

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**DOENÇAS INFECCIOSAS QUE CAUSAM ABORTO EM BOVINOS E SEUS  
DESAFIOS DIAGNÓSTICOS**

**Autora: Carolina Rodrigues Lautert**

**Porto Alegre**

**2020/1**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**DOENÇAS INFECCIOSAS QUE CAUSAM ABORTO EM BOVINOS E SEUS  
DESAFIOS DIAGNÓSTICOS**

**Autora: Carolina Rodrigues Lautert**

**Trabalho apresentado à Faculdade de  
Veterinária como requisito parcial para  
a obtenção da graduação em Medicina  
Veterinária**

**Orientador: Prof. Dr. Marcelo Bertolini**

**Co-orientador: Prof. Dr. André Gustavo  
Cabrera Dalto**

**Porto Alegre**

**2020/1**

Carolina Rodrigues Lautert

DOENÇAS INFECCIOSAS QUE CAUSAM ABORTO EM BOVINOS E SEUS DESAFIOS  
DIAGNÓSTICOS

Aprovada em 26 NOV 2020

APROVADA POR:

---

Prof. Dr. Marcelo Bertolini

FAVET/UFRGS - Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. André Gustavo Cabrera Dalto

FAVET/UFRGS - Co-orientador

---

Profa. Dra. Monique Tomazele Rovani

FAVET/UFRGS - Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Welden Panziera

FAVET/UFRGS - Membro da Comissão

## RESUMO

As alterações reprodutivas em bovinos possuem diversos fatores e etiologias, com as fontes infecciosas atuando em associação ou não, sendo responsáveis por cerca de 70% das mortes embrionárias e fetais. Portanto, é provável que nenhum fator responsável por perdas econômicas (como estresse térmico ou nutrição) tenha tanto impacto negativo na reprodução em bovinos quanto as doenças infecciosas. As infecções podem ser causadas por bactérias, vírus e parasitos e, dentro do rol de doenças conhecidas, algumas se destacam como principais causadoras de disfunções reprodutivas, e, por conseguinte, perdas econômicas, incluindo a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), a Diarreia Viral Bovina (BVD), a Brucelose, a Leptospirose, a Campilobacteriose, a Tricomonose, e a Neosporose. O diagnóstico de cada doença pode ser realizado pela identificação do agente, do antígeno específico ou de anticorpo. É recomendado o uso de testes sorológicos em associação com técnicas de identificação do agente para garantir um diagnóstico mais assertivo; amostras de placenta, fetos abortados intactos e sangue das fêmeas que sofreram aborto são as amostras ideais. Informações como taxa de aborto no rebanho, se os abortos são recorrentes em novilhas ou vacas, se há retenção de placenta e histórico e programas de vacinação, são alguns dos importantes levantamentos de dados e informações que ajudam a indicar ou excluir possíveis agentes etiológicos.

**Palavras-chave:** Aborto. Bovinos. Diagnóstico. Doenças infecciosas. Reprodução.

## **ABSTRACT**

Reproductive failures in cattle have several factors and etiologies, with infectious diseases acting in association or not, being responsible for about 70% of embryonic and fetal losses. Therefore, it is likely that no other factor responsible for economic losses has as much negative impact on reproduction in cattle as infectious diseases. Reproductive failures due to infection can be caused by bacteria, viruses and parasites. Among the possible related diseases, some stand out as the main causes of reproductive failures and economic losses in cattle, including: bovine viral diarrhea (BVD), infectious bovine rhinotracheitis (IBR), brucellosis, leptospirosis, campylobacteriosis, trichomonosis, and neosporosis. The diagnosis of each disease is carried out either by the identification of the agent, the specific antigen or by the presence of antibodies. The use serological tests in association with the identification of the pathogen are procedures usually recommended to ensure a more assertive diagnosis, based on samples ideally collected from placenta or fetal membranes, intact aborted fetuses and blood from the aborted female. Additional pieces of information in the herd regarding abortion rate, retained fetal membranes, and whether abortions are recurrent in heifers or cows, in addition to immunization records and programs, are some of the significant and helpful data to support or exclude the identification of possible etiological infectious agents.

**Keywords:** Abortion. Cattle. Diagnosis. Infectious diseases. Reproduction.

## LISTA DE TABELAS

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> | Material biológico de abortamento bovino e recomendações de amostragem e preservação do material.....   | 35 |
| <b>Tabela 2.</b> | Amostras biológicas preferenciais e diferenciais, testes diagnósticos em relação a doenças infecciosas causadoras de abortos em distintas fases da gestação de bovinos..... | 36 |

## SUMÁRIO

|            |   |    |
|------------|---|----|
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO</b> .....                                 | 8  |
| <b>2</b>   | <b>PERDAS ECONÔMICAS</b> .....                          | 10 |
| <b>3</b>   | <b>PRINCIPAIS DOENÇAS REPRODUTIVAS DE BOVINOS</b> ..... | 11 |
| <b>3.1</b> | <b>Diarreia Viral Bovina</b> .....                      | 11 |
| 3.1.1      | Etiopatogenia.....                                      | 11 |
| 3.1.2      | Transmissão.....  | 13 |
| 3.1.3      | Diagnóstico.....  | 13 |
| <b>3.2</b> | <b>Rinotraqueíte Infecciosa dos Bovinos</b> .....       | 14 |
| 3.2.1      | Etiopatogenia.....                                      | 15 |
| 3.2.2      | Transmissão.....  | 16 |
| 3.2.3      | Diagnóstico.....  | 16 |
| <b>3.3</b> | <b>Leptospirose</b> .....                               | 17 |
| 3.3.1      | Etiopatogenia.....                                      | 18 |
| 3.3.2      | Transmissão.....  | 19 |
| 3.3.3      | Diagnóstico.....  | 19 |
| <b>3.4</b> | <b>Brucelose</b> .....                                  | 20 |
| 3.4.1      | Etiopatogenia.....                                      | 21 |
| 3.4.2      | Transmissão.....  | 22 |
| 3.4.3      | Diagnóstico.....  | 22 |
| <b>3.5</b> | <b>Campilobacteriose</b> .....                          | 24 |
| 3.5.1      | Etiopatogenia.....                                      | 24 |
| 3.5.2      | Transmissão.....  | 25 |
| 3.5.3      | Diagnóstico.....  | 26 |
| <b>3.6</b> | <b>Tricomonose</b> .....                                | 27 |
| 3.6.1      | Etiopatogenia.....                                      | 27 |
| 3.6.2      | Transmissão.....  | 29 |
| 3.6.3      | Diagnóstico.....  | 29 |
| <b>3.7</b> | <b>Neosporose</b> .....                                 | 30 |
| 3.7.1      | Etiopatogenia.....                                      | 31 |
| 3.7.2      | Transmissão.....  | 31 |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 3.7.3    | Diagnóstico.....   | 33        |
| <b>4</b> | <b>COLETA E ENVIO DE AMOSTRAS DE MATERIAIS BIOLÓGICOS...</b> | <b>35</b> |
| <b>5</b> | <b>CONCLUSÃO.....</b>  | <b>37</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                      | <b>38</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Devido à produção de alimentos abundante e à criação basicamente em sistema extensivo, a produção bovina possui uma das melhores relações custo-benefício do mundo. Com a criação animal predominantemente a pasto, economiza-se mão de obra e há necessidade de menor tecnificação para realizar a oferta de alimento quando comparada com sistemas confinados (DIAS FILHO, 2010). Não obstante, são inúmeros os desafios reprodutivos enfrentados pelos rebanhos bovinos, como doenças infecciosas (causando anestro, infertilidade, mortalidade embrionária e fetal) e distocias, ou seja, distúrbios que afetam de forma negativa várias funções fisiológicas importantes para o incremento produtivo (TEIXEIRA NETO; COSTA; LOURENÇO JUNIOR, 2006; GUAGNINI, 2017).

As alterações reprodutivas em bovinos possuem diversos fatores e etiologias, com as fontes infecciosas atuando em associação ou não, podendo influenciar de forma direta ou indireta os parâmetros de eficiência reprodutiva. Falhas de origem não infecciosas normalmente estão associadas a problemas de manejo reprodutivo ou nutricional (JUNQUEIRA; ALFIERI, 2006) e são responsáveis por cerca de 70% das mortes embrionárias. Já as infecções reprodutivas podem ser causadas por bactérias, vírus e parasitos (VANROOSE; KRUIF; VAN SOOM, 2000). Dentro do rol de doenças conhecidas, algumas se destacam como principais causadoras de disfunções reprodutivas, e, por conseguinte, perdas econômicas, incluindo as causadas por vírus, como a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e a Diarreia Viral Bovina (BVD); por bactérias, como a Brucelose, Leptospirose e Campilobacteriose; e parasitárias, como a Neosporose e Tricomonose (JUNQUEIRA; ALFIERI, 2006).

