Prevenção e controle</b> .....	<b>21</b>
<b>2.10 Perdas econômicas</b> .....	<b>22</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
<b>3.1 Local</b> .....	<b>23</b>
<b>3.2 Amostra</b> .....	<b>23</b>

<b>3.3 Protocolo experimental .....</b>	<b>23</b>
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>25</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>28</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As principais hemoparasitoses bovinas são Anaplasmosose e Babesiose que juntas formam o complexo Tristeza Parasitária Bovina e provocam grande impacto econômico na produção bovina mundial. Seus principais transmissores são vetores biológicos como os carrapatos da Família *Ixodidae* e as moscas da Família *Tabanidae*. Embora sua transmissão também possa se dar de forma mecânica (KOCAN *et al.*, 2003; FARIAS, 2007).

A anaplasmosose é uma enfermidade hemoparasitária infecciosa que afeta bovinos, ovinos e animais silvestres. Seu principal agente causador é o *Anaplasma marginale* que é uma bactéria da ordem das Riquétsias (KOCAN *et al.*, 2003). Na maior parte do Brasil, onde a população de vetores está presente durante o ano inteiro, os animais são relativamente resistentes à doença, desenvolvendo imunidade nos primeiros meses de vida, devido à infecção precoce pelo *A. marginale*, quando ainda estão protegidos pelos anticorpos colostrais. Nestas regiões, surtos e altas taxas de mortalidade são raros, criando uma condição de estabilidade enzoótica (SOUZA *et al.*, 2000). Porém, vários levantamentos epidemiológicos realizados no Brasil têm observado a ocorrência de surtos e casos clínicos de anaplasmosose, caracterizando a ocorrência de áreas epiendêmicas (RIBEIRO; REIS, 1981; ARAÚJO *et al.*, 1998). As alterações decorridas da destruição maciça de hemácias, com a redução da capacidade de transporte de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> levando à hipóxia tecidual, e a liberação de produtos originados da sua lise provocam alterações no equilíbrio eletrolítico e ácido-básico. Os sinais clínicos característicos da doença são hipertermia, anemia, debilidade, prostração, icterícia e inapetência (GONÇALVES, 2000).

Este trabalho teve por objetivo avaliar o impacto causado pela imunização com *Anaplasma marginale*.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Histórico

O primeiro relato de hemoparasitose bovina é de Babes (1888). Este detectou pela primeira vez hemoparasitas bovinos na região do delta do Rio Danúbio na Romênia (MARTINS; CORRÊA, 1995).

Smith e Kilborne (1893) ao estudar a febre em bovinos transmitida pelo carrapato, que até então eram atribuídas somente a *Babesia*, verificaram pela primeira vez o *Anaplasma marginale* e o descreveram como pequenos corpúsculos puntiformes ou em forma de cocos, dentro de hemáceas e os consideraram com representantes de um estágio do ciclo da *Babesia* (KOCAN *et al.*, 2010).

Theiler (1910) verificou em bovinos africanos que sofriam de uma anemia infecciosa aguda, pequenos corpúsculos que não possuíam plasma e se localizavam a margem dos eritrócitos e os denominou de *Anaplasma marginale*. Theiler (1910) fez a diferenciação da *Babesia* e foi o primeiro a sugerir que os parasitas por ele descritos eram de um novo Gênero de protozoário (RISTIC; WATRACH, 1977; KOCAN *et al.*, 2010).

Sieber (1911) sugeriu que o agente seria um vírus devido às características do comportamento clínico e patológico da enfermidade. (KOCAN, 2010).

Através de microscopia eletrônica Robertis e Epstein (1951) evidenciaram que o corpúsculo intra-eritrocitário não era uma estrutura homogênea e sim um composto de subunidades e, portanto, não se tratava de um protozoário. Em 1955 estudos histoquímicos demonstraram a presença de ácidos nucleicos que contradiziam a teoria de que o agente seria um vírus (KOCAN, 2010).

Pilcher, Wu e Muth (1961) determinaram que o *Anaplasma sp.* era uma Rickettsia e concluíram ainda que as hemáceas parasitadas com este agente consumiam o dobro de oxigênio que hemácias normais divergindo do que ocorre em infecções virais (KOCAN, 2010).

Kreier e Ristic (1973) baseado nas características morfológicas do *Anaplasma* sp. como ausência de núcleo e organelas classificou o agente dentro da Família *Anaplasmataceae* da ordem das *Rickettsiales* (KOCAN, 2010).

No Brasil, Carini (1910) também relatou a presença de *Anaplasma* (FONSECA; BRAGA, 1924).

## 2.2 Etiologia

O *Anaplasma marginale* é uma rickettsia intraeritrocitária gram negativa que ao microscópio apresenta aspecto de uma inclusão arredondada ou ovalada, basófila de 0,3 a 0,8 µm de diâmetro (AMERAULT; MAZOLA; ROBY, 1973; LUNA-CASTRO, *et al.*, 2010). O parasita se dispõe isolado ou aos pares, normalmente na periferia do eritrócito. O corpúsculo inicial invade o eritrócito e posteriormente se multiplica para formar inclusões de 4 a 8 corpúsculos (KOCAN, 2010). Como é característico das Rickettsias, o *Anaplasma* sp não apresenta cromatina organizada em um núcleo com membrana limitante e, também, não apresenta retículo endoplasmático (KOCAN, 2010).

