

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

**CAUSAS INFECCIOSAS DE ABORTAMENTOS EM RUMINANTES NO ESTADO
DO RIO GRANDE DO SUL**

LUAN CLEBER HENKER

PORTO ALEGRE

2022

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

**CAUSAS INFECCIOSAS DE ABORTAMENTOS EM RUMINANTES NO ESTADO
DO RIO GRANDE DO SUL**

Autor: Luan Cleber Henker

**Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Doutor em Ciências
Veterinárias na área de concentração em
Medicina Veterinária Preventiva e Patologia:
Patologia Animal e Patologia Clínica**

Orientador: Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini

PORTO ALEGRE

2022

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

CIP - Catalogação na Publicação

Henker, Luan Cleber
Causas infecciosas de abortamentos em ruminantes no
estado do Rio Grande do Sul / Luan Cleber Henker. --
2022.
86 f.
Orientador: Saulo Patinatti Pavarini.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre,
BR-RS, 2022.

1. Abortamentos. 2. Ruminantes. 3. Doenças
reprodutivas. 4. Tristeza Parasitária Bovina. I.
Patinatti Pavarini, Saulo, orient. II. Título.

LUAN CLEBER HENKER

CAUSAS INFECCIOSAS DE ABORTAMENTOS EM RUMINANTES NO ESTADO DO
RIO GRANDE DO SUL

Aprovada em 21 de junho de 2022.

APROVADA POR:

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini

Orientador e Presidente da Comissão

Prof^a Dra Caroline Argenta Pescador

Membro da Comissão

Prof. Dr. David Driemeier

Membro da Comissão

Prof^a Dra Renata Assis Casagrande

Membro da Comissão

Dedico este trabalho a minha querida mãe, Ivanelde Henker, que sempre será meu maior exemplo e minha maior incentivadora.

RESUMO

Abortamentos acarretam grandes perdas econômicas em sistemas de produção animal em todo o mundo. A investigação patológica das causas de abortamento em animais de fazenda faz-se crucial para a melhor compreensão das enfermidades reprodutivas e visa a redução de perdas econômicas e a mitigação do risco atrelado a disseminação de doenças zoonóticas. Este estudo busca caracterizar determinadas doenças infecciosas que cursam com abortamentos em ruminantes a partir de dados obtidos através da avaliação anatomopatológica de fetos e membranas fetais remetidos ao Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS). A tese é composta por quatro artigos científicos e um material técnico ilustrado voltado a avaliação anatomopatológica em casos de abortamentos. O primeiro artigo tem por objetivo caracterizar os achados patológicos e etiológicos de casos de perdas fetais e perinatais associadas a infecção transplacentária por agentes do complexo Tristeza Parasitária Bovina (TPB) (*Anaplasma marginale* e *Babesia bovis*). Seis bezerros (dois fetos abortados em terço gestacional final, dois natimortos e dois neonatos) foram remetidos para a avaliação patológica. Os achados de necropsia foram consistentes com TPB e incluíram hepatoesplenomegalia, icterícia, bile grumosa, rins escuros e encéfalo cor de cereja. Através de ferramentas moleculares, detectou-se a infecção exclusivamente por *Babesia* sp. em três casos, por *Anaplasma* sp. em um caso, além de coinfeções por *Babesia* sp e *Anaplasma* sp. em dois casos. No segundo artigo realizou-se um estudo retrospectivo no arquivo do SPV-UFRGS (2004–2019) dos casos de abortamento bovino causados por agentes bacterianos e fúngicos esporádicos/opportunistas. Dezenove casos de abortamento bacteriano e cinco casos de abortamento fúngico foram avaliados. Alterações macroscópicas foram incomuns em casos de abortamento de origem bacteriana e dois padrões microscópicos foram observados: 1) broncopneumonia primária com ocasional disseminação em casos de infecção por *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., e *Mannheimia haemolytica*; 2) doença sistêmica com septicemia em casos de infecções por *Escherichia coli* e *Listeria* sp. *Aspergillus* sp. foi o principal agente fúngico identificado, e casos de aborto micótico apresentaram placentite, dermatite e pneumonia. O terceiro artigo traz os achados patológicos e microbiológicos de um caso de abortamento bovino devido a infecção por uma cepa de *Staphylococcus aureus* de alta virulência. O quarto artigo relata os achados epidemiológicos, sorológicos, moleculares e patológicos de um surto de abortamentos em um rebanho ovino no estado do Rio Grande do Sul devido a infecção por *Toxoplasma gondii* (genótipo clonal tipo III). Por fim, o material técnico ilustrado produzido busca compilar informações referentes a avaliação *post mortem* em fetos de ruminantes e equinos. Tópicos abordados nesse material incluem especificidades da técnica de necropsia, método de coleta de amostras, lesões macroscópicas, não lesões, diferenciação de morte fetal intrauterina e extrauterina, achados *post mortem*, particularidades microscópicas e artefatos. Este material tem por objetivo servir como uma ferramenta adicional de consulta para estudantes, médicos veterinários e patologistas veterinários que trabalham no diagnóstico de casos de abortamento.

Palavras-chave: Doenças reprodutivas. Abortamentos. Ruminantes. Hemoparasitas. *Toxoplasma gondii*.