O diagnóstico do agente etiológico responsável por perdas reprodutivas em um rebanho é desafiador, sendo ele identificado em menos da metade das amostras enviadas ao laboratório (ANDERSON, 2007; ANTONIASSI *et al.*, 2007; NEWCOMER; GIVENS, 2016). Em outras palavras, o diagnóstico etiológico não ocorre na maioria dos casos, resultando em medidas de controle, como a vacinação, sem a base de um diagnóstico laboratorial (GIVENS, 2006). Portanto, além de proporcionar uma falsa sensação de segurança ao rebanho, as falhas de diagnóstico podem vir a causar desperdícios de recursos (GIVENS, 2006; HOLLER, 2012). Existe também uma grande dependência da disponibilidade de dados e registros, além de fatores como o sistema de criação, por exemplo, que pode tanto mascarar o surgimento de enfermidades no rebanho, como limitar a coleta de amostra laboratorial.

Este trabalho visa esclarecer algumas dúvidas profissionais sobre a apresentação de determinadas doenças reprodutivas infecciosas, assim como fornecer informações sobre formas

adequadas de coleta e envio de material a laboratórios de diagnóstico, e de salientar como esta prática de requisição de testes laboratoriais é importante. O diagnóstico correto de uma doença gera um tratamento e profilaxia eficientes e, conseqüentemente, uma solução dentro dos parâmetros possíveis (HOLLER, 2012), possibilitando o incremento de programas de biossegurança voltados às necessidades da propriedade, em vista da dificuldade de um programa que abranja todas as doenças (DALY, 2007).

## 2 PERDAS ECONÔMICAS

Não é possível discutir sobre a lucratividade de produção pecuária sem abordar os índices zootécnicos de uma propriedade. A identificação e solução de índices negativos ou abaixo do esperado deve ser a prioridade tanto do produtor, quanto do responsável técnico (LOPES; CARDOSO; DEMEU, 2009). Uma forma de melhorar a produtividade animal é intensificar a produção de bezerros, onde cada vaca produza, em média, um bezerro por ano (TEIXEIRA NETO; COSTA; LOURENÇO JUNIOR, 2006). Em propriedades leiteiras, por exemplo, a taxa de natalidade é um dos índices zootécnicos mais relevantes, tanto para a reposição do rebanho, quanto para a estabilidade das categorias animais, servindo como indicativo de produção (LOPES; CARDOSO; DEMEU, 2009; GUAGNINI, 2017).

Dentre as diversas causas de perdas reprodutivas, destacam-se doenças como a Brucelose, Leptospirose, BVD, Rinotraqueite, Neosporose, Campilobacteriose e Tricomose (RIVERA, 2001). Tais perdas podem ser evidenciadas pela análise realizada com os dados de 15 países para identificar as consequências financeiras das perdas diretas causadas pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), por exemplo, em que Richter *et al.* (2017) afirmam haver uma variação de US\$ 0,50 a 687,80 de perda por animal. Também pode-se ter uma visão panorâmica com a Brucelose, que é relatada por Santos *et al.* (2013) como responsável por uma perda de até R\$ 420,12/fêmea em gado leiteiro no Brasil.

Um estudo realizado por De Vries (2006) nos Estados Unidos da América estipulou o valor de uma prenhez em gado leiteiro de US\$ 278, com o custo médio de um aborto sendo de US\$ 555, ou seja, uma perda gestacional traz grandes prejuízos ao produtor. É provável que nenhum fator responsável por perdas econômicas (como estresse térmico ou nutrição) tenha tanto potencial negativo quanto as doenças infecciosas em bovinos (DALY, 2007). O não reconhecimento de algumas destas doenças como realmente prejudiciais ao rebanho faz com que não haja um sistema de prevenção, controle e vacinação efetivos em países subdesenvolvidos, mesmo que estudos comprovem que ações de controle e erradicação seriam economicamente viáveis e eficientes contra doenças como a BVD, por exemplo (PENA BELLO, 2019).

### 3 PRINCIPAIS DOENÇAS REPRODUTIVAS DE BOVINOS: REVISÃO DE LITERATURA

A seguir serão descritas algumas doenças responsáveis por abortos em bovinos, com recomendações de métodos diagnósticos.

#### 3.1 Diarreia Viral Bovina

O BVDV é um agente infeccioso disseminado por todo o mundo e que afeta os animais de forma reprodutiva e produtiva (RICHTER *et al.*, 2017). Acredita-se que o BVDV seja um dos principais patógenos na bovinocultura que provoca significativas perdas econômicas (FLORES, 2005). A doença foi inicialmente descrita em 1946 associada a quadros de diarreia e lesões ulcerativas no trato digestivo de bovinos. Posteriormente, descobriu-se que é causada por um vírus pertencente ao gênero *Pestivirus*, da família *Flaviviridae* (BAKER, 1995; WITTMANN; LIEBERMANN, 1999), com tal vírus, mais tarde, tendo sido associado à doença das mucosas (DM; BAKER, 1995).

A doença acomete não somente bovinos, mas também suínos, ovinos, caprinos e animais silvestres (RIDPATH, 2010). Estudos realizados por Passler *et al.* (2007) com cervos de cauda branca (*Odocoileus virginianus*), ruminantes selvagens que existem em abundância na América do Norte, relataram que o vírus tem a capacidade de infectar espécies silvestres, como a descrita, e se manter na população, visto ter sido relatado o nascimento de um animal persistentemente infectado (PI), enfatizando ainda mais a importância da transmissão entre animais silvestres e domésticos.

##### 3.1.1 Etiopatogenia

Inicialmente, foram descobertos dois genótipos do vírus responsáveis pela doença, o BVDV1 e o BVDV2. Posteriormente, foi isolado na América do Sul e no Sudeste Asiático um vírus que apresentava similaridade filogenética e equivalentes sinais clínicos ao BVDV, levando pesquisadores a se referir ao novo vírus como BVDV3, ou *Hobi-like* vírus (RIDPATH, 2010). Porém, houve recentemente uma atualização de nomenclatura proposta por Smith *et al.* (2017), em que o BVDV1, BVDV2 e BVDV3 passam a se designar de *Pestivirus* BVDV-A, BVDV-B e BVDV-H, respectivamente.

Quaisquer isolados de BVDV podem se apresentar como dois diferentes biotipos, citopáticos e não citopáticos (RIDPATH, 2010; BAKER, 1995). Os não citopáticos, ao que tudo indica, são os principais responsáveis pelas infecções agudas (LANYON *et al.*, 2014);

porém, ambos são responsáveis por morte fetal (GROOMS, 2004). Os vírus não citopáticos estão predominantes no ambiente, já os citopáticos são raros e normalmente associados à DM (RIDPATH, 2010). Para desenvolver a DM o animal precisa ser PI pelo vírus não citopático, ou seja, ter sido infectado no início da gestação e posteriormente se infectar com um BVDV citopático (BAKER, 1995). Essa nova infecção e apresentação da doença costuma correr entre 6 e 24 meses de vida do animal (RADOSTITS; LITTLEJOHNS, 1988).

Um animal PI, devido à sua debilitada imunidade, é muito suscetível a diversas contaminações secundárias, inclusive ao desenvolvimento de DM, o que torna sua capacidade de sobrevivência ainda menor (LANYON *et al.*, 2014). A permanência de animais PI cria um cenário de manutenção de partículas virais sendo disseminadas nos rebanhos.

Muitas variáveis estão relacionadas à apresentação da BVD, devendo ser levado em consideração a saúde do animal, a idade, o *status* reprodutivo, a espécie, a cepa virulenta responsável pela infecção (RIDPATH, 2010), o estado imunológico e o estresse ambiental (BAKER, 1995). A infecção aguda em bovinos soronegativos costuma se caracterizar por ser uma viremia transitória num período de 10 a 14 dias, e pode estar associada à imunossupressão, linfopenia, leucopenia, hipertermia e diarreia (LANYON *et al.*, 2014). Uma infecção experimental em bezerros evidenciou a presença do vírus nos tecidos linfóides, como placas de Peyer, baço, timo e linfonodos (LANYON *et al.*, 2014).