Até 2001 apenas três espécies do gênero *Anaplasma* eram reconhecidas como causadoras de anaplasnose em bovinos. O *A. marginale*, espécie mais patogênica; o *A. centrale* causador de uma forma benigna de anaplasnose em bovinos e o *A. caudatum* de baixa representatividade (CORONA; RODRIGUEZ; MARTINES, 2004)

Dumler *et al.* (2001) propuseram a reorganização da ordem *Rickettsiales* e foram incluídos ao gênero *Anaplasma* algumas espécies do gênero *Ehrlichia*. Desta forma, passaram a ser incluídas ao gênero as espécies: *A. phagocytophilum*, que infecta e causa doença em uma grande variedade de hospedeiros (humanos, caninos, bovinos, eqüídeos e pequenos ruminantes) e *A. bovis*, recentemente descrita infectando bovinos na microrregião de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro (SANTOS; CARVALHO, 2006).

## **2.3 Distribuição Geográfica**

O *Anaplasma* sp. é encontrado em todos os continentes como agente causador de anaplasmoze bovina. Sua disseminação é determinada por um grupo diversificado de vetores biológicos e mecânicos e as regiões tropicais e subtropicais são endêmicas para a doença devido à grande população de vetores presentes, diferentemente, das áreas de clima temperado, onde a infecção é esporádica. (FARIAS, 2007)

## **2.4 Transmissão**

### **2.4.1 Transmissão biológica**

Existe uma ampla variedade de artrópodes que podem transmitir a anaplasmoze, no Brasil os principais transmissores são os carrapatos da Família *Ixodidae* e as moscas da Família *Tabanidae*. Dentre os carrapatos o *Boophilus microplus* é o principal carrapato transmissor no Brasil. (MARTINS; CORREA, 1995).

### **2.4.2 Transmissão mecânica**

A transmissão mecânica pode ocorrer de forma iatrogênica através de fômites contaminados, como por exemplo seringas agulhas, etc... (GONÇALVES, 2000).

### **2.4.3 Transmissão transplacentária**

Há indícios que a transmissão de *Anaplasma* sp. de uma fêmea gestante para seu filhote pode ocorrer por via transplacentária, no qual o animal já nasceria portador da *Anaplasma* sp (ALCATRAZ, 1999).

## 2.5 Patogenia

### 2.5.1 Ciclo de vida no vertebrado

Os bovinos são os principais animais acometidos pelo *Anaplasma* sp. porém diversas espécies também são afetadas como ovinos, caprinos, suínos equinos (RADOSTITIS, *et al*, 2002)

No hospedeiro vertebrado, o ciclo de vida de *Anaplasma* sp, inicia com o corpúsculo inicial transmitido e inoculado pelo vetores. Este ingressa nos eritrócitos maduros por endocitose e formação de um vacúolo ao redor do parasita, no qual, em seguida, realiza divisão binária de 2, 4 e 8 unidades que em conjunto compõe o corpúsculo final. Uma vez completado o desenvolvimento, as subunidades se separam e abandonam o eritrócito sem destruí-lo. Então, são convertidos em novos corpúsculos iniciais prontos para infectar outros eritrócitos (FARIAS, 2007).

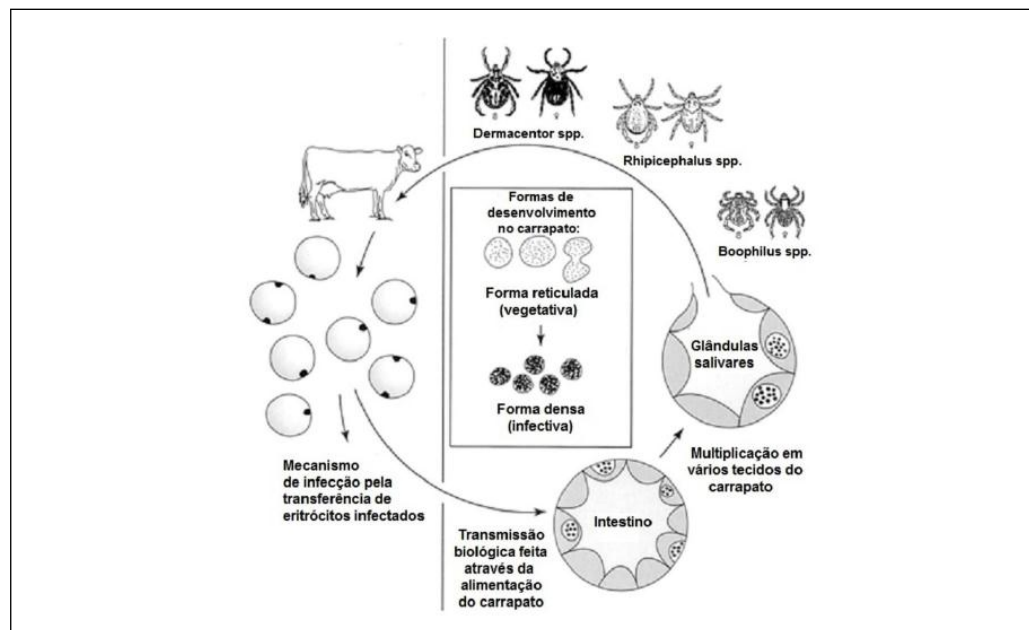
Os animais que superam a enfermidade mantém o *Anaplasma* sp. na circulação transformando-se em portadores crônicos e constituindo uma fonte de dispersão da doença, porém, ao mesmo tempo, se torna menos suscetíveis a serem afetados pela enfermidade novamente (RADOSTITIS, *et al*, 2002).