ABSTRACT

Abortions lead to significant economic losses in livestock systems worldwide. Pathological investigations on causes of abortion in farm animals are crucial to improve the understanding about reproductive diseases, aiming to reduce economic losses and mitigate the risk of dissemination of zoonotic diseases. The aim of this study is to characterize certain aspects of infectious diseases that lead to abortion in ruminants with data obtained through the *postmortem* examinations of fetuses and fetal membranes referred for analysis at Setor de Patologia Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS). This dissertation comprises four scientific articles and an illustrated technical material focused on the anatomopathological examination in cases of abortion. In the first article we aimed to characterize the pathological and etiological findings of cases of fetal loss and perinatal death due to transplacental infection by tick fever agents (*Anaplasma marginale* e *Babesia bovis*). Six calves (two third-trimester aborted fetuses, two stillborn fetuses, and two calves that died in the neonatal period) were submitted for pathological examination. Necropsy findings were consistent with tick fever and included hepatosplenomegaly, icterus, grumous bile, dark kidneys, and “cherry-pink” discoloration of the encephalon. Through molecular assays, it was possible to detect three cases of *Babesia* sp. infection alone, and one case of *Anaplasma* sp. infection alone. Co-infections with *Anaplasma* sp. and *Babesia* sp. were detected in two cases. For the second manuscript, we conducted a retrospective study compiling cases of bovine abortion due to sporadic/opportunistic fungal and bacterial agents diagnosed at SPV-UFRGS (2004 – 2019). Nineteen cases of bacterial etiology and five cases of fungal etiology were assessed. In cases of bacterial etiology, gross changes were uncommon and two different microscopic patterns were observed: 1) primary bronchopneumonia with occasional dissemination in cases of *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., and *Mannheimia haemolytica* infections; and 2) systemic disease with sepsis in cases of *Escherichia coli* and *Listeria* sp. infections. *Aspergillus* sp. was the main fungal agent identified, and cases of mycotic abortion were characterized by placentitis, dermatitis, and pneumonia. In the third manuscript, we report the pathological and microbiological findings of a case of bovine abortion due to the infection by a highly virulent *Staphylococcus aureus* strain. In the fourth manuscript, we report the epidemiological, serological, molecular and pathological findings of an abortion outbreak in a sheep flock in the State of Rio Grande do Sul due to infection by *Toxoplasma gondii* (clonal Type III). Finally, we produced an illustrated technical material aiming to compile information on the postmortem examination of fetuses of ruminants and horses. Topics covered in this material include necropsy technique specificities, sampling method, gross lesions, nonlesions, findings to differentiate intrauterine and extrauterine fetal death, postmortem changes, normal microscopic findings, and artifacts. This technical material aims to provide an additional tool for students, veterinarians and veterinary pathologists working with the diagnosis of abortion cases.

Keywords: Reproductive diseases. Abortion. Ruminants. Hemoparasites. *Toxoplasma gondii*.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 8 |
| 2 ARTIGO 1 | 12 |
| 3 ARTIGO 2 | 15 |
| 4 ARTIGO 3 | 18 |
| 5 ARTIGO 4 | 27 |
| 6 MATERIAL TÉCNICO | 30 |
| 7 PRODUÇÕES ADICIONAIS..... | 31 |
| 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 32 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 34 |

1 INTRODUÇÃO

Perdas reprodutivas representam importantes limitantes econômicos em sistemas de produção animal em todo o mundo (JONKER, 2004; CABELL, 2007). Eventos de reabsorção embrionária, abortamentos, natimortalidade e morte perinatal estão diretamente associados à baixos índices de produtividade e rentabilidade em sistemas de criação de bovinos de corte, bovinos de leite, pequenos ruminantes, suínos e equinos (JONKER, 2004; DE VRIES, 2006; REESE et al., 2020).

Abortamentos levam a perdas econômicas decorrentes do aumento do intervalo entre partos, diminuição do número de dias em lactação/número de lactações (bovinos de leite) (DE VRIES, 2006), redução do número de bezerros desmamados ao ano (bovinos de corte) (REESE et al., 2020), elevação das taxas anuais de descarte e reposição, além da elevação dos custos de produção decorrentes de gastos com alimentação, insumos, medicamentos, assistência técnica, entre outros (DE VRIES, 2006). O estabelecimento do valor monetário atrelado a uma morte fetal individual é de difícil estimação, e variáveis do cálculo incluem o estágio de gestação, o nível de produção individual, a composição genética e valor comercial dos animais, o tipo de sistema de produção e o nível de tecnificação da propriedade (DE VRIES, 2006). Apesar da difícil determinação desses custos, um estudo anterior indica que as perdas decorrentes de um único abortamento alcançam valores médios de U\$ 555 em propriedades leiteiras com sistemas intensivos na América Do Norte (DE VRIES, 2006).

Além do relevante impacto econômico decorrente das perdas fetais, inúmeros agentes infecciosos relacionados a desordens reprodutivas em ruminantes possuem caráter zoonótico, e desta maneira, apresentam relevância a nível de saúde pública (JONKER, 2004). Entre estes agentes tem-se a infecção por *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., *Coxiella burnetii*, entre outros (JONKER, 2004; CLOTHIER e ANDERSON, 2012; ANTONIASSI et al., 2016). Desta forma, a investigação patológica das causas de abortamento em animais de produção visa embasar a elaboração de estratégias com foco na redução de perdas econômicas bem como o monitoramento e a mitigação do risco atrelado a disseminação de doenças potencialmente zoonóticas (JONKER, 2004).

A determinação das causas de abortamento em animais domésticos é uma tarefa desafiadora e laboriosa (NJAA 2012). A avaliação anatomopatológica de fetos e membranas fetais é uma importante ferramenta empregada no diagnóstico de doenças reprodutivas, entretanto, esta apresenta inúmeras dificuldades intrínsecas o que leva a baixas taxas de

diagnóstico (SCHLAFER e FOSTER, 2016; NJAA, 2012). Por exemplo, estudos retrospectivos que avaliam causas de abortamentos em bovinos indicam taxas diagnósticas que variam de 30-55% (ANTONIASSI, 2012; CLOTHIER e ANDERSON, 2016; MACÍAS-RIOSECO et al., 2020; WOLF-JÄCKEL et al., 2020).

Entre as dificuldades para o estabelecimento do diagnóstico tem-se a grande variedade de agentes não infecciosos e infecciosos potencialmente envolvidos em casos de abortamentos (NJAA, 2012). Entre os agentes não infecciosos, citam-se fatores individuais, doenças sistêmicas que afetam a matriz, eventos estressores, além de doenças nutricionais, tóxicas, genéticas e metabólicas, estas que majoritariamente não cursam com lesões significativas ou específicas nos tecidos fetais e placenta (SCHLAFER e FOSTER, 2016; NJAA, 2012). Dentre as causas infecciosas citam-se agentes primários e oportunistas, incluindo uma vasta gama de bactérias, fungos, protozoários e vírus (CABELL, 2007; NJAA, 2012; SCHLAFER e FOSTER, 2016).

Outros fatores limitantes ao diagnóstico das causas de abortamentos incluem o elevado grau de autólise, frequentemente observado em fetos remetidos para a avaliação laboratorial, aliado ao fato de que determinados agentes infecciosos com frequência não encontram-se associados ao desenvolvimento de alterações morfológicas apreciáveis (NJAA, 2012; SCHLAFER e FOSTER, 2016). Ainda, a investigação das causas de abortamento constitui uma tarefa laboriosa e dispendiosa, visto que o procedimento de necropsia aliado a histopatologia, embora fundamentais, com frequência não são suficientes para o estabelecimento do diagnóstico definitivo, desta forma, a realização de exames complementares faz-se essencial (NJAA, 2012; SCHLAFER e FOSTER, 2016). Portanto, estudos com o foco em expandir a compreensão a respeito das causas de abortamentos, dos achados anatomopatológicos em tecidos e membranas fetais e das técnicas diagnósticas complementares rotineiramente empregadas são imprescindíveis para a melhoria das taxas de diagnóstico laboratorial.