Os sinais reprodutivos são observados quando há a contaminação do conceito pelo vírus, e o estágio da gestação em que houve essa contaminação, a imunocompetência fetal e o biotipo infectante determinam o tipo de sinal clínico que o animal apresentará (GROOMS, 2004). Algumas deficiências de sistema nervoso central como hidrocefalia, microencefalopatia e hipoplasia cerebelar são descritas em bezerros que sofreram contaminação fetal entre os dias 79 e 150 de gestação (GROOMS, 2004). Mumificação, aborto, morte embrionária precoce, malformação e permanência como animais PI são sinais de contágio fetal entre os dias 42 a 125 de prenhez (FULTON *et al.*, 2006; DALY, 2007 FULTON *et al.*, 2009; RIDPATH, 2010). Quando a contaminação do feto ocorre após o dia 125 da prenhez, acredita-se que este já seja capaz de desenvolver uma resposta imune eficiente, sendo um bezerro normal com a presença de anticorpos pré-colostro (GROOMS, 2004). Além disto, o BVDV pode diminuir a taxa de concepção (BAKER, 1995). Entretanto, o modo como essa taxa diminui não é claro, mesmo que já tenha sido relatado que o vírus se encontra no tecido ovariano, com a exposição do oócito em maturação ao vírus, diminuindo sua taxa de sobrevivência, seja por danos celulares diretos, ou por modificações ambientais (GROOMS, 2004).

### 3.1.2 Transmissão

Os bovinos podem se infectar em dois momentos, de acordo com o *status* reprodutivo. A infecção pode ser pós-natal, quando o animal tem seu primeiro contato, o que provoca uma infecção aguda e o desenvolvimento de anticorpos contra o agente; ou pré-natal, durante a gestação, o que provoca abortos, natimortos, ou nascimento de PI que podem apresentar malformações ou baixo desempenho (HOUE, 1995). É de crucial importância a identificação e eliminação de animais PI no rebanho, visto que são um ponto chave na disseminação do vírus (HOUE, 1995; GROOMS, 2004). O vírus é secretado pelo leite, urina, fezes, lágrimas, secreção nasal e seminal de forma contínua durante toda a vida do animal (HOUE, 1995), que se torna o principal reservatório e fonte de exposição a animais suscetíveis (FULTON *et al.*, 2006; FULTON *et al.*, 2009). O período de vida do vírus no ambiente é curto, porém suficiente para ser transmitido a animais sadios de forma iatrogênica (DALY, 2007). Ainda assim, o contato direto é a principal forma de transmissão natural (GARD; GIVENS; STRINGFELLOW, 2007).

O sêmen de um touro PI apresenta-se contaminado constantemente pelo vírus, e pode apresentar motilidade, concentração e morfologia inalterados (GARD; GIVENS; STRINGFELLOW, 2007). Todavia, o sêmen de um touro que sofre de uma infecção aguda será contaminado de forma transitória, com a liberação do vírus no sêmen se prolongando além da viremia devido à replicação viral na próstata e nas vesículas seminais (BAKER, 1995). No entanto, infecções prolongadas nos testículos já foram relatadas em touros expostos a cepas não citopáticas (GARD; GIVENS; STRINGFELLOW, 2007).

### 3.1.3 Diagnóstico

O diagnóstico da doença se dá pela identificação do agente, do antígeno específico ou de anticorpos. Animais que nunca tiveram contato com o vírus normalmente testarão negativo em todos os testes, animais que sofreram uma contaminação primária aguda serão positivos para anticorpos, e animais PI testarão negativo apenas para anticorpos (LANYON *et al.*, 2014). A identificação da presença de PIs em uma propriedade pode ser feita de forma indireta, a partir da detecção de anticorpos no leite coletado de tanques de resfriamento, visto que PIs são o principal foco contaminante de um rebanho, portanto se há aumento de animais positivos é provável que exista no mínimo um PI. Porém, tal exame indicaria somente a presença de animais PI na propriedade, sem uma especificação individual (HOUE, 1995).

O isolamento viral ainda é considerado “padrão ouro” mesmo com o avanço em diferentes técnicas diagnósticas (SALIKI; DUBOVI, 2004). Entretanto, tal procedimento é

mais oneroso e demorado, sendo preferível o uso de técnicas mais rápidas e de boa especificidade e sensibilidade, como os testes baseados no teste da reação em cadeia da polimerase após a transcrição reversa, ou teste de RT-PCR (HOLLER, 2012). Amostras de sangue e órgãos linfoides são os preferíveis para o isolamento em cultivo celular (SALIKI; DUBOVI, 2004).

Testes de detecção de antígenos são recomendados como forma de triagem em infecções agudas e detecção de PI. Alguns exemplos destes testes são os ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISAs) de captura e imunohistoquímica (IHQ), não sendo considerados bons testes para diagnóstico confirmatório (SALIKI; DUBOVI, 2004), visto que é preciso avaliar com cuidado sorologias positivas em rebanhos vacinados (NEWCOMER; GIVENS, 2016).

A identificação do material genético por RT-PCR vem sendo extensivamente usada como um método de rotina na identificação de BVDV (SALIKI; DUBOVI, 2004), sendo eficiente tanto na diferenciação viral do tipo 1 quanto na do tipo 2 (LANYON *et al.*, 2014). A utilização de *pools* de leite, tecido e soro para a identificação de RNA viral por RT-PCR se mostrou muito efetivo na detecção de animais PI em propriedades (EDMONDSON *et al.*, 2007), sendo capaz de identificar um animal numa diluição de 1:600 em amostras de leite com animais negativos (NEWCOMER; GIVENS, 2016). É importante a escolha de material para envio e o meio de envio, visto que amostras de tecidos formolizadas tendem a apresentar falsos negativos devido à degradação acarretada pelo formol, e ressaltar que o teste de RT-PCR não diferencia a infecção da vacinação, sendo potencialmente positivo para animais vacinados (SALIKI; DUBOVI, 2004).

Ridpath (2010) afirma que visto que nenhum dos testes citados anteriormente é capaz de, sozinho, diferenciar infecções agudas de animais PI, é necessária a confirmação de dois testes distintos para um animal com três coletas intervaladas semanalmente.

### **3.2 Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina**

A Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina (IBR) foi detectada primeiramente nos Estados Unidos da América (EUA) e se espalhou pela Europa devido à exportação de gado leiteiro (MUYLKENS *et al.*, 2007). Hoje, a IBR é responsável por grandes perdas econômicas no mercado pecuário (MUYLKENS *et al.*, 2007). Esta é uma doença causada pelo Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1), pertencente à Família *Herpesviridae*, Gênero *Varicellovirus* (NANDI *et al.*, 2009; VIU *et al.*, 2014). Esse vírus possui um ciclo curto de replicação e tem a habilidade de se manter latente no hospedeiro (MUYLKENS *et al.*, 2007).

A doença está disseminada por todo o território brasileiro, com sua incidência variando de 28,9% a 82,7% (ALFIERI; ALFIERI; MÉDICI, 1998). Na região Sul, a incidência varia de 18,8% a 64,4%, ou seja, mais da metade do rebanho do Rio Grande do Sul apresenta soropositividade para o vírus BoHV-1 (VIU *et al.*, 2014). Fatores como a introdução de novos animais ao rebanho, tamanho de rebanho, produção leiteira e idade estão diretamente ligados à ocorrência da doença (FINO *et al.*, 2012).

### 3.2.1 Etiopatogenia

O BoHV-1 pode ser dividido em três subtipos, em que o 1 está relacionado com a apresentação respiratória da doença; o 2 com a apresentação genital, se subdividindo em 2.a e 2.b; e o 3 é um subtipo encefálico (NANDI *et al.*, 2009). O subtipo BoHV-1.1 é o mais virulento, e junto com o BoHV-1.2a, está associado a perdas reprodutivas e sinais clínicos respiratórios. Animais infectados com BoHV-1.2b apresentam sintomatologia respiratória leve e não apresentam perdas reprodutivas (VIU *et al.*, 2014). Além da IBR, o vírus também é responsável por duas doenças reprodutivas, denominadas de Vulvovaginite Pustular Infecciosa e Balanopostite Pustular Infecciosa (SMITH, 1997; NANDI *et al.*, 2009). O tipo de doença que o animal apresentará está relacionado com a via de entrada do vírus no organismo e sua adaptação a algum órgão específico (BARTHA, 1999), visto que o vírus parece continuar alojado no local do primeiro contato, mantendo latência nos gânglios sensoriais regionais (SMITH, 1997).

O aborto causado por BoHV-1 costuma ser decorrente da apresentação respiratória, a própria IBR, e é observado entre o quarto e o oitavo mês de gestação. A rota que o vírus toma até o feto ainda não é muito clara, mas especula-se que seja através da veia umbilical devido a lesões já bem observadas no fígado do animal (SMITH, 1997; MUYLKENS *et al.*, 2007). Tais lesões são caracterizadas como lesões hepatocelulares multifocais, e foram observadas em todos os fetos participantes do experimento realizado por Brower *et al.* (2008). O aborto leva de duas semanas a dois meses para ocorrer após a incubação do agente na matriz (SMITH, 1997; MUYLKENS *et al.*, 2007; BROWER *et al.*, 2008), com a expulsão fetal ocorrendo de 24 a 36 h após a morte (BROWER *et al.*, 2008), podendo levar até sete dias (SMITH, 1997), normalmente sem retenção de placenta (BARTHA, 1999). Quando a falha reprodutiva é decorrente da forma de infecção genital, os principais sinais são infertilidade temporária e atraso do próximo estro em até dois meses (ALFIERI; ALFIERI; MÉDICI, 1998).