### 2.5.2 Ciclo de vida no invertebrado

Uma ampla variedade de artrópodes podem atuar como vetores biológicos na transmissão de anaplasmoze bovina. Carrapatos, moscas e mosquitos são os principais transmissores da enfermidade. No entanto, a fonte de infecção dos animais invertebrados normalmente é o animal vertebrado contaminado (RADOSTITIS, *et al*, 2002). A ocorrência de transmissão transovariana (infecção do adulto e após replicação no epitélio intestinal do carrapato, transmissão para a geração seguinte — F1) já foi detectada também em *Boophilus microplus* (DIKMANS, 1950), embora relatos de falhas em obter este tipo de transmissão tenham sido apresentados (UILEMBERG, 1973; THOMPSON; ROA, 1978).



Os fenômenos biológicos que ocorrem na maioria dos vetores são desconhecidos, porém, o ciclo biológico no *Boophilus* sp se inicia quando as fêmeas fecundadas e repletas de sangue caem do bovino e são depositadas em lugares protegidos no solo. No ambiente a fêmea tem um período de pré postura de 3 dias, após isso inicia-se o período de postura que permanece em torno de 15 dias, nos quais cada fêmea coloca de 2000 a 4000 ovos. Uma semana após a postura acontece a eclosão das larvas infectantes, as quais, em 4 a 7 dias já tem condições de infestar bovinos. A fase de vida livre pode, em condições ideais (27°C e umidade relativa acima de 70%), durar até 32 dias. As fêmeas morrem após a ovoposição e as larvas, que são de tamanho diminuto aguardam a presença de um hospedeiro para subir. Nos carrapatos é sabido que o *Anaplasma* sp se multiplica no intestino e nas glândulas salivares atuando como vetor biológico de propagação (FARIAS, 2007).



**Figura 1** Esquema do ciclo de desenvolvimento do *Anaplasma marginale* no bovino e no carrapato. Eritrócitos infectados são ingeridos por carrapatos (*Dermacentor* sp, *Rhipicephalus* sp e *Boophilus* sp) durante o raspado sanguíneo. O primeiro sítio de infecção do *A. marginale* nos carrapatos são as células do intestino. Quando o carrapato se alimenta uma segunda vez, muitos tecidos se infectam, incluindo os das glândulas salivares de onde a riquetsia é transmitida para ao bovino. Duas formas de *A. marginale*, reticulada e densa são encontradas em células infectadas pelo carrapato. As formas reticuladas aparecem primeiramente, sendo este o estágio vegetativo, que se divide por fissão binária. A forma reticulada se transforma na forma densa que é a forma infectiva. (KOCAN *et al*, 2003)

## **2.6 Sinais clínicos**

O período de duração da enfermidade é aproximadamente 30 a 45 dias. Os principais sinais clínicos são inapetência e elevação da temperatura corporal (GONÇALVES, 2000). Anaplasnose provoca nos bovinos quadros de anemia e a medida que a doença avança se observa icterícia e uma marcada perda de peso. Não se observa hemoglobinúria nos animais afetados, porém a urina pode ter coloração marrom devido à presença de pigmentos biliares (ALCATRAZ, 1999). Em fêmeas prenhes abortos são descritos com frequência (CORREA; CORREA; GOTTSCHALK, 1978).

### **2.6.1 Fase aguda**

Durante a fase aguda os sinais clínicos mais significativos são temperaturas acima de 41°C, anemia, prostração, inapetência, redução na produção leiteira, desidratação, dispneia, taquicardia, constipação, tremores, icterícia e bilirrubinemia (GONÇALVES, 2000).

Nos animais afetados o hematócrito pode ser inferior a 20%; vacas prenhes podem abortar e touros podem ter sua produção espermática reduzida devido à hipertermia (GONÇALVES, 2000).

### **2.6.2 Fase superaguda**

Os casos superagudos cursam com hipertermia acentuada, taquicardia, dispneia, hipersalivação e anemia. A evolução do quadro leva à morte do animal em até 24 horas após aparecimento da sintomatologia. A anaplasnose bovina apresenta alta morbidade e mortalidade em raças leiteiras europeias que não são muito adaptadas às condições climáticas do Brasil (GONÇALVES, 2000; FARIAS, 2007). Após o início dos sinais clínicos, caso o animal não receba tratamento a enfermidade evolui para a morte. Caso o animal se recupere, ele apresentará a fase crônica da doença (GONÇALVES, 2000).

### **2.6.3 Fase crônica**

Os animais que sobrevivem à fase superaguda, diminuem drasticamente a parasitemia, e após algumas semanas os valores hematológicos voltam à normalidade (RADOSTITS *et al*, 2002). Os bovinos recuperados permanecem infectados persistentemente com baixos níveis de parasitemia e estes animais são chamados de portadores assintomáticos de anaplasiose. Nesta fase é difícil de diagnosticar a enfermidade (RADOSTITS *et al*, 2002; FARIAS, 2007). Alguns animais afetados podem desenvolver esta fase da doença sem manifestações clínicas. Estes casos podem ser decorrentes de infecções com cepas atenuadas (KOCAN *et al*, 2003).