No Brasil, estudos realizados a partir dos anos 1990 e 2000, por laboratórios de patologia veterinária, com destaque para o Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS), visaram estabelecer um panorama geral de algumas das principais causas de abortamentos em ruminantes, equinos e suínos (CORBELLINI et al., 2002; PESCADOR, 2005; CORBELLINI et al., 2006; PESCADOR et al., 2007a; PESCADOR et al., 2007b; PESCADOR, 2008; ANTONIASSI, 2012; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2012; JUFFO, 2016; ANTONIASSI et al., 2016; DA

COSTA, 2020; WITHOEFT, 2021). Embora estes trabalhos representem peças fundamentais para a compreensão da ocorrência de doenças associadas a abortamentos em território nacional, principalmente na região sul do Brasil, o conhecimento científico sobre inúmeras doenças/causas de abortamento ainda é limitado a nível nacional.

A observação da rotina diagnóstica do SPV-UFRGS permite determinar lacunas de conhecimento no campo de estudo de causas de abortamento em animais de fazenda, favorecendo a realização de estudos adicionais, o que leva a expansão do corpo de conhecimentos sobre o tópico. Esses estudos podem ser úteis para médicos veterinários que acompanham sistemas de produção animal, bem como para pós-graduandos e patologistas veterinários que trabalham na rotina anatomopatológica e avaliam casos de abortamentos.

Entre as lacunas mencionadas, citam-se os casos de morte fetal e neonatal por *Anaplasma marginale* e *Babesia bovis*. Estes agentes pertencem ao complexo Tristeza Parasitária Bovina (TPB), que constitui uma das principais causas de doença e mortalidade em bovinos da região sul do país (ALMEIDA et al., 2006; LUCENA et al., 2010; MELLO et al., 2017). Entretanto, descrições de doenças reprodutivas, como abortamentos, natimortalidade e morte neonatal associadas a estes agentes, em especial a protozoários do gênero *Babesia*, são extremamente escassas na literatura internacional (CORREA, 1978; TRUEMAN e MCLENNAN, 1987; COSTA et al., 2016).

Outra lacuna de conhecimento observada refere-se à caracterização da infecção por micro-organismos considerados oportunistas. Agentes bacterianos e fúngicos esporádicos, apesar de não representarem etiologias primárias de doença reprodutiva, são listados como causas relativamente frequentes de abortamentos em inúmeras espécies domésticas (KIRKBRID, 1993; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2012). Entretanto, na espécie bovina esses agentes são pouco discutidos na maior parte dos estudos, devido a sua menor importância enquanto doença reprodutiva primária ou como causadores de surtos de abortamentos (CLOTHIER e ANDERSON, 2012). A avaliação da literatura disponível sobre o tópico permite observar que estudos focados na caracterização patológica de episódios de abortamento bovino associados a estes agentes são escassos (KIRKBRID, 1993).

A infecção por *Toxoplasma gondii* é uma das principais causas de abortamentos em pequenos ruminantes em diversos países (DUBEY, 2009). No Brasil, surtos de abortamentos decorrentes da infecção por este protozoário são relatados principalmente em caprinos (PESCADOR et al., 2007b), e menos frequentemente em ovinos (WITHOEFT, 2021). Entretanto, descrições dos aspectos moleculares observados em surtos espontâneos de

abortamentos em ovinos são escassos no Brasil. Uma vez que a infecção por *T. gondii* é extremamente prevalente em humanos e animais no Brasil (DUBEY et al., 2012), e que isolados de *T. gondii* identificados na América do Sul apresentam alta variabilidade genética (DARDÉ et al., 2014), destaca-se a importância da expansão do conhecimento sobre os achados moleculares de *T. gondii* em surtos de abortamento ovino no Brasil.

Por fim, a avaliação anatomopatológica de fetos e membranas fetais é repleta de particularidades, o que pode ser desafiador para veterinários, pós-graduandos e patologistas veterinários. Ao decorrer do desenvolvimento da tese detectou-se uma pronunciada escassez de bibliografia disponível a respeito de particularidades da avaliação anatomopatológica e do processo diagnóstico em casos de abortamentos em animais de fazenda. Embora algumas iniciativas importantes estejam disponíveis, como por exemplo, um artigo com foco no processo diagnóstico em casos de abortamento suíno (PESCADOR et al., 2010), a literatura científica sobre o tema em língua portuguesa é bastante escassa e fragmentada, especialmente tratando-se de ruminantes e equinos.

Desta maneira, esta tese tem por objetivo principal compilar e documentar aspectos patológicos e etiológicos pouco descritos de causas infecciosas de abortamentos em bovinos e ovinos diagnosticadas no estado do Rio Grande do Sul. Além disso, um objetivo adicional deste trabalho consiste na elaboração de um material técnico ilustrado focado em particularidades da avaliação anatomopatológica e do processo diagnóstico em casos de abortamentos em ruminantes e equinos.

2 ARTIGO 1

Neste item é apresentado o artigo intitulado “**Bovine abortion, stillbirth and neonatal death associated with *Babesia bovis* and *Anaplasma* sp. infections in southern Brazil**”. Este artigo encontra-se publicado no periódico científico “*Ticks and Tick-borne Diseases*” com endereço de DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101443>.

**Bovine abortion, stillbirth and neonatal death associated with *Babesia bovis* and
Anaplasma sp. infections in southern Brazil**

Luan Cleber Henker^{a*}, Marina Paula Lorenzett^a, Renata Fagundes-Moreira^b, André Gustavo
Cabrera Dalto^c, Luciana Sonne^a, David Driemeier^a, João Fabio Soares^b, Saulo Petinatti
Pavarini^a

^aVeterinary Pathology Department, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS),
Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

^bLaboratory of Protozoology and Vector-borne Rickettsiosis, UFRGS, Porto Alegre, Rio
Grande do Sul, Brazil.