A apresentação de sinais clínicos costuma ser branda e está muito ligada ao tipo de cepa infectante, visto que algumas possuem um maior potencial virulento. Entretanto, essa

amenidade pode estar ligada também à efetividade da imunidade passiva oriunda do colostro (MUYLKENS *et al.*, 2007). Quando o vírus infecta animais soronegativos, alguns sinais são característicos: hiperemia de 42°C, queda de produção leiteira, perda de apetite, vermelhidão da mucosa nasal, corrimento nasal, dificuldade respiratória, tosse e conjuntivite (BARTHA, 1999). Quando a IBR é causada por cepas mais virulentas, sinais como endometrite, mastite, dermatite e diarreia fatal em bezerros são observados (SMITH, 1997). Em surtos da doença, bezerros podem apresentar também meningoencefalite, que os leva à morte em cinco a sete dias (BARTHA, 1999). Após a infecção, o vírus se propaga pelos nervos até o nervo trigêmeo, podendo permanecer latente (VAN OIRSCHOT, 1995).

### 3.2.2 Transmissão

A porta de entrada do vírus pode ser tanto pela mucosa genital no contato direto da cópula ou por sêmen infectado, quanto pela mucosa nasal, no qual o contato direto de focinho-focinho é a forma prioritária de contaminação. Contudo, é possível a transmissão via aerossóis (MUYLKENS *et al.*, 2007; FINO *et al.*, 2012).

É de extrema importância a identificação de touros soropositivos para o BoHV-1, pois dois a sete dias pós-infecção primária na região genital, o animal passa a eliminar o vírus e, devido ao potencial de latência viral, o sêmen desses animais terá períodos de contaminação (VAN OIRSCHOT, 1995). Essa contaminação não é necessariamente oriunda das glândulas anexas sexuais, visto que na ejaculação o sêmen entra em contato com o prepúcio e com a uretra, locais altamente contaminados (FINO *et al.*, 2012).

A possibilidade de transmissão pela transferência de embriões é baixa, de acordo com Smith (1997). Essa afirmação foi posteriormente embasada no experimento realizado por Oliveira *et al.* (2016), que investigaram a chance de vacas soropositivas sem sinais clínicos serem portadoras de complexos *cumulus*-oócitos e líquido folicular contaminados. Os resultados do trabalho afirmam que é insignificante a chance de transmissão de BoHV-1 por oócitos e embriões.

### 3.2.3 Diagnóstico

Em casos de suspeita de IBR na propriedade como causadora de doenças reprodutivas, é interessante o envio de *swabs* da região genital, e se o animal for necropsiado, o envio de mucosa nasal, amígdala e linfonodos brônquicos (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2020a). Os fetos provenientes de aborto por IBR costumam ter em torno de cinco meses, e podem estar autolisados com a presença de líquido avermelhado nas cavidades. Além

disso, no exame histopatológico pode ser observado necrose multifocal acentuada no fígado (ANDERSON, 2007; MAHAJAN *et al.*, 2013), sendo possível também que o feto apresente encefalite não supurativa, encefalomalácia e hemorragias (MAHAJAN *et al.*, 2013).

Sinais macroscópicos nas fêmeas ligados a infecções genitais incluem hiperemia de vulva e vagina, edema vulvar com secreção mucopurulenta e presença de úlceras. Microscopicamente, pode haver degeneração epitelial e corpúsculos de inclusão nuclear. Todavia, essas inclusões são transitórias, não classificando o exame histológico para diagnóstico conclusivo (NANDI *et al.*, 2009).

O cultivo viral é relativamente fácil, com um efeito citopático denunciando a presença do vírus no inoculado (NANDI *et al.*, 2009), porém a viabilidade da amostra é dificultada pela autólise fetal (MAHAJAN *et al.*, 2013). A IHQ pode ser usada para a identificação viral, possuindo uma sensibilidade similar à do cultivo (MAHAJAN *et al.*, 2013).

Os testes sorológicos mais utilizados são ELISA indireto e Teste de Vírus Neutralização (TVN). O ELISA indireto é um bom teste para triagem (MAHAJAN *et al.*, 2013), sendo avaliado com 97,4% de sensibilidade e 92,4% de especificidade quando testando soros individuais (COWLEY *et al.*, 2011).

Mesmo que técnicas moleculares venham sendo muito utilizadas para o diagnóstico de IBR, a presença do DNA viral não é o suficiente para caracterizar uma infecção ativa, devido à característica de latência do vírus (NEWCOMER; GIVENS, 2016). Essa latência pode ser proveniente de uma infecção a campo ou vacinação, e o DNA viral pode se estabelecer no nervo trigêmeo, gânglios espinhais sacrais e tonsilas (NANDI *et al.*, 2009).

Teste como o PCR são cada vez mais utilizados devido à rapidez e à eficiência na detecção viral, sendo considerado por Mahajan *et al.* (2013) como a técnica mais específica e sensível ao diagnosticar IBR. O PCR em tempo real também foi um método aprovado em especificidade e sensibilidade por Wang *et al.* (2007) na detecção de BoHV-1 em sêmen bovino, sendo considerado mais rápido, preciso e adequado devido à capacidade quantitativa da técnica.

### 3.3 Leptospirose

A Leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial causada por bactérias do gênero *Leptospira* (BHARTI *et al.*, 2003; LILENBAUM; MARTINS, 2014), sendo uma doença considerada endêmica no Brasil (FÁVERO *et al.*, 2017). Tais bactérias se caracterizam por seu formato helicoidal, e dentre as diversas espécies conhecidas, oito a 13 são consideradas patogênicas (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a; LEFEBVRE, 2016). Existem mais de 300 sorovares conhecidos hoje, com mais de 200 sendo patogênicos (MOHAMMED, 2011). Os

principais sorovares relacionados a abortos bovinos são a *Leptospira hardjo* e *L. pomona* (ANDERSON, 2007).

*Leptospira* spp. são bactérias que afetam animais silvestres e de criação, e sua principal fonte de infecção é o contato direto com a urina de animais infectados e a ingestão de alimentos ou água contaminada (FÁVERO *et al.*, 2017). A transmissão está fortemente ligada às condições climáticas, visto ser uma bactéria que necessita de umidade e calor para sobreviver. A sobrevivência no ambiente é muito eficiente, tornando difícil a eliminação do patógeno do rebanho (MWACHUI *et al.*, 2015).

### 3.3.1 Etiopatogenia

É possível relacionar abortos e outros efeitos com o agente infeccioso, visto que quando o responsável é a *L. pomona*, os abortos costumam acontecer de uma a seis semanas após a infecção aguda, e quando se trata de uma infecção por *L. hardjo*, abortos ocorrem de quatro a 12 semanas (ELLIS, 1994). A *L. hardjo* é o sorovar mais comumente mantido por bovinos (ELLIS, 1994). Infecções como as causadas por *L. hardjo* mantêm uma intensa excreção de *Leptospira* de quatro a seis semanas pós-infecção. Posterior a isto, a excreção pode se tornar inconstante e diminuir, o que alguns estudos mostram estar relacionado com o aumento de anticorpos tipo IgG e IgA, ou se perpetuar por toda a vida do animal (ELLIS, 1994).

A maioria dos casos de Leptospirose se apresenta de forma subclínica, devido a uma provável pré-adaptação do sorovar ao hospedeiro. Porém, quando a doença ocorre com sinais clínicos, é provável que seja causada por um sorovar não adaptado (LEFEBVRE, 2016). Os sinais reprodutivos normalmente são característicos de uma infecção crônica, sendo o aborto o principal sinal visível no rebanho (ANDERSON, 2007). Podem ocorrer também natimortalidade e nascimentos de bezerros fracos e prematuros (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a).

As lesões iniciais são danos vasculares, principalmente em pequenos vasos, que resultam em isquemias localizadas, afetando principalmente órgãos como rins, fígado e pulmões (causando necrose tubular renal, dano hepatocelular e pulmonar), mas também podem se apresentar em outros órgãos causando miosite, placentite e meningite (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a). As manifestações podem ser subclínicas ou com sinais acentuados como icterícia, hemorragia pulmonar e insuficiência renal, sinais característicos das lesões citadas anteriormente, tendo potencial letal (BHARTI *et al.*, 2003).