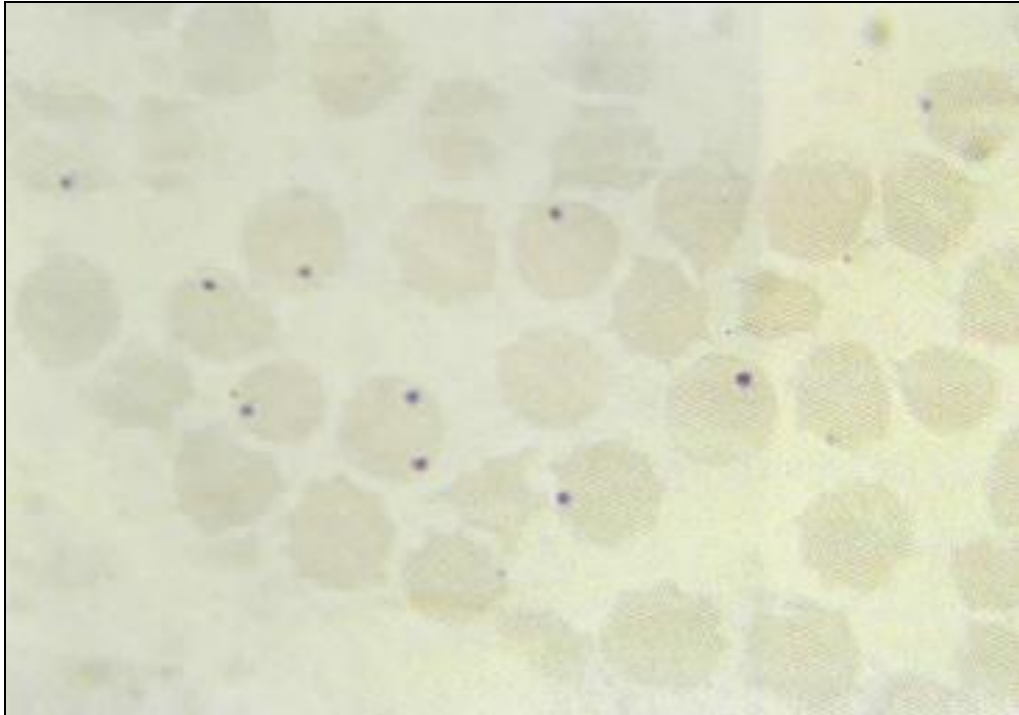
## **2.7 Diagnóstico**

### **2.7.1 Clínico**

Para diagnosticar um bovino clinicamente com anaplasiose é realizada aferição da temperatura retal, verificação de coloração de mucosas, além de ausculta cardíaca, pulmonares e ruminais (RADOSTITS *et al*, 2002).

### **2.7.2 Esfregaço de sangue e órgãos**

Esfregaços sanguíneos ou de órgãos são realizados para visualização de eritrócitos em microscópios após colorações especiais como a de GIEMSA (PROPHET, *et al*, 1992). Em caso de anaplasiose parte dos eritrócitos apresentam *Anaplasma* sp no seu interior que são evidenciados como corpúsculos basofílicos. Os órgãos mais comuns utilizados para observação eritrocitária são baço, fígado e rim (GONÇALVES, 2000).



**Figura 2 Esfregaço sanguíneo bovino.** Presença de eritrócitos parasitados com *Anaplasma Marginale* (URQUHART et al., 1998)

### 2.7.3 Sorologia

O diagnóstico sorológico normalmente é utilizado para levantamentos estatísticos de regiões ou propriedades. Os principais métodos utilizados são ELISA, imunofluorescência indireta e soroaglutinação. Sorologia não apresenta valor diagnóstico para avaliação clínica individual (FARIAS, 2007).

### 2.7.4 P.C.R. e Imunohistoquímica

Exames de P.C.R e imunohistoquímicas podem ser realizados para identificação do agente. Esses exames são realizados através de sangue ou órgãos de animais afetados (GONÇALVES, 2000; RADOSTITS *et al*, 2002).

### **2.7.5 Necropsia**

Na necropsia se observa desidratação, sangue aquoso, acúmulo de fluido no pericárdio e cavidade pleural, pulmões edematosos, fígado aumentado de tamanho e coloração amarelada, vesícula biliar repleta, baço aumentado de tamanho e coloração mais escura, além de hemorragias petequiais no pericárdio (GONÇALVES, 2000)

### **2.7.6 Diagnóstico diferencial**

#### **2.7.6.1 Babesiose**

Os sinais clínicos são muito semelhantes como hipertermia, icterícia e anemia. Além disso, muitas vezes ocorre infecção concomitante com anaplasmoses o que caracteriza o complexo que chamamos de Tristeza Parasitária Bovina (ALCATRAZ, 1999). A confirmação da diferenciação se faz pela análise dos hemoparasitas (FARIAS, 2007)

#### **2.7.6.2 Carbúnculo hemático**

Os casos de anaplasmoses superagudas podem mimetizar um quadro de Carbúnculo Hemático. Uma vez que ambas as doenças não apresentam sinais clínicos prévios a morte. Ademais, a necropsia assemelham-se por apresentarem esplenomegalia marcada (ALCATRAZ, 1999).

#### **2.7.6.3 Botulismo**

No botulismo os animais apresentam debilidade nos membros devido à paralisia flácida. Quadros de anemia grave devido a anaplasmoses podem ser clinicamente semelhantes. Entretanto o botulismo não apresenta normalmente hipertermia e icterícia, nem anemia (ALCATRAZ, 1999).