^cLarge Animal Clinic, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

*Corresponding author: Luan Cleber Henker, Veterinary Pathology Department, UFRGS,
Avenida Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 91540-000, Brazil. E-mail
address: henkerluan@hotmail.com

Abstract

Anaplasmosis and Babesiosis are tick-borne diseases widely disseminated in cattle herds in many parts of the world. These diseases represent important causes of death and economic losses in several countries, including Brazil, and are characterized by hemolytic disease and anemia. Animals of all ages may be affected. Although transplacental infections are known to occur, abortion, stillbirth and neonatal death directly associated with *Anaplasma marginale* and especially *Babesia* spp. infections have rarely been documented in cattle. The objective of the present study is to describe the pathological and molecular findings of two cases of bovine abortion, two cases of stillbirth and two cases of neonatal death associated with intrauterine anaplasmosis and/or babesiosis in Southern Brazil. All cases occurred in beef farms in the state of Rio Grande do Sul, between 2017 and 2019. Angus and crossbred calves were affected. At the necropsy, the main gross lesions observed included different degrees of splenomegaly, enlarged and yellow liver, thick and grumous bile, pallor or jaundice of mucous membranes and carcass, and dark kidneys. Four calves also presented cherry-pink discoloration of the central nervous system. Cytological slides enabled the observation of intraerythrocytic organisms consistent with *Babesia bovis* (3/6) and *A. marginale* (2/6). Through PCR assays, it was possible to detect three cases of *Babesia* sp. infection alone, and

one case of *Anaplasma* sp. infection alone. Co-infections with *Anaplasma* sp. and *Babesia* sp. were detected in two cases. These findings reaffirm that anaplasmosis and babesiosis should be considered as an important differential diagnosis of fetal loss, stillbirth and neonatal death in cattle in areas where these diseases occur.

Key-words: cattle; hemoparasites; fetal loss; Anaplasmosis; Babesiosis.

3 ARTIGO 2

Neste item é apresentado o artigo intitulado **“Pathological and etiological characterization of cases of bovine abortion due to sporadic bacterial and mycotic infections.”** O artigo foi submetido para publicação no periódico *“Brazilian Journal of Microbiology”*.

Pathological and etiological characterization of cases of bovine abortion due to sporadic bacterial and mycotic infections

Luan Cleber Henker^{a*}, Marina Paula Lorenzetti^a, Bruna Correa Lopes^a, Igor Ribeiro dos Santos^a, Marcele Bettim Bandinelli^a, Daniele Mariath Bassuino^b, Gregory Duarte Juffo^c, Nadia Aline Bobbi Antoniassi^d, Caroline Argenta Pescador^e, Luciana Sonne^a, David Driemeier^a, Saulo Petinatti Pavarini^a

^aSetor de Patologia Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenida Bento Gonçalves 9090, Prédio 42.505, Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS, 91540-000, Brazil. *Corresponding author: luanchenker@gmail.com.

^bUniversidade de Cruz Alta (UNICRUZ), Bairro Educacional, Rodovia Municipal Della Campus Mea, Cruz Alta, RS, 98020290, Brazil;

^cUniversidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT);

^dInstituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Avenida Alexandre Ferronato - de 992 a 1000, Sinop, MT, 78557-267, Brazil;

^eLaboratório de Patologia Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Avenida Fernando Corrêa da Costa 2367, Boa Esperança, Cuiabá, MT, 78069-900, Brazil.

Abstract

Opportunistic bacteria and fungi are commonly reported causes of bovine abortion in a small percentage of fetal losses of infectious etiology in cattle. The objective of this study was to characterize the pathological and etiological findings in fetuses aborted due to secondary bacterial and fungal infections submitted for postmortem examination between 2004–2019 in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Nineteen cases of bacterial etiology and five cases of fungal etiology were assessed. In cases of bacterial etiology, gross changes were uncommon and two different microscopic patterns were observed: 1) primary bronchopneumonia with occasional dissemination in cases of *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., and *Mannheimia haemolytica* infections; and 2) systemic disease with sepsis in cases of *Escherichia coli* and *Listeria* sp. infections. *Aspergillus* sp. was the main fungal agent identified, and cases of mycotic abortion were characterized by placentitis, dermatitis, and pneumonia. Fetal membranes were available for examination in less than half of the submissions (11/24), and placental lesions were observed in all cases. This study reaffirms the importance of

postmortem examinations in the determination of causes of fetal loss in cattle and highlights pathological findings commonly observed in fetuses aborted due to sporadic bacterial and fungal agents.

Keywords: fetal loss, postmortem examination; histopathology; microorganism; opportunist; placenta.

4 ARTIGO 3

Neste item é apresentado o artigo intitulado: “**Bovine abortion associated with *Staphylococcus aureus* infection – Case report and characterization of *S. aureus* strain isolated from fetal tissues.**” Este artigo foi publicado no periódico científico “*Ciência Rural*” com endereço de DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190901>.

Bovine abortion associated with *Staphylococcus aureus* infection – Case report and characterization of *S. aureus* strain isolated from fetal tissues

Luan Cleber Henker^{1,*} Marina Paula Lorenzetti¹ Camila Imperico Riboldi² Franciele Maboni Siqueira² David Driemeier¹ Saulo Petinatti Pavarini¹

¹Setor de Patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: henkerluan@hotmail.com. *Corresponding author. ²Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

Abstract

Staphylococcus aureus is a gram-positive bacterium, commonly found colonizing the skin and mucous membranes of humans and animals. The present report describes a case of fetal loss associated with *S. aureus* infection in a cow. A six-month old, crossbred male bovine fetus from a beef farm was submitted for necropsy. At gross examination fibrinous pleuropneumonia was observed. Histologically, lesions were restricted to the lungs and consisted of marked multifocal to coalescing areas of inflammatory infiltrate of neutrophils, abundant fibrin exudation, necrosis of bronchiolar epithelium and numerous aggregates of coccoid bacteria. Lung and abomasal fluid bacterial culture yielded pure culture of *S. aureus*, which was characterized as a multidrug resistant strain. Molecular analysis indicated that the studied strain presented several genes of virulence factors including toxic shock syndrome toxin-1 (*tst*), staphylococcal enterotoxin type A (*sea*), Pantón–Valentine leukocidin (*pvl*), alpha-hemolysin (*hla*), and delta-hemolysin (*hld*). The present report documents an infrequent case of fetal loss in cattle due to infection with a highly virulent *S. aureus* strain.

Keywords: fetal loss; reproduction; cattle; bacteria, virulence genes.