A porta de entrada da bactéria no hospedeiro é pela mucosa oral, ocular, nasal, vaginal e peniana, ou mesmo pela pele, com a incubação tendo durabilidade de sete dias ou mais

(ELLIS, 1994; ADLER; MOCTEZUMA, 2010a). Quando a carga bacteriana atinge um nível crítico, sinais começam a se tornar visíveis, devido à produção de toxinas (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a). A rapidez com que a infecção se espalha nem sempre é similar, sendo ligada à espécie causadora da doença e grau de virulência, e aos cuidados de manejo da propriedade (HORSCH, 1999).

### 3.3.2 Transmissão

Animais como camundongos e ratos são considerados reservatórios naturais da bactéria, sendo assintomáticos, disseminando, por sua vez, a doença (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a). Isto ocorre porque as bactérias deste gênero colonizam os tubos renais proximais dos animais, sendo secretadas de forma intervalada pela urina dos portadores da doença (LILENBAUM; MARTINS, 2014). Os bovinos podem excretar *Leptospira* spp. por até 180 dias pós-infecção (HORSCH, 1999).

Como a doença é uma zoonose, o homem também se contamina, bem como um gama grande de espécies animais, através do contato direto ou indireto (solo ou água contaminada) com a urina de mamíferos infectados (BHARTI *et al.*, 2003; MWACHUI *et al.*, 2015). Os bovinos são uma fonte importante de contaminação para agricultores, veterinários e trabalhadores de estabelecimentos de abate (MWACHUI *et al.*, 2015), já que a infecção é sempre oriunda de uma fonte animal, sendo a transmissão de homem para homem não eficiente em termos práticos (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a).

### 3.3.3 Diagnóstico

É recomendado o uso de testes sorológicos em associação com técnicas de identificação do agente para garantir um diagnóstico mais assertivo (BOLIN; ALT, 1999). Na realização do cultivo, o meio utilizado deve ser baseado em soro de coelho, sendo o meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris recomendado para o crescimento de diferentes gêneros de *Leptospira*, inclusive o sorovar *hardjo* (LEFEBVRE, 2016). O cultivo é custoso e difícil, levando até meses para a confirmação, por isso métodos sorológicos são mais utilizados (LEFEBVRE, 2016), visto que são mais baratos e de sensibilidade aceitável (BOLIN; ALT, 1999). Um bom diagnóstico por cultivo depende de amostras frescas, livres de tratamento por antibióticos e com pouca contaminação ambiental, não sendo considerado bom para o diagnóstico de rotina (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a). Portanto, o isolamento bacteriano para a identificação de *Leptospira* sp. na rotina laboratorial é praticamente inviável (ANDERSON, 2007).

O teste padrão usado para a identificação de *Leptospira* spp. é o teste de aglutinação microscópica (MAT). O MAT é responsável pela detecção de IgM nas amostras (PRITCHARD, 2001) e, como todo o teste, apresenta vantagens e limitações, havendo a necessidade de um estoque das diferentes cepas a serem testadas, além de haver subjetividade da leitura (BOMFIM; BARBOSA-STANCIOLI; KOURY, 2008). Porém, o MAT é específico para sorovares ou sorogrupos (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a). Além disso, é necessária precaução para distinguir quadros de vacinação, infecção recente ou prévia exposição (ANDERSON, 2007), visto que os anticorpos detectados pelo MAT só se revelam de cinco a sete dias após o começo da doença (AHMED *et al.*, 2009), sendo negativos na fase aguda de infecção (ADLER; MOCTEZUMA, 2010a). O MAT é considerado quando, além de um resultado positivo, o animal apresentar sinais clínicos e histórico condizentes (ADLER; MOCTEZUMA, 2010b).

O teste ELISA é realizado na identificação de IgG, anticorpo que só se revela três a quatro semanas pós-infecção (PRITCHARD, 2001). O teste possui a vantagem de não precisar de culturas vivas para sua realização (ADLER; MOCTEZUMA, 2010b). É um bom teste de triagem, porém não é recomendado para diagnóstico conclusivo, pois não tem a capacidade de distinção entre alguns sorovares (PRITCHARD, 2001).

Relatos do uso de PCR como ferramenta diagnóstica são crescentes (OTAKA *et al.*, 2012). O PCR é uma técnica que apresenta 100% de sensibilidade e 99% de especificidade para o diagnóstico de Leptospirose em amostras de urina quando comparado com o cultivo (HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2011). Otaka *et al.* (2012) realizaram um estudo comparativo entre o MAT e o PCR, analisando amostras de soro por MAT e de urina por PCR, e constataram que os PCRs negativos de animais soropositivos provavelmente eram devido a não eliminação constante do agente infeccioso na urina.

Além da Leptospirose já conhecida, responsável também por doença renal, Loureiro e Lilenbaum (2020) levantam a questão da Leptospirose Genital, considerando-a uma síndrome não associada a doença renal e também responsável por perdas reprodutivas, questionando as formas diagnósticas utilizadas para sua identificação (principalmente o PCR em amostras de urina), e sugerindo o uso de amostras uterinas e secreções vaginais.

### **3.4 Brucelose**

A Brucelose é considerada uma das doenças mais disseminadas no mundo, sendo a segunda zoonose mais importante depois da raiva (ABUBAKAR *et al.*, 2012; PRIYANKA; KASHYAP, 2019). O primeiro relato da doença no Brasil como uma epizootia ocorreu em 1922

no Estado de São Paulo e foi demonstrado em 1930 num estudo realizado por Mello e Neiva (1930 *apud* PALMQUIST, 2001). Em bovinos, a doença é geralmente causada por *Brucella abortus*, sendo responsável por importantes perdas econômicas (SANTOS *et al.*, 2013). *B. melitensis* e *B. suis* também são descritas como infectantes em bovinos, contudo não causam abortos característicos da infecção por *B. abortus* (BRICKER; HALLING, 1994).

A Brucelose é uma doença que, mesmo que erradicada em muitos países como Austrália, Canadá, Japão e Nova Zelândia, ainda é endêmica em regiões como África, América Latina e Oriente Médio. Esta pode infectar quase todos os animais domésticos e causar sérias perdas produtivas (GUL *et al.*, 2007).

#### 3.4.1 Etiopatogenia

As bactérias do gênero *Brucella* são microrganismos intracelulares que têm como característica possuir hospedeiros específicos (OLSEN *et al.*, 2010). Essa especificidade, porém, não impede que todas as espécies (com exceção de *B. ovis* e *B. neotomae*) sejam aptas a causar uma infecção a hospedeiros distintos (CARVALHO NETA *et al.*, 2010). Algumas espécies de *Brucella* spp. são subdivididas em biovars de acordo com características antigênicas, fenotípicas e bioquímicas para facilitar dados epidemiológicos (OLSEN *et al.*, 2010).

Os sinais reprodutivos causados pela Brucelose se apresentam no rebanho com abortos no terço final da gestação, nascimento de bezerros fracos e infertilidade de ambos os sexos (CARVALHO NETA *et al.*, 2010; OLSEN; BELLAIRE, 2016), sendo possível também que alguns touros desenvolvam orquite (SANTOS *et al.*, 2013). A bactéria transpassa o epitélio intestinal, entrando em contato com o sangue e o utiliza como meio de transporte enquanto se multiplica dentro de macrófagos. A presença do eritritol (usado como fonte energética bacteriana) nos órgãos reprodutivos, glândula mamária e tecido articular gera uma predileção por esses tecidos, que posteriormente se tornam muito infectados (PAULIN; FERREIRA NETO, 2008). Sendo assim, primeiramente a *B. abortus* alcança o endométrio e em seguida invade a placenta (SAMARTINO; ENRIGHT, 1993). Os abortos ocorrem por volta do quinto mês de gestação, e retenção de placenta e metrite são sinais característicos (RIVERA, 2001).

Após ser fagocitada pelo macrófago, as bactérias são transportadas para os linfonodos regionais, que se tornam aumentados devido à resposta inflamatória (OLSEN *et al.*, 2010). Em criações leiteiras, a bactéria atinge os linfonodos supra-mamários e glândulas mamárias de cerca de 80% de bovinos infectados, sendo excretada juntamente com o leite, diminuindo a produção leiteira em cerca de 25% (SELEEM; BOYLE; SRIRANGANATHAN, 2010). Em

touros, a *B. abortus* se encontra principalmente nos testículos e nas glândulas acessórias e, além da orquite, pode causar epididimite e vesiculite seminal, mesmo que normalmente seja assintomática (JUNQUEIRA JUNIOR *et al.*, 2015).

#### 3.4.2 Transmissão

Todas as espécies de *Brucella* spp. podem infectar espécies silvestres, e já foram isoladas de vários animais como o alce, javali, raposa, lebre e renas (GODFROID; NIELSEN; SAEGERMAN, 2010). Isto é muito preocupante, visto o risco de transmissão para animais domésticos de regiões até então declaradas “livres de Brucelose”, como é o caso relatado por Beja-Pereira *et al.* (2009) sobre surtos de Brucelose no Parque Yellowstone (EUA) oriunda de alces (considerados reservatórios).