## 2.8 Tratamento

O tratamento medicamentoso da anaplasnose consiste no uso de oxitetraciclina na dose de 20mg/kg de peso vivo durante 2 a 3 dias por via parenteral. Este é o antibiótico mais comumente utilizado para combater o *Anaplasma* sp (RADOSTITS *et al*, 2002). Outra opção de antimicrobianos que são indicados no tratamento de riquetsias são as quinolonas como a Enrofloxacina na dose de 2,5mg/kg de peso vivo durante 2 a 3 dias por via parenteral (FACURY-FILHO *et al*, 2012).

O quimioterápico Dipropionato de Imidocarb pode ser utilizado no tratamento de anaplasnose, assim como para o tratamento de babesiose, na dose única de 2,4 – 3 mg/kg de peso vivo por via subcutânea (RADOSTITS *et al*, 2002; FARIA, 2007). Em casos de anemias graves, quando o número de eritrócitos for inferior a 2,5/milhões/mm<sup>3</sup> e o hematócrito é inferior a 12% o simples combate ao agente não é suficiente, e a transfusão sanguínea é necessária (GONÇALVES, 2000; FARIAS, 2007).

## 2.9 Prevenção e controle

A prevenção da anaplasnose através do controle dos vetores biológicos e da transmissão mecânica diminuem a disseminação da doença (RADOSTITS *et al*, 2002).

A administração de oxitetraciclinas de ação prolongadas como tratamento preventivo não é uma opção economicamente viável. Uma vez que onera o produtor com o descarte do leite, custo do fármaco, além de induzirem a resistência por parte do *Anaplasma* sp. ao medicamento (ALCATRAZ, 1999).

A vacina para a prevenção de anaplasnose, normalmente é produzida a partir de cepas de *A. centrale*, que possui como característica menor virulência e desenvolvimento de imunidade cruzada. A prevenção desta enfermidade pela vacinação é uma alternativa vantajosa em estabelecimentos produtores de bovinos em que a incidência da doença é elevada. Esta é uma opção a ser utilizada quando se transporta bovinos de áreas que não possuem vetores para áreas nas quais a doença é endêmica (ALCATRAZ, 1999).

A quimioprofilaxia é realizada mediante o uso de derivados do Imidocarb, por terem efeito de longa duração e são muito eficazes no caso de animais adultos, pois impede a manifestação clínica da anaplasmose. Durante o processo os animais devem ser infectados para que formem suas próprias defesas (RADOSTITS *et al*, 2002).

## **2.10 Perdas econômicas**

Segundo levantamento dos principais centros de diagnóstico do Brasil o complexo Tristeza Parasitária Bovina é um dos maiores causadores de mortes em bovinos (LUCENA *et al*, 2010). Esses dados estão de acordo com os encontrados em propriedades no Brasil, Argentina e Uruguai, nos quais os produtores apontam o carrapato *Ripicephalus (Boophilus) microplus* e os agentes por eles transmitidos, *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*, causadores do complexo Tristeza Parasitária Bovina (TPB), como os maiores problemas sanitários dos rebanhos (RADOSTITS *et al*, 2002). Nos EUA, a anaplasmose é responsável pela morte de 50.000 a 100.000 cabeças de bovinos anualmente, com perdas estimadas em U\$ 300 milhões. Ela atinge cerca de 30% das regiões enzoóticas do Estado do Texas, provocando a morte em 36% dos casos clínicos, 24% de abortos, perda de peso médio de 86kg por animal, durante a fase aguda da infecção e aumento de U\$ 52 e U\$ 30 com serviços veterinários e manejo, respectivamente (PALMER *et al.*, 1986).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local**

Propriedade destinada à produção leiteira localizada no município de Eldorado do Sul no Rio Grande do Sul que possuía bovinos de leite distribuídos entre a raça holandesa e jersey.

#### **3.2 Amostra**

471 animais que possuíam idade à cima de 3 meses de idade.

#### **3.3 Protocolo experimental**

A cepa de *Anaplasma centrale* foi cedida pelo Setor de Parasitologia do Instituto de Pesquisas Veterinária Desidério Finamor (IPVDF). A inoculação ocorreu em três etapas distintas para que o período de desenvolvimento de reações fosse observado com maior facilidade e sem afetar o manejo da propriedade. A primeira inoculação ocorreu em maio de 2013, a segunda inoculação ocorreu em junho de 2013 e a última inoculação ocorreu em dezembro de 2013.

Após a imunização os animais foram inspecionados diariamente no período de 15 a 30 dias após a inoculação, para avaliação de possíveis reações a inoculação.

Animais que apresentaram sintomatologia clínica de anaplasmosose foram tratados com Oxitetraciclina na dose de 20mg/kg em dose única.

Para avaliação das perdas gestacionais foram realizados exames ginecológicos no dia anterior as imunizações e 60 dias após as inoculações do *Anaplasma Centrale*.

Para avaliação do número de óbitos foi realizado um levantamento das mortes e suas causas no período correspondente a janeiro de 2010 até dezembro de 2014.

Para avaliação de perdas econômicas foi realizado levantamento do número de animais tratados para anaplasmosose clínica no período entre 2000 e 2015.

A tabela 1 apresenta a distribuição de idade dos animais imunizados e a suas situações gestacionais.



**Tabela 1** N° de animais imunizados de acordo com idade, gênero e situação gestacional.

<b>Idade (meses)</b>	<b>Prenhe</b>	<b>Vazia</b>
<b>0-12</b>	0	54
<b>13-24</b>	32	12
<b>25-36</b>	65	14
<b>+36</b>	126	168
<b>TOTAL</b>	223	248

#### 4 RESULTADOS

Dos 471 animais imunizados 57 apresentaram reações após as inoculações de A. centrale e a tabela 2 mostra a distribuição das reações conforme a idade e o gênero.