Resumo

Staphylococcus aureus é uma bactéria gram-positiva, comumente encontrada colonizando a pele e as membranas mucosas de humanos e animais. O presente relato descreve um caso de aborto bovino associado à infecção por *S. aureus*. Um feto bovino, macho, cruzado, com seis meses de idade gestacional proveniente de uma fazenda de gado de corte foi submetido para a necropsia. Pleuropneumonia fibrinosa foi observada na avaliação macroscópica. Histologicamente as lesões encontravam-se restritas aos pulmões e eram representadas por infiltrado inflamatório acentuado, multifocal a coalescente de neutrófilos, acentuada exsudação de fibrina, necrose do epitélio bronquiolar e numerosos agregados bacterianos cocoides. A cultura bacteriana de fragmento de pulmão e líquido do abomaso revelou o crescimento puro de *S. aureus*, que foi caracterizado como uma cepa multirresistente a drogas. Análises moleculares indicaram que a cepa estudada apresentava vários fatores de virulência, incluindo toxina 1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1), enterotoxina estafilocócica tipo A (*sea*), leucocidina Pantón-Valentine (*pvl*), hemolisina alfa (*hla*) e hemolisina delta (*hld*). O presente relato documenta um caso infrequente de aborto bovino devido à infecção por uma cepa altamente virulenta de *S. aureus*.

Palavras-chave: perda fetal, reprodução, bovinos, bactérias, genes de virulência.

Staphylococcus aureus is a gram-positive, catalase-positive bacterium which is commonly found colonizing the skin, mucous membranes and other sites of healthy carriers, and may be associated with a wide range of clinical conditions in animals and humans (WERTHEIM et al., 2005; PETON & LOIR, 2013). *S. aureus* may carry numerous genes encoding virulence factors, which have been associated to its capacity to evade host immune response and ultimately cause disease (FOSTER, 2005). In cattle, such bacterium is commonly associated with cases of chronic mastitis, leading to significant economic losses in the dairy industry (RAINARD et al., 2017).

Abortion in cattle due to *S. aureus* has been infrequently described, and such event is classified as a sporadic cause of fetal loss in the bovine species (CORBELLINI et al., 2006). Thorough pathological descriptions of *S. aureus*-induced abortions are scarce in the bovine species. Additionally, data characterizing the virulence factors of *S. aureus* involved in these cases are exceedingly limited. Therefore, the objective of the present work is to describe the

gross, histopathological, microbiological and molecular findings of a case of bovine abortion associated with a highly virulent *S. aureus* strain.

In August 2018, a crossbred male bovine fetus was referred for postmortem examination at the Department of Veterinary Pathology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). The fetus was referred from a cow-calf operation beef farm, in the state of Paraná, Southern Brazil. Herd was composed of 2,500 cows raised in grassland, and only sporadic abortions had been previously documented. The aborting animal was a 6-year-old, multiparous Zebu cow (forth calving), with no history of health problems or treatments, which did not show any clinical signs before and after abortion. In the referred farm, vaccination against the main reproductive pathogens used to be routinely conducted, including Bovine herpesvirus I, bovine viral diarrhea and *Leptospira* spp., and the herd overall health status was good. Reproductive management used to be performed with artificial insemination, and natural service was only used in empty cows.

Fetus crown-rump length measured 57cm, compatible with six months of gestation. External examination revealed no abnormalities. Fetal membranes were not available for evaluation. At the necropsy, gross lesions were restricted to the lungs and were characterized by moderate fibrin deposition covering the visceral pleura surface in the pulmonary cranioventral area (Figure 1A). Samples of various organs were collected and fixed in 10% formalin. Fixed tissues were routinely processed, embedded in paraffin wax, and sections (3 - 4 μm) were stained by hematoxylin and eosin. In addition, lung sections were stained with modified Brown-Hopps method.

Histologically, marked multifocal to coalescing areas characterized by inflammatory infiltrate of neutrophils, fewer lymphocytes and macrophages, as well as abundant fibrin exudation, necrosis, accumulation of cell debris and numerous aggregates of 0.5 - 1 μm coccoid bacteria were observed affecting alveolar spaces, bronchioles and bronchi (Figure 1B-C). Also, interlobular septa were markedly expanded by fibrin exudation and edema, and abundant fibrin deposition associated with inflammatory infiltrate of neutrophils was seen covering the visceral pleura. No microscopic lesions were detected in other organs. Brown-Hopps staining showed that bacterial aggregates observed in the lungs were gram-positive cocci (Figure D).

Fresh samples were collected aiming to perform microbiological diagnostic. Lung fragments and abomasal fluid were inoculated on 5% sheep blood agar and MacConkey agar

and incubated at 37 °C for 72 h in aerobic and microaerophilic atmosphere. The isolated bacterium was identified by MALDI-TOF mass spectrometry (MS), using Microflex LT instrument and MALDI Biotyper 3.1 software (Bruker Daltonik, Bremen, Germany), and antimicrobial susceptibility test was performed using Kirby-Bauer method accordingly to the Clinical and Laboratory Standard Institute guidelines (CLSI, 2018). Methicillin resistance was verified by conventional PCR for *mecA* gene and by the Kirby-Bauer method using cefoxitin and oxacilin.

Pure white, bright, hemolytic, medium size colonies grew in the blood agar in aerobic and microaerophilic conditions, in both inoculated samples, while no growth was observed from MacConkey agar. The isolated bacterium was classified as a catalase and coagulase positive gram-positive coccus, which was identified by MALDI-TOF as *S. aureus*. This bacterium showed resistant phenotype to tetracycline, gentamicin, ceftazidime, ciprofloxacin, erythromycin, and chloramphenicol, characterizing the isolate as a multidrug resistant (MDR) bacteria. Otherwise, the strain was susceptible to sulfamethoxazole+trimethoprim, penicillin, imipenem and amoxicillin. Besides that, the *S. aureus* showed intermediary susceptibility to oxacillin and cefoxitin. However, the strain was negative to *mecA* gene.

Genomic DNA from the isolated bacterium was extracted and a molecular characterization was conducted by PCR assays to search the following virulence marker genes: toxic shock syndrome toxin-1 (*tst*), staphylococcal enterotoxin type A (*sea*), Pantón–Valentine leukocidin (*pvl*), alpha-hemolysin (*hla*) and delta-hemolysin (*hld*), as previously described (Rossato et al., 2018). All the referred virulence marker PCR assays yielded positive results, providing information to assume the highly virulent character of the *S. aureus* studied. In addition, fresh kidney and liver samples were tested for *Leptospira* spp. through PCR as previously described (Ahmed et al., 2012), and thymus and spleen samples were tested for pestivirus (BVDV) (Vilcek et al., 1994), both of which yielded negative results.