A principal forma de entrada da doença em rebanhos bovinos é através da introdução de animais contaminados. A aquisição de novos animais não é o real problema, e sim a falta de testes e o não conhecimento das condições sanitárias do rebanho de origem (DIAS *et al.*, 2009). Outro fator levado em consideração como facilitador para a transmissão de *B. abortus* é o tamanho dos rebanhos, não que seja influente na suscetibilidade do indivíduo, mas sim porque quanto maior o rebanho, maior é a reposição animal e pior é o controle sanitário (DIAS *et al.*, 2009).

A transmissão deste agente infeccioso ocorre principalmente por meio de aerossóis, via oral e sexual. A *B. abortus* é uma espécie muito virulenta, e quando transmitida de forma horizontal, há o contágio pelo contato com fluidos, placentas e fetos abortados, visto que a carga bacteriana destes tecidos é extremamente alta. Quando ocorre de forma vertical, o contágio se dá através do leite na amamentação dos terneiros (OLSEN; BELLAIRE, 2016).

No aspecto zoonótico, a contaminação humana está com maior frequência associada à ingestão de alimentos contaminados e contato com animais infectados (CORBEL, 1997; FALENSKI *et al.*, 2011). Relações sexuais e transplante de órgãos entre humanos já foram descartadas como vias de transmissão (CORBEL, 1997).

#### 3.4.3 Diagnóstico

O diagnóstico de Brucelose é realizado basicamente por testes sorológicos que se mostraram eficientes para o uso em um programa de erradicação e controle (GODFROID *et al.*, 2002), visto que a cultura, mesmo sendo o método mais seguro, apresenta certas dificuldades em seus procedimentos, e por ser trabalhosa, torna complicada a avaliação de grandes rebanhos (MEGID *et al.*, 2000). Apenas laboratórios com nível 3 de biossegurança estão aptos a trabalhar

com *Brucella* spp. (POESTER *et al.*, 2010). Além dos materiais padrão de coleta, é interessante coletar leite e sêmen dos animais vivos, e enviar juntamente com os órgãos coletados na necropsia das fêmeas, os linfonodos pré-escapular, mamário, retrofaríngeo e parotídeo (POESTER *et al.*, 2010).

Como testes de triagem, podemos usar o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o Teste do Anel em Leite (TAL), e como testes confirmatórios, o teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME) e o Teste de Fixação do Complemento (TFC; BRASIL, 2006). O AAT é um teste de triagem rotineiro realizado tanto em animais quanto em humanos (CHO *et al.*, 2010). A amostra utilizada é o soro do animal, em que a mesma quantidade de soro e antígeno (corado com rosa de bengala) são colocados em uma placa e homogeneizados por 4 minutos, na busca por anticorpos que serão observados pela aglutinação da amostra (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2020b). A reação consiste na diminuição do pH para 3,65 (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2020b) com o intuito de inativar os anticorpos IgM presentes na amostra, possibilitando apenas a ligação de IgG (MEGID *et al.*, 2000; POESTER *et al.*, 2010), evitando assim interações inespecíficas (NIELSEN, 2002). Um acréscimo no tempo para a leitura pode ocasionar falsos positivos devido à coagulação causada pela fibrina presente no soro (POESTER *et al.*, 2010). É considerado um teste rápido e barato, porém o risco de falsos positivos e falsos negativos é existente (PINTO *et al.*, 2005). É possível a detecção de anticorpos vacinais por esse teste, nesse caso, outros meios diagnósticos devem ser utilizados (NIELSEN, 2002).

O TAL é um teste indireto de aglutinação preferencialmente realizado com uma amostra de leite do rebanho, visando, além da identificação de rebanhos contaminados, o monitoramento de estabelecimentos livres da doença (MOHAMAND *et al.*, 2014; CAVALCANTE *et al.*, 2015). O teste detecta IgM e IgA ligados a glóbulos de gordura no leite (CADMUS; ADESOKAN; STACK, 2008; MOHAMAND *et al.*, 2014). É realizado adicionando-se 30 ul de antígeno Ringer Test a 3 mL de leite. Posteriormente, a amostra é homogeneizada e incubada a 37°C por uma hora. A leitura do resultado deve visualizar se há a formação de um halo azul na parte superior da amostra, com o teste considerado positivo (CAVALCANTE *et al.*, 2015). Tem como característica ser um teste simples e barato (CADMUS; ADESOKAN; STACK, 2008), porém falsos positivos são possíveis se houver presença de colostro, leite de mastite ou leite de final de lactação (POESTER *et al.*, 2010; MOHAMAND *et al.*, 2014). No estudo realizado por Silva Junior *et al.* (2007), o TAL foi considerado pelos autores um bom teste presuntivo, sendo definida uma sensibilidade de 84,2% e uma especificidade de 97,1%.

O 2-ME é um teste considerado confirmatório e deve ser realizado após uma triagem prévia feita com o AAT, por exemplo (PINTO *et al.*, 2005). O 2-ME é similar ao teste de aglutinação em tubo padrão, porém há a adição de 2-ME com o propósito de inativar os IgM, tornando possível apenas a aglutinação de IgGs, se presentes na amostra (BUCHANAN; THOMAS; FABER, 1980).

O TFC é considerado o mais importante teste sorológico confirmatório (PINTO *et al.*, 2005), caracterizando-se por ser mais complexo e necessitar de instalações e equipe mais qualificada, se comparado aos demais testes (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2020b). O teste consiste basicamente em uma incubação de antígeno, anticorpo e complemento em ambiente aquecido (37°C por 30 min) ou frio (5°C por 14 a 18 h). Se houver presença de anticorpos (preferencialmente IgG), há ativação do complemento (NIELSEN, 2002). Posteriormente, um complexo de eritrócito e anticorpo é adicionado, e se a amostra possuir anticorpos para *B. abortus*, o complemento terá sido ativado e os eritrócitos não serão lisados, classificando como um resultado positivo para a presença de anticorpos (NIELSEN, 2002). Assim como outros testes sorológicos já citados, o TFC pode apresentar falso positivo para animais vacinados (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2020b).

### 3.5 Campilobacteriose

A Campilobacteriose é uma doença venérea de importância mundial, e afeta principalmente bovinos de corte que se reproduzem por monta natural (ALVES *et al.*, 2011; JIMENEZ *et al.*, 2011; NIETFELD, 2016). Essa doença foi descrita no Brasil em 1956 e foi muito investigada até 1980, em que dados epidemiológicos por Estado foram levantados, observando-se a presença do agente disseminado pelos principais Estados pecuaristas (PELLEGRIN, 2002). Esta é uma doença que não possui monitoramento mundial e nacional; portanto, seus efeitos adversos são provavelmente subestimados dentro do grupo de doenças que causam perdas reprodutivas (ALVES *et al.*, 2011; MICHII *et al.*, 2016). É uma doença presente em países subdesenvolvidos e desenvolvidos, porém a tecnificação dos manejos reprodutivos pode limitar a transmissão, levando apenas a índices endêmicos (MICHII *et al.*, 2016).

#### 3.5.1 Etiopatogenia

A espécie causadora da enfermidade é o *Campylobacter fetus* (ALVES *et al.*, 2011), pertencente ao gênero *Campylobacter*, sendo uma bactéria Gram negativa, microaerofílica, móvel e em formato de “S”. Duas subespécies se destacam como relevantes para a saúde dos

rebanhos: *C. fetus fetus* e *C. fetus venerealis* (CAMPERO *et al.*, 2005; ALVES *et al.*, 2011; MICHI *et al.*, 2016). *C. fetus fetus* é responsável por abortos esporádicos, enquanto *C. fetus venerealis* é responsável pela conhecida Campilobacteriose Genital Bovina (ALVES *et al.*, 2011).

O *C. fetus venerealis* é uma bactéria que coloniza o trato reprodutivo de bovinos, encontrando-se na mucosa prepucial no macho, e na mucosa vaginal, cervical, uterina e tubárica na fêmea (PELLEGRIN, 2002). Nas fêmeas, é possível a detecção de anticorpos na secreção cervicovaginal quando há inoculação intravaginal, ou quando são naturalmente infectadas. A infecção se limita a semanas ou meses no útero, onde IgGs são detectados. Porém, na vagina, a infecção pode persistir de seis a 18 meses, onde há predomínio de IgA (MICHI *et al.*, 2016). Além disso, vacas e novilhas podem desenvolver endometrite e salpingite (TRUYERS *et al.*, 2014). Nos touros há uma colonização persistente e assintomática de criptas do epitélio prepucial e pênis. Todavia, não há perda na qualidade seminal, nem graves anomalias genitais. Sabe-se, porém, que a presença de anticorpos não é o suficiente para eliminar a infecção (PELLEGRIN, 2002; MICHI *et al.*, 2016).