**Tabela 2** Animais imunizados que apresentaram reação de 15-30 dias após inoculação conforme idade e gênero.

<b>Idade</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>
<b>0-12</b>	8/54 (14,8%)	0/0
<b>13-24</b>	6/44 (13,6%)	0/0
<b>25-36</b>	13/79 (16,4%)	0/1
<b>+ de36 meses</b>	30/294 (10,2%)	0/1
<b>TOTAL</b>	57/471 (12,1%)	

Dentre os animais imunizados alguns apresentaram abortos conforme demonstrado na tabela 3.

**Tabela 3** Abortos ocorridos após a inoculação, de acordo com a idade da fêmea e tempo gestacional no momento da imunização.

<b>Idade (meses)</b>	<b>Abortos</b>	<b>Abortos</b>	<b>Abortos</b>	<b>Abortos</b>	<b>Abortos totais</b>
	<b>30-60</b>	<b>60-90</b>	<b>90-120</b>	<b>+120</b>	
<b>13-24</b>	1 (4)	2 (5)	1 (11)	0 (12)	4 (32) – 12,5%
<b>25-36</b>	5 (10)	2 (8)	0 (23)	0 (24)	7 (65) – 10,8%
<b>+ 36</b>	16 (35)	9 (27)	4 (29)	1 (35)	30 (126) – 23,8%
<b>TOTAL</b>	22 (49)	13 (40)	5 (63)	1 (71)	41 (223) – 18,4%

A tabela 4 apresenta as perdas gestacionais que ocorreram ao longo de 2012, 2013 e 2014, já a tabela 5 demonstra levantamento de prevalência entre 2000 e 2009 (CRUZ et al, 2011) e complementado com os dados encontrados na granja entre os anos de 2010 e 2014.

**Tabela 4** Perdas gestacionais globais na propriedade de acordo com o ano.

<b>Ano</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>
<b>Perdas gestacionais</b>	5,8%	12,2%	5,2%

**Tabela 5** Porcentagem de animais que apresentaram sinais clínicos de anaplasmosose e necessitaram de tratamento ao longo dos anos em relação ao rebanho total.

<b>Ano</b>	<b>% de animais tratados para anaplasmosose</b>
<b>2000</b>	43,7
<b>2001</b>	32,9
<b>2002</b>	36,8
<b>2003</b>	33,5
<b>2004</b>	33,5
<b>2005</b>	44,4
<b>2006</b>	38,7
<b>2007</b>	9,9
<b>2008</b>	11,1
<b>2009</b>	13,5
<b>2010</b>	40,8
<b>2011</b>	38,7
<b>2012</b>	39,1
<b>2013</b>	37,2
<b>2014</b>	4,8

(adaptado de CRUZ *et al*, 2011)

A Tabela 6 evidencia o levantamento das mortes ocorridas na propriedade nos anos de 2011, 2012, 2013 e 2014.

**Tabela 6** Número de animais mortos na propriedade de acordo com o ano.

<b>Ano</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>
<b>Total de mortes</b>	43	41	48	23
<b>Morte por anaplasnose</b>	27	22	28	2
	(62,8%)	(53,7%)	(58,3%)	(8,7%)

A Tabela 7 correlaciona a utilização de medicamentos para tratamento de animais infectados com anaplasnose entre 2010 e 2014 com o custo gastos pelo proprietário da granja.

**Tabela 7** Estimativa da utilização de medicamentos para tratamento de anaplasnose de acordo como ano.

<b>Ano</b>	<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>
Número de animais tratados	184	177	181	175	23
Estimativa de Oxitetraciclina (200mg) utilizada em ml	9200	8850	9050	8750	1150
Custo estimado em reais (considerando preço atual: 50 ml – R\$ 13 reais)	2.392	2.301	2.353	2.275	299

## 5 DISCUSSÃO

Anaplasmosse bovina é uma das principais causa de mortes no Rio Grande do Sul (FARIAS, 2007; LUCENA, 2010) e por consequência uma das principais causas de perdas econômicas aos criadores de bovinos. Tendo em vista o elevado número de casos dessa afecção foi desenvolvido este trabalho em conjunto com o Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e o Setor de Parasitologia Veterinária do IPVDF com intuito de alterar esta situação na propriedade em questão.

A inoculação de *Anaplasma centrale* tem como objetivo desenvolver imunidade cruzada contra o *Anaplasma marginale* que é o principal causador da anaplasmosse bovina (MARTINS; CORREA, 1995; SANTOS, 2011). Apesar do *A. centrale* ser menos patogênico que o *A. marginale*, ele pode desenvolver sinais clínicos da enfermidade como hipertermia, prostração e anemia embora de forma mais branda (MARTINS; CORREA, 1995; GONÇALVES, 2000).

Animais de diferentes idades foram inoculados com *A. centrale* e foi verificado que 12,1% dos animais imunizados tiveram que ser tratados com oxitetraciclina, pois apresentaram hipertermia e prostração. Entretanto ao ser realizada análise estatística do QI-quadrado evidenciamos que não houve diferença significativa entre as idades imunizadas. Após o tratamento estes animais apresentaram melhora clínica. Algumas vacinas comerciais compostas por *Anaplasma Centrale* recomendam aplicação de subdoses de oxitetraciclina no período de reação vacinal para evitar morte dos animais vacinados e garantir imunidade ao animal (GONÇALVES, 2000; SANTOS, 2011). Entretanto a subdose do antimicrobiano pode selecionar linhagens resistentes de *Anaplasma sp.* (KOCAN, 2003). Por esta razão, no presente estudo, somente foram tratados os animais que apresentaram sinais mais acentuados da enfermidade. Não houve grande variação de reação nas diferentes faixas etárias, nas quais entre 10 e 15% dos bovinos receberam tratamento.