Abortion is considered a significant cause of economic losses in livestock systems worldwide and frequently represents a diagnostic challenge (CABELL, 2007). The main differential diagnosis in the present case should include other causes of pleuropneumonia and bronchopneumonia in bovine aborted fetuses, mainly *B. abortus* infection (POESTER et al., 2013), as well as sporadic bacterial agents (ANDERSON et al., 1990). However, based on histological and microbiological examinations, the abovementioned agents may be easily differentiated. Species in the genus *Staphylococcus* that have been implicated with abortion in

cattle include *Staphylococcus lugdunensis* (ARDIGÒ et al., 2014) and *S. aureus* (CLOTHIER & ANDERSON, 2016). *S. aureus* infection has been associated mainly with bronchopneumonia, and rarely with skin lesions in bovine fetuses (CORBELLINI et al., 2006).

In the present case, the lungs were the only affected organs, and large numbers of coccoid aggregates were seen inside bronchioles and bronchi, which may be associated with inhalation of bacteria present in the amniotic fluid (MILLER, 1977). Bacterial infections leading to abortion may be a result of systemic bacterial spread, as well as reproductive tract ascending infections (PARTHIBAN et al., 2015). In the present case, however, it was not possible to infer the route of fetal infection, since no previous disease that could justify fetal spread was detected in the aborting dam.

S. aureus isolated was a methicillin sensitive strain (MSSA), but resistant to several antibiotics. *S. aureus* may express several virulence factors which have been associated with adhesion to host cells, tissue invasion and damage, host immune system escape, disease promotion, cytokine production, and systemic inflammation (FOSTER, 2005). Although well characterized and described in human isolates, to the best of our knowledge, no information regarding virulence factors present in animal abortion associated-*S. aureus* strains is currently available. The identified genes from the *S. aureus* here described encoding toxins, *tst*, *sea*, *pvl*, *hla* and *hld*, have been described as some of the most frequent virulence genes of *S. aureus* (ROSSATO et al., 2018). The expression of these virulence factors is coordinated by cell-communication system (quorum-sensing) in response to population density (KONG et al., 2016).

In conclusion, *S. aureus* should be considered as a sporadic cause of bacterial abortion in cattle, mainly in fetuses presenting fibrinosuppurative pleuropneumonia and bronchopneumonia. In the present case, the isolate was a multidrug resistant strain which presented several genes of virulence factors, indicating that these may play a role in *S. aureus*-induced abortion in cattle.

Acknowledgments

We would like to thank Laboratório de Cocos Gram-positivos from Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre for providing the primers and positive control samples used in the present study. This work was supported by the Conselho Nacional de

Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Declaration of conflict of interest:

The authors declare that they have no conflict of interest. The founding sponsors had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, and in the decision to publish the results.

Authors' contributions

The authors contributed equally to the manuscript.

References

AHMED, S.A. et al. Rapid diagnosis of Leptospirosis by Multiplex PCR. **Malaysian Journal of Medical Sciences**, v.19, n.3, p.9-16, 2012. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23610544>>. Accessed: Mar. 20, 2019.

ANDERSON, M.L. et al. A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.2, n.4., p.283-287, 1990. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2095280>>. Accessed: Mar. 17, 2019. doi: 10.1177/104063879000200405.

ARDIGÒ, P. et al. Abortion in cattle due to infection with *Staphylococcus lugdunensis*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.26, n.6, p.818-820, 2014. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25292193>>. Accessed: Mar. 17, 2019. doi: 10.1177/1040638714550182.

CABELL, E. Bovine abortion: aetiology and investigations. **In Practice**, v.29, p.455-463, 2007. Available from: <<https://inpractice.bmj.com/content/29/8/455>>. Accessed: Mar. 15, 2019.

CLSI. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 4th ed. CLSI supplement VET08. Wayne, PA. Available from: <<https://clsi.org/standards/products/veterinary-medicine/documents/vet01/>>. Accessed: Mar. 20, 2019.

CLOTHIER, K.; ANDERSON, M. Evaluation of bovine abortion cases and tissue suitability for identification of infectious agents in California diagnostic laboratory cases from 2007 to 2012. **Theriogenology**, v.85, n.5, p.933-938, 2016. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26679514>>. Accessed: Mar. 15, 2019. doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.11.001.

CORBELLINI, L.G. et al. *Staphylococcus spp.* abortion: skin lesions caused by *Staphylococcus aureus* infection in an aborted bovine-fetus. **Veterinary Research**

Communications, v.30, n.7, p.717-721, 2006. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17004036>>. Accessed: Mar. 19, 2019. doi: 10.1007/s11259-006-3353-x.

KONG, C. et al. Targeting *Staphylococcus aureus* toxins: a potential form of anti-virulence therapy. **Toxins**, v.8, n.3, p.1-21, 2016. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26999200>>. Accessed: Mar. 18, 2019. doi: 10.3390/toxins8030072.

MILLER, R.B. A summary of some of the pathogenetic mechanisms involved in bovine abortion. **The Canadian Veterinary Journal**, v.18, n.4, p.87-95, 1977. Available from: ><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1697519/>>. Accessed: Mar. 16, 2019.

PARTHIBAN, S. et al. Review on Emerging and Reemerging Microbial Causes in Bovine Abortion. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**, v.4, n.4-1, p.1-6, 2015. Available from: ><https://pdfs.semanticscholar.org/0fd5/12367346ae9631025ca7524e55eaf4798cdd.pdf>>. Accessed: Mar. 18, 2019. doi: 10.11648/j.ijnfs.s.2015040401.11.

PETON, V.; LOIR, Y.L. *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. **Infection, Genetics and Evolution**, v.21, p.602-615, 2014. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23974078>>. Accessed: Mar. 16, 2019. doi: 10.1016/j.meegid.2013.08.011.

POESTER, F.P. et al. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v.32, n.1, p.105-115, 2013. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23837369>>. Accessed: Mar. 18, 2019. doi: 10.20506/rst.32.1.2193.

RAINARD, P. et al. Knowledge gaps and research priorities in *Staphylococcus aureus* mastitis control. **Transboundary Emerging Diseases**, v.65, p.149-165, 2018. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28984427>>. Accessed: Mar. 20, 2019. doi: 10.1111/tbed.12698.