Dentre os principais sinais reprodutivos causados por *C. fetus venerealis* estão a infertilidade e a morte embrionária, que se apresenta em abortos e em repetições de estros irregulares (PELLEGRIN *et al.*, 2002; JIMENEZ *et al.*, 2011; MICHI *et al.*, 2016). A infertilidade pode ser temporária, em que o animal retorna ao estro de quatro a oito meses após a infecção inicial, com os abortos ocorrendo normalmente entre o quarto e o oitavo mês de gestação (GIVENS, 2006; ANDERSON, 2007). Sinais como retorno ao estro são mais frequentes em novilhas e vacas jovens; já os abortos acontecem em cerca de 10% dos animais infectados (PELLEGRIN, 2002). Além dos sinais já citados anteriormente, é possível a observação de fetos mumificados em casos de infecção por *C. fetus venerealis* (ALVES *et al.*, 2011).

*C. fetus fetus* é responsável por eventuais abortos em bovinos e ovinos e não se limita ao trato reprodutivo (WILLOUGHBY *et al.*, 2005). O agente é um habitante do intestino, sendo responsável por infecções genitais quando ascende ou quando é levado ao órgão genital pela monta natural (CAMPERO *et al.*, 2005; MICHI *et al.*, 2016).

### 3.5.2 Transmissão

A doença entra no rebanho normalmente pela introdução de um novo touro de cobertura infectado, e quando é detectada, as perdas reprodutivas já são graves (ALVES *et al.*, 2011). A transmissão de touros para vacas pode variar em 50%, e a taxa de prenhez dos animais

contaminados pode chegar a 20%, sendo necessárias três a quatro coberturas para garantir a concepção (PELLEGRIN, 2002).

Outro manejo muito comum e que aumenta a incidência de casos da doença é a utilização de touros de repasse. Tais animais são responsáveis pela cobertura de fêmeas que retornarem ao estro após a segunda ou terceira inseminação. Quando contaminado, o touro é um grande disseminador da doença, sendo inclusive o animal de eleição na pesquisa pela enfermidade no rebanho (PELLEGRIN, 2002). Embora a principal fonte de contaminação seja pelo contato direto, é possível que também ocorra pela inseminação através de sêmen ou equipamento contaminado (TRUYERS *et al.*, 2014)

Depois de constante contato com touros contaminados, até 5% das fêmeas pode se tornar resistente à infecção por *C. fetus* (MICHII *et al.*, 2016). Da mesma forma, já foram descritos casos de fêmeas persistentemente infectadas que podem transmitir o agente por seis a 24 meses (PELLEGRIN, 2002).

### 3.5.3 Diagnóstico

A coleta de amostras para testes de Campilobacteriose deve ser feita de forma muito minuciosa para evitar perdas na viabilidade da bactéria, que podem ocorrer devido à sua característica microaerofílica (MONKE *et al.*, 2002). É importante a inoculação dessas amostras em um meio de cultivo enriquecido, como o meio de Lander para o transporte (LANDER, 1990). Para um panorama mais amplo em relação ao rebanho, deve-se coletar amostras de 20% do rebanho, de todos os machos ou no mínimo de 20 fêmeas; tais amostras devem ser encaminhadas resfriadas ao laboratório de análises (NIETFELD, 2016).

Para a realização de cultura, o material coletado deve ser incubado a 37°C por até três dias, e posteriormente inoculado em ágar *Brain Heart Infusion* (infusão de cérebro e coração) contendo 10% de sangue equino (ALVES *et al.*, 2011) ou ágar sangue de carneiro a 5%, e mantido em microaerofilia a 37°C por 48 h (MICHII *et al.*, 2016). É interessante a realização de uma pré-filtração com filtros de 0,6 µL para diminuir a chance de contaminação com outros agentes microbianos (LANDER, 1990; CHABAN *et al.*, 2013). Embora a cultura ainda seja o método preferencial para diagnóstico de *C. fetus*, os resultados obtidos podem ser muito influenciados pela coleta, transporte e consequentemente viabilidade da amostra (GROFF *et al.*, 2010).

Técnicas baseadas em detecção antigênica são mais utilizadas para identificar estágios agudos da doença na qual há infecção ativa (MSHELIA *et al.*, 2010). A IHQ feita a partir de amostras fixadas em formol a 10% enviadas ao laboratório se mostrou funcional para o

diagnóstico de *C. fetus* no trabalho realizado por Campero *et al.* (2005), apresentando uma especificidade de 94%, porém não sendo capaz de diferenciar as subespécies *fetus* e *venerealis*.

A busca por anticorpos também é possível, com o uso de ELISA indireto, por exemplo, que visa a detecção da presença de IgA em amostras de muco vaginal. Este procedimento se mostrou efetivo no trabalho realizado por Hum, Quinn e Kennedy (1994), apresentando uma sensibilidade de 98,5%.

Na detecção do agente por PCR, Groff *et al.* (2010) afirmaram que é eficiente a incubação da amostra no meio de transporte enriquecido por até cinco dias, pois o meio proporciona melhor multiplicação bacteriana, aumentando as chances de detecção. Porém, tal protocolo de incubação não deve ser reproduzido para a inoculação em meio de cultura, visto que há a multiplicação de agentes contaminantes presentes na amostra. É possível também a utilização de amostras armazenadas apenas em PBS para a extração de DNA e realização do PCR (MCMILLEN *et al.*, 2006). O diagnóstico por PCR é mais rápido que o obtido pela cultura, levando metade do tempo no experimento realizado por Groff *et al.* (2010), além de ter sido 54% mais específico do que a cultura bacteriana.

### 3.6 Tricomonose

A Tricomonose bovina é uma doença sexualmente transmissível, de distribuição mundial, e que afeta bovinos de leite e de corte (SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 2009). O primeiro relato no Brasil foi em 1948, quando o parasito foi detectado no sêmen oriundo de centrais de inseminação no Estado do Rio Grande do Sul (PELLEGRIN, 2002; SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 2009). Esta doença é causada pelo parasito *Tritrichomonas foetus*, que é um protozoário extracelular encontrado principalmente em criações que utilizam a monta natural como principal manejo reprodutivo (CORBEIL *et al.*, 2005).

#### 3.6.1 Etiopatogenia

O *T. foetus* normalmente possui um formato piriforme, quatro flagelos (três anteriores e um posterior), e uma membrana ondulante, características distintas, utilizadas para a identificação (RAE; CREWS, 2006; HAAS *et al.*, 2018), conforme ilustrado na Figura 1. Existem três sorotipos até então descritos: var. *manley*, var. *brisbani* e var. *belfast*. Porém, essa diferenciação antigênica em nível imunológico não é muito relevante, visto que ao imunizar o animal para um desses antígenos, há abrangência de imunização para os demais, indicando forte relação cruzada entre eles (RAE; CREWS, 2006).

Figura 1- Imagem microscópica  
(x1162) de  
*Tritrichomonas Foetus*



Fonte: TAYLOR; MARSHALL; STACK (1994).

Quando fêmeas se infectam com *T. foetus*, os sinais podem variar de leve a agudo, como no caso de cervicite e endometrite, podendo abranger todo o trato reprodutivo (TACHEZY *et al.*, 2002) em uma ou duas semanas (RAE; CREWS, 2006). Fêmeas prenhes podem apresentar, como consequência da contaminação, morte embrionária precoce, abortos, e em alguns casos podem desenvolver piometra, correndo o risco, inclusive, de se tornarem inférteis (TACHEZY *et al.*, 2002). O período de infecção nas fêmeas pode variar entre 95 dias a 22 meses (RAE; CREWS, 2006). Abortos ocorrem comumente entre o primeiro e o terceiro mês de gestação (GIVENS, 2006; SPÓSITO FILHA; OLIVEIRA, 2009).

Em machos, o *T. foetus* se instala no epitélio prepucial, peniano e eventualmente na uretra (RAE; CREWS, 2006; MICHII *et al.*, 2016), mas é encontrado com mais frequência nas criptas prepuciais, devido sua necessidade de condições anaeróbias (CORBEIL *et al.*, 2005). Acredita-se que o protozoário não ascende às glândulas seminais e ao resto do aparelho reprodutor devido à limitação imposta pelo sistema imune do hospedeiro, que mantém a infecção restrita (MICHII *et al.*, 2016). É possível que nas primeiras duas semanas o macho apresente uma secreção purulenta originária do prepúcio, porém esta é passageira, e não causa lesões significativas (RAE; CREWS, 2006). O principal aspecto da doença no quesito saúde do rebanho é sua cronicidade em touros. Tal característica está associada ao aprofundamento que as criptas prepuciais sofrem ao longo dos anos, relacionando à permanência da doença com a idade do animal (RAE; CREWS, 2006).