Perdas gestacionais foram detectadas na palpação retal realizada 60 dias após a inoculação de *A. centrale*, a qual apresentou o resultado de 18,4% abortos. Aplicando-se o teste qui-quadrado nesses dados, obtém-se o valor de 46,5. Esse valor permite afirmar, mesmo a um nível de significância de 99,9%, que as diferenças observadas são estatisticamente diferentes de zero e que há, portanto, associação entre as variáveis – no

caso, entre o número de abortos e a idade gestacional. Historicamente os abortos variam entre 4,5 e 6% na propriedade, já a média de perdas gestacionais no ano de 2013 foi de 12,2% e foram superiores as observadas nos anos de 2012 e 2014. Esse aumento pode ser atribuído ao efeito da imunização com *Anaplasma centrale*. Alguns autores descrevem que essas perdas podem ocorrer devido à hipertermia (PIPANO, 1985; MELENDEZ, 2003) e outros defendem que as perdas podem ocorrer por transmissão transplacentária (CORREA, 1978) do agente.

Neste trabalho foram evidenciadas perdas gestacionais entre 10 e 20% em animais de diferentes idades, porém ficou evidente que a maior parte das perdas gestacionais ocorreram em animais com menos de 90 dias de prenhez.

Entre 2008 e 2014 diversos animais do rebanho foram tratados para anaplasnose e após a imunização a prevalência da enfermidade caiu de maneira acentuada o que evidencia a eficiência da inoculação de *Anaplasma centrale*. Pode ser observado também que nos anos de 2007, 2008 e 2009 a prevalência da enfermidade esteve a baixo da média do período e isso se deve a um acentuado controle de ectoparasitas que foi realizado na propriedade nesses anos especificamente (CRUZ et al, 2011). No entanto, o controle através da imunização obteve prevalência inferior à encontrada nesse período, o que indica a eficiência do procedimento.

Como a principal causa de mortes na propriedade era a anaplasnose, após o controle pela imunização com *Anaplasma centrale* o número total de perdas de animais também diminuiu consideravelmente na propriedade, o que provocou ganhos econômicos consideráveis para a propriedade devido a diminuição das mortes.

Pela mesma premissa relativa ao controle de anaplasnose, o número de animais que apresentaram a enfermidade e por consequência necessitaram tratamento reduziu como apresentado e esse fato representou na propriedade em questão uma economia de 85,6% nos gastos com oxitetraciclina para tratamento de animais doentes.

Para realizar uma análise mais detalhada do real impacto econômico causado pela anaplasnose nessa propriedade devem ser adicionados os custos com outros medicamentos que visem suprir as necessidades para sobrevivência do animal, os custos de transfusões de sangue, a baixa na produção de leite, as mortes, as mortes embrionárias, as mortes fetais, além do custo com o atendimento veterinário, porem

com os dados já obtidos fica claro que houve um forte impacto positivo economicamente aumentando assim a produtividade da fazenda.

## 6 CONCLUSÕES

Animais imunizados com *Anaplasma centrale* desenvolvem imunidade cruzada com *Anaplasma marginale*, porém a imunização pode causar o desenvolvimento de sinais clínicos e abortos em bovinos.

A imunização em vacas prenhes na fase inicial de gestação deve ser tratada com atenção, pois foi observado taxa de aborto acima da média do rebanho.

Os resultados da imunização foram positivos pelo ponto de vista econômico, pois após o período de reação vacinal os animais imunizados apresentaram prevalência de anaplasmoses significativamente inferior aos anos anteriores o que diminuiu drasticamente os custos com medicamentos e com atendimento veterinário.



## REFERÊNCIAS

- ALCATRAZ, E.L. Anaplasmosis bovina. **El Sitio de la Produccion Animal**, v.332. p.1-3, 1999.
- AMERAULT, T.E.; MAZOLA, V, ROBY, T.O. Gram-Staining characteristics of *Anaplasma marginale*. **American Journal of Veterinary Research**, v.;34, n.4, p.552-555, 1973.
- ARAÚJO, F.R. *et al.* Freqüência de anticorpos anti-*Anaplasma marginale* em rebanhos leiteiros da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.50, n.3, p.243-246, 1998.
- BABES, V. Sur l'hémoglobinurie bactérienne boeuf. Comptes Rendus Hebdomadaires de Seances. **l'Academie de Sciences**, v.107, p.692-964, 1888.
- CARINI, A. O *Anaplasma marginale* em São Paulo: contribuição ao estudo das formas da tristeza que se observam em São Paulo. **Revista Medica de São Paulo**, v.8, n.24, p.24, 1910.
- CORONA, B.; RODRIGUEZ, M.; MARTINEZ, S. Bovine anaplasmosis. **REDVET**, v.6, n.4, p.1-27, 2004.
- CORREA, W.M.; CORREA, C.N.M.; GOTTSCHALK, A.F. Bovine abortion associated with *Anaplasma marginale*. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.42, p.227-228, 1978.
- CRUZ, C.E.F. *et al.* Records of performance and sanitary status from a dairy cattle herd in Southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.1, p.1-9, 2011.
- DIKMANS, G. The transmission of anaplasmosis. **American Journal of Veterinary Research**. Chicago, v.2, n.38, p.5-16, 1950.
- DUMLER, J. S. *et al.* Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and HE agent as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. International. **Journal of Systematic Evolution Microbiology**, v.51, n.6, p.2145-2165, 2001.
- FACURY-FILHO, E.J. *et al.* Effectiveness of enrofloxacin for the treatment of experimentally-induced bovine anaplasmosis. **Revista Parasitologia de Veterinária**, v.21, n.1, p.32-36, 2012.
- FARIAS, N.A. Tristeza Parasitária Bovina. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3ed, v.1, Santa Maria, Pallotti, p.524-532, 2007.
- FONSECA, A.; BRAGA, A. **Noções sobre Tristeza Parasitária dos bovinos**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1924, 216p.