ROSSATO, A.M. et al. Coexistence of virulence genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.51, n.3, p.361-363, 2018. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S003786822018000300361&lng=pt&nrm=iso&tlng=en>. Accessed: Mar. 16, 2019. doi: 10.1590/0037-8682-0339-2017.

VILCEK, S. et al. Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. **Archives of Virology**, v.136, n.3-4, p.309-323, 1994. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8031236>>. Accessed: Mar. 21, 2019. doi: 10.1007/bf01321060.

WERTHEIM, H.F.L. et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v.5, n.12, p.751-762, 2005. Available from:<

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16310147>>. Accessed: Mar. 17, 2019. doi: 10.1016/S1473-3099(05)70295-4.

Figure 1 – Bovine abortion associated with *Staphylococcus aureus* infection. Gross appearance. (A) The lungs present moderate fibrin deposition covering the visceral pleura surface in the pulmonary cranioventral area. Bar: 4cm. *S. aureus*-induced bovine abortion histopathological evaluation (B) In the lungs, the alveolar spaces show marked inflammatory infiltrate of neutrophils, as well as abundant fibrin exudation, necrotic debris accumulation and numerous aggregates of coccoid bacteria. HE. Bar, 120µm. (C) Large numbers of coccoid bacteria are noted inside a bronchiole intermixed with fibrin exudation. HE. Bar, 350 µm. (D) Numerous gram-positive coccoid bacterial aggregates are seen in the pulmonary parenchyma. Brown-Hopps staining. Bar, 120µm.

5 ARTIGO 4

Neste item é apresentado o artigo intitulado: “**Abortion outbreak in a sheep flock caused by *Toxoplasma gondii* clonal Type III**”. Este artigo foi submetido para publicação no periódico “*Parasitology Research*”.

Abortion outbreak in a sheep flock caused by *Toxoplasma gondii* clonal Type III

Luan Cleber Henker¹, Fernanda Silveira Flores Vogel², Bianca Santana de Cecco¹, Igor Ribeiro dos Santos¹, Isac Junior Roman², Fagner D'ambroso Fernandes², Fernanda Genro Cony¹, Saulo Petinatti Pavarini¹, David Driemeier¹

¹ Setor de Patologia Veterinária (SPV), Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9090, Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS, 91540-000, Brazil.

²Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building 63C, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, 97105-900, Brazil.

Corresponding author: Luan Cleber Henker; e-mail: luanchenker@gmail.com

Abstract

Toxoplasma gondii is a major cause of reproductive losses in small ruminants in several countries. We describe here an outbreak of *T. gondii*-associated abortion in sheep in Southern Brazil. The flock was comprised of 55 adult sheep, and late-term abortions and stillbirths were detected in 15/36 (41.66%) gestating ewes. Serum samples collected from 45 sheep were tested for *T. gondii* through indirect immunofluorescence assay; IgM and IgG positive results were detected in 44.44% (20/45) and 86.67% (39/45) of the cases, respectively. Four fetuses and two placentas were pathologically evaluated. Gross changes were restricted to fetal membranes and were characterized by multifocal white areas in the cotyledons. Microscopically, these areas corresponded to necrotic foci affecting the chorionic epithelium accompanied by rare cysts of *T. gondii*. The main histological change in fetal tissues consisted of well-demarcated and sparsely distributed necrotic foci in the central nervous system. Tissue samples from all four fetuses and one placenta had positive PCR results for *T. gondii*. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) genotyping using ten markers (SAG1, 5'-3'SAG2, alt.SAG2, SGA3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358 and PK1) was carried out on one sample, and results were consistent with *T. gondii* clonal Type III (ToxoDB-PCR-RFLP genotype #2, TgCpBr4).

Keywords: abortion storm; ovine; protozoan; toxoplasmosis; Brazil.

6 MATERIAL TÉCNICO

Neste item é apresentado o material didático intitulado: “**Abortamentos e mortalidade perinatal em ruminantes e equinos: o exame de necropsia como ferramenta diagnóstica**”. Este conteúdo será distribuído primariamente na forma de livro eletrônico (*E-book*). Para facilitar a visualização do material, o conteúdo foi disponibilizado como um arquivo adicional.

7 PRODUÇÕES ADICIONAIS

Neste item são listados os demais trabalhos produzidos e publicados (autoria e coautoria) durante o período de desenvolvimento do doutorado (março de 2019 – junho de 2022), na área de diagnóstico em casos de abortamento.

HENKER, L.C.; LORENZETT, M.P.; KELLER, A.; SIQUEIRA, F.M.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S.P. Fibrinonecrotic placentitis and abortion associated with *Pantoea agglomerans* infection in a mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 92, p. 103156-3, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103156>

HENKER, L.C.; LORENZETT, M.P.; PIVA, M.M.; WRONSKI, J.G.; DE ANDRADE, D.G.A.; BORGES, A.S.; DRIEMEIER, D.; OLIVEIRA-FILHO, J.P.; PAVARINI, S.P. Alobar Holoprosencephaly in an Aborted American Quarter Horse Fetus. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 112, p. 103898, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.103898>

HENKER, L.C.; LORENZETT, M.P.; PAVARINI, S.P. Bovine congenital babesiosis. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 14, p. 70-74, 2021. Doi: <https://doi.org/10.24070/bjvp.1983-0246.v14i1p70-74>

MIONI, M.S.R.; HENKER, L.C.; TEIXEIRA, W.S.R.; LORENZETT, M.P.; LABRUNA, M.B.; PAVARINI, S.P.; DRIEMEIER, D.; ROUSSET, É.; SIDI-BOUMEDINE, K.; THIÉRY, R.; MEGID, J. Molecular detection of *Coxiella burnetii* in aborted bovine fetuses in Brazil. **Acta Tropica**, v. 227, p. 106258, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106258>

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Anaplasmoses e babesioses devem ser consideradas diagnósticos diferenciais de abortamentos e mortes perinatais em bovinos, principalmente em regiões geográficas de ocorrência dessas doenças;
- Bezerros afetados (fetos e neonatos) apresentam alterações macroscópicas e microscópicas idênticas às alterações observadas em animais com anaplasmoses e babesioses de diferentes faixas etárias;
- Testes moleculares realizados em animais afetados detectaram infecções transplacentárias causadas exclusivamente por um único agente, *Anaplasma* sp. ou *Babesia* sp., e infecções mistas causadas por ambos os hemoparasitas;
- Alterações macroscópicas foram incomuns em casos de abortamentos esporádicos de origem bacteriana e dois padrões microscópicos foram observados: 1) broncopneumonia primária com ocasional disseminação em casos de infecção por *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. e *Mannheimia haemolytica*; 2) doença sistêmica com septicemia em casos de infecções por *Escherichia coli* e *Listeria* sp.
- *Aspergillus* sp. foi o principal agente fúngico identificado, e casos de aborto micótico apresentaram placentite, dermatite e pneumonia.
- A placentite foi um achado constante em todos os casos de aborto fúngico/bacteriano em que as membranas fetais se encontravam disponíveis para avaliação;
- No caso de abortamento bovino por *Staphylococcus aureus*, inúmeros marcadores de genes de virulência foram detectados;
- *Toxoplasma gondii* pode estar associado a surtos significativos de abortamento em ovinos. A utilização de uma abordagem diagnóstica ampla envolvendo investigações epidemiológicas, sorológicas, patológicas e moleculares foi essencial para a melhor compreensão do surto de abortamento ovino acompanhado;
- A utilização da técnica de RFLP (Restriction fragment length polymorphism) com pesquisa de 10 marcadores possibilitou a identificação do genótipo de *T. gondii* detectado no surto de abortamento ovino;
- O material técnico ilustrado sobre diagnóstico anatomopatológico em casos de abortamentos em ruminantes e equinos foi elaborado com o propósito de servir como uma ferramenta adicional de consulta para estudantes de graduação, médicos

veterinários, estudantes de pós-graduação e patologistas veterinários. A literatura sobre diagnóstico anatomopatológico em casos de abortamentos é esparsa em língua portuguesa, assim, este material representa um compilado de informações básicas e de fácil acesso a respeito do tema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.B. et al. Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-2005. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, p. 237-242, 2006.

ANTONIASSI, N.A.B. **Causas de aborto em bovinos diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011**. 2012. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

ANTONIASSI, N.A.B. et al. Occurrence and characterization of bovine abortion caused by *Brucella abortus* infection in southern Brazil. **Archivos de Medicina Veterinária**, v.48, p.43-49, 2016.

CABELL, E. Bovine abortion: aetiology and investigations. **In Practice**, v.29, p.455-463, 2007.

CLOTHIER, K.; ANDERSON, M. Evaluation of bovine abortion cases and tissue suitability for identification of infectious agents in California diagnostic laboratory cases from 2007 to 2012. **Theriogenology**, v.85, p.933-938, 2016.

CORBELLINI, L.G. et al. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.103, n.3, p.195-202, 2002.

CORBELLINI, L.G. et al. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.74, n.2-3, p.130-141, 2006.

CORREA, W.M. Bovine Abortion Associated with *Anaplasma marginale*. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 42, p. 227-228, 1978.

COSTA, S.C.L. et al. Transplacental transmission of bovine tick-borne pathogens: Frequency, co-infections and fatal neonatal anaplasmosis in a region of enzootic stability in the northeast of Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.7, p.270-275, 2016.

DA COSTA L.S. **Neosporose como causa de abortamento em bovinos do estado de Santa Catarina: caracterização anatomopatológica, molecular e sorológica**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

DARDÉ, M.L.; AJZENBERG, D.; SU, C. Molecular Epidemiology and Population Structure of *Toxoplasma gondii*. In: WEISS, M.L., KIM, K. (eds) ***Toxoplasma Gondii - The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods***, Academic Press, 2014, p.61-97.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in sheep - The last 20 years. **Veterinary Parasitology** v. 163, p. 1-14, 2009.

DUBEY, J.P. et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology** v.139, p.1375-1424, 2012.

DE VRIES, A. Economic Value of Pregnancy in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3876-3885, 2006.

JONKER, F.H. Fetal death: comparative aspects in large domestic animals. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.415-430, 2004.

JUFFO, G. D. **Causas de aborto, natimortalidade e morte perinatal em equinos diagnosticadas no setor de patologia veterinária da UFRGS de 2000 a 2015**. 2016. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

KIRKBRIDE, C.A. Bacterial agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.5, p.64-68, 1993.

LUCENA, R.B. et al. Doenças de bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.30, p.428-434, 2010.

MACÍAS-RIOSECO, M. et al. Causes of abortion in dairy cows in Uruguay. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.40, p.325-332, 2020.

MARCOLONGO-PEREIRA, C. et al. Abortos em equinos na região Sul do Rio Grande do Sul: estudo de 72 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.1, p.22-26, 2012.

MELLO, L.S. et al. Causas de morte em vacas leiteiras no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v.37, n.9, p.916-920, 2017.

NJAA, B.L. **Kirkbride's – Diagnosis of abortion and neonatal loss in animals**. 4. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2012.

PESCADOR, C. A. **Aborto bovino por *Neospora caninum*: fatores associados ao resultado positivo da imuno-histoquímica**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PESCADOR, C.A. et al. Histopathological and immunohistochemical aspects of *Neospora caninum* diagnosis in bovine aborted fetuses. **Veterinary Parasitology**, v.150, p.159-163, 2007a.

PESCADOR, C.A. et al. Perdas reprodutivas associadas com infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos no sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, p.167-171, 2007b.

PESCADOR, C.A. **Causas infecciosas de aborto e natimortalidade em suínos no sul do Brasil**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PESCADOR, C.A. et al. Metodologia aplicada na avaliação de fetos suínos abortados e natimortos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, 1058-1063, 2010.

REESE, S.T. et al. Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis - Review. **Animal Reproduction Science**, v.212, p.106251, 2020.

SCHLAFER, D.H.; FOSTER, R.A. Female genital tract. *In*: Maxie, M. G. (Ed). **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 6. ed. Amsterdam: Elsevier, 2016, v.3, p.358-464.

TRUEMAN, K.F.; MCLENNAN, M.W. Bovine abortion due to prenatal *Babesia bovis* infection. **Australian Veterinary Journal**, v.64, p.63, 1987.

WITHOEFT, J.A. **Ocorrência de abortamentos ovinos por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* no estado de Santa Catarina: caracterização anatomopatológica, molecular e epidemiológica**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina.

WOLF-JÄCKEL, G.A. et al. Diagnostic studies of abortion in Danish cattle 2015–2017. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.62, p.1-12, 2020.