GONÇALVES, P.M. Epidemiologia e controle da Tristeza Parasitária Bovina na região do sudeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.30, n.1, p.187-194, 2000.

KOCAN, K.M. *et al.* Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, p.698-712, 2003.

KOCAN, K.M. *et al.* The natural history of *Anaplasma marginale*. **Veterinary Parasitology**, v.167, p.95-107, 2010.

KREIER, J.P.; RISTIC, M. Organisms of the family Anaplasmataceae in the forthcoming eight edition of Bergey's manual. In: Proceedings National 6<sup>th</sup> Anaplasmosis Conference. **Anais**. Nevada 1973, p.24-28.

LUCENA, R.B. *et al.* Doenças de bovinos no sul do Brasil:6706 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.5, p.428-434, 2010.

LUNA-CASTRO, G.S. *et al.* Cultivo *in vitro* de *Anaplasma marginale* em linhas celulares endoteliaes. **Revista Mexicana de Ciências Pecuárias**, v.1, n.4, 373-390, 2010.

MARTINS, J.R.; CORRÊA B.L. Babesiose e anaplasmoze bovina: aspectos destas enfermidades. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**,v.1, n.1, p.51-58, 1995.

MELLENDEZ, R.D. *et al.* Humoral immune response and hematologic evaluation of pregnant Jersey cows after vaccination with *Anaplasma centrale*. **Veterinary Microbiology**, v.94, p.335-339, 2003.

PALMER, G.H. *et al.* Immunization with an isolate-common surface protein protects cattle against anaplasmosis. **Science**, v.231, p.1299-1301, 1986.

PILCHER, K.S.; WU, W.G.; MUTH,O.H. Studies on the morphology and respiration of *Anaplasma marginale*. **American Journal Veterinary Research**, v.22, p.298-307, 1961.

PIPANO, E.; MAYER, E.; FRANK, M. Comparative response of friesian milking cows and calves to *Anaplasma central* vaccine. **British Veterinary Journal**, v.1.p.141-174, 1985.

RIBEIRO, M.F.B.; REIS, R. Exposição natural de bezerros, em área endêmica de *Anaplasma marginale* em Minas Gerais. **Arquivo da Escola Superior de Veterinária da UFMG**, v. 33, p.63-6, 1981.

RISTIC, M.; WATRACH, A.M. Studies in anaplasmosis. II Electron microscopy of *Anaplasma marginale*. **American Journal of Veterinary Research**, v.22, p.109-116, 1974.

SANTOS, P.S. Epitopos imunodominantes da MSP1A de *Anaplasma marginale* e suas aplicações diagnósticas e vacinais. **Tese de doutorado**, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011, 81p.

SANTOS, C. F.; CARVALHO, C. B. Primeiro relato de *Anaplasma bovis* (Donatien e Lestoquard, 1936) Dumler et al. (2001) na microrregião de Campos dos Goytacazes,

Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.3, p.126-127, 2006.

SOUZA, J.P.C. *et al.* Soroprevalência de *Anaplasma marginale* em bovinos na mesorregião Norte Fluminense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, n.3, p.97-101, 2000.

FARIAS, N.A. Tristeza Parasitária Bovina. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3ed, Santa Maria, Palloti, v.1, p.524-532, 2007.

PROPHET, E.B. *et al.* **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: American Registry of Pathology, 1992, 279p.

RADOSTITS, O.M. *et al.* Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos Bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. IN: **Doenças Causadas por Riquetsias: Anaplasmose**. 9ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, cap.23, p.1132-1136, 2002.

ROBERTIS, E.; EPSTEIN, B. Electron microscope study of anaplasmosis in bovine red blood cells. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.77, p.254-258, 1951.

SIEBER, H. *Anaplasma marginale*. **Infektionskrankh**, v.65, n.3, p.104-116, 1911.

SMITH, T.; KILBORNE, F.L. Investigations into the nature, causation and prevention of Texas or Southern cattle fever. **USDA Bureau of animal bull**, v.1, p.1-301, 1893.

THEILER, A. *Anaplasma marginale*. The marginal points in the blood of cattle suffering from a specific disease. **Report to Government Bacteriology Transvaal South Africa**, v.7, p.1908-1909, 1910.

THOMPSON, K.C.; ROA, J.C. Transmision de *Anaplasma marginale* por la garrapata *Boophilus microplus*. **Revista de Intituto Colombiano Agropecuário**, v.13, n.1, p.131-134, 1978.

UILEMBERG, G. Transmition of *Anaplasma marginale* by thecauleriek *Boophilus microplus*. **Australian Veterinary Journal**, v.49, p.216, 1973.

URQUHART G. M. *et al.* **Parasitologia Veterinaria 2Ed**, Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 1998, 273p.