### 3.6.2 Transmissão

A principal forma de transmissão de Tricomonose é pelo coito, quando a doença entra em um rebanho normalmente pela introdução de um touro contaminado e assintomático (HAAS *et al.*, 2018). A cronicidade da doença nos touros é relacionada à idade e ao aprofundamento das criptas, por isso touros com mais de quatro anos são considerados mais suscetíveis à doença (RAE; CREWS, 2006).

A contaminação das fêmeas pode ocorrer pelo uso de sêmen contaminado na inseminação artificial, ou até mesmo de forma iatrogênica em exames ginecológicos, mesmo sendo menos comum (HAAS *et al.*, 2018). Comportamentos homossexuais de touros também são citados como forma de transmissão de macho para macho (ALVES *et al.*, 2011).

Testes para determinar a capacidade de contaminação de forma passiva, ou seja, a chance de um touro não infectado copular com uma fêmea infectada, posteriormente com uma fêmea não infectada e transmitir a doença, estipulam que o contato deve ocorrer em menos de 20 min, com a transferência do agente sendo pouco eficiente comparada a outras formas de contágio (RAE; CREWS, 2006). Isso demonstra que a utilização de touros saudáveis não impede a transmissão, porém a diminui muito (LEAL, 2012).

### 3.6.3 Diagnóstico

O diagnóstico de *T. foetus* pode ser influenciado por diversos fatores: a data de coleta, o meio utilizado para envio e cultura, temperatura e extração para PCR, ou até mesmo contaminação (MUKHUFHI *et al.*, 2003; YAO, 2013). A coleta do material deve ser feita evitando ao máximo contaminação fecal devido à gama de protozoários morfológicamente similares ao *T. foetus* presentes nas fezes (TAYLOR; MARSHALL; STACK, 2013). É interessante que a coleta do muco vaginal da fêmea seja feita três dias pré ou pós-cio, pois nesse período há um aumento da carga parasitária (PELLEGRIN; LEITE, 2003). A sensibilidade dos testes, independente de qual (cultivo ou PCR), é influenciada pela frequência entre coletas, em que coletas semanais por três semanas podem garantir uma sensibilidade de no mínimo 95% (YAO, 2013).

Geralmente o diagnóstico é realizado por visualização do parasita em meios de cultura específicos, como por exemplo o LACTOPEP (composto de leite em pó, peptona bacteriológica e antibióticos) que além de ser um meio de cultura de baixo custo, mostrou-se eficaz para transporte e cultivo de *T. foetus*. A cultura leva de sete a 10 dias para se desenvolver e sua análise deve ser diária por aproximadamente 10 dias (LOPES *et al.*, 1995).

A onda de movimento da membrana ondulante, o axóstilo, e o movimento do corpo são os aspectos avaliados para a confirmação diagnóstica, mas infelizmente muitos parasitos se assemelham ao *T. foetus* nessas características, dificultando a precisão do avaliador (TAYLOR; MARSHALL; STACK, 1994). Mesmo com as dificuldades citadas, Mukhufhi *et al.* (2003) afirmaram que o diagnóstico por cultivo possui uma sensibilidade de mais de 90% em condições de coleta e processamento ideais. Cobo *et al.* (2007) concordam com esse dado, porém trazem à tona que em amostras coletadas a campo há uma sensibilidade de apenas 70%.

É possível também a realização de exame direto de microscopia das amostras sem enriquecimento, tanto da fêmea quanto do macho, porém tal exame possui uma sensibilidade de 30% (PELLEGRIN; LEITE, 2003) e normalmente a visualização do parasito não é possível devido à baixa quantidade do agente infeccioso na amostra, e não à sua ausência (TAYLOR; MARSHALL; STACK, 1994; PELLEGRIN; LEITE, 2003).

Para o PCR, as amostras podem ser armazenadas apenas em PBS, de onde é feita uma extração de DNA para realização do teste, sem ser necessária uma cultura prévia (COBO *et al.*, 2007). O teste comparativo entre cultura e PCR realizado por Cobo *et al.* (2007) demonstrou que ambos testes diagnósticos parecem ser igualmente sensíveis.

De acordo com Rae e Crews (2006), testes sorológicos na pesquisa por anticorpos para *T. foetus* não foram bem-sucedidos. Cobo *et al.* (2007) embasaram tal achado, afirmando que a resposta imune humoral parece não estar muito associada a casos de Tricomonose.

### 3.7 Neosporose

Em 1987, uma série de abortos no Novo México, EUA, trouxe à tona um agente infeccioso até então não associado a perdas reprodutivas, o *Neospora caninum* (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000). O agente já foi isolado em bovinos, caninos, equinos e ovinos, e anticorpos foram detectados em animais silvestres como guaxinins, raposas e coiotes (DUBEY; BUXTON; WOUDA, 2006; GEORGIEVA; PRELEZOV; KOINARSKI, 2006).

Os surtos de Neosporose podem ser classificados como endêmicos ou epidêmicos, onde são considerados epidêmicos quando mais de 10,0%, 12,5% ou 15,0% dos animais são acometidos (DUBEY; SCHARES, 2006), e endêmicos quando o rebanho apresenta uma taxa de aborto superior a 5% ao ano (ANDERSON, 2007). O *N. caninum* é um parasito de ciclo heteroxênico, ou seja, possui mais de um hospedeiro. Cães e coiotes são seus hospedeiros definitivos, e bovinos, ovinos, e muitos outros animais atuam como hospedeiros intermediários (DUBEY; BUXTON; WOUDA, 2006; GEORGIEVA; PRELEZOV; KOINARSKI, 2006).

### 3.7.1 Etiopatogenia

O *N. caninum* é um parasito intracelular obrigatório e se apresenta de três formas ao longo do seu ciclo: taquizoíto, bradizoíto e esporozoíto (DUBEY; BUXTON; WOUDA, 2006). Taquizoítos e bradizoítos são as fases encontradas em hospedeiros bovinos (COLLANTES-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006; GEORGIEVA; PRELEZOV; KOINARSKI, 2006). Os taquizoítos são capazes de uma alta multiplicação e se espalham pelo organismo do hospedeiro, infectando músculo esquelético, rim, coração, pulmão, fígado e outros diversos órgãos (DAVISON; OTTER; TREES, 1999; (DUBEY; BUXTON; WOUDA, 2006). Já os bradizoítos possuem uma replicação mais lenta e se encontram dentro de cistos de tamanhos variáveis (de acordo com a quantidade de bradizoítos) presentes nos tecidos do animal (DUBEY; BUXTON; WOUDA, 2006).

O *N. caninum* é um grande causador de aborto na criação bovina de carne e de leite, com tais abortos sendo consequência do deslocamento direto de taquizoítos para o feto (JENKINS *et al.*, 2002). Tal circunstância costuma ocorrer durante todo o ano, afetando os animais entre o 5º e o 6º mês de gestação (DUBEY, 2005; ANDERSON, 2007). A contaminação da fêmea em meados da gestação pode causar, além de abortos, o nascimento de animais persistentemente infectados (COLLANTES-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006), que geralmente não manifestam sinais clínicos (GEORGIEVA; PRELEZOV; KOINARSKI, 2006). A patogenia da doença vem sendo muito estudada, e fatores variantes como a virulência do parasito, a rota de transmissão, o estágio de gestação ao contágio e o tipo (primária, recrudesência ou reinfecção) podem afetar a gravidade da infecção (COLLANTES-FERNÁNDEZ *et al.*, 2006). Além de abortos, outras formas de perdas reprodutivas também estão associadas à patologia, como natimortalidade, reabsorção fetal e mumificação (DUBEY, 2005), com a mumificação sendo associada a surtos de Neosporose (ANDERSON, 2007).

### 3.7.2 Transmissão

São crescentes os indicativos de que placentas de fêmeas infectadas são a principal fonte de contaminação de canídeos (DUBEY; BUXTON; WOUDA, 2006), principalmente depois do experimento realizado por Dijkstra *et al.* (2001), que demonstrou uma infecção bem-sucedida de dois cães alimentados com cotilédones placentários de vacas soropositivas para *N. caninum*. Após a contaminação por tecido infectado, o cão passa de cinco a sete dias liberando oocistos, que esporulam no ambiente, tornando-se infeccioso para os hospedeiros intermediários (GEORGIEVA; PRELEZOV; KOINARSKI, 2006). Ainda não é certo o tempo de

sobrevivência do oocisto esporulado no ambiente (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000; GEORGIEVA; PRELEZOV; KOINARSKI, 2006).

A transmissão de *N. caninum* em bovinos pode ocorrer de duas formas, tanto horizontal (pós-natal), quanto vertical (transplacentária; ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000). Há sinal de dois tipos de contaminação horizontal, com o parasito podendo ser transmitido por seu hospedeiro definitivo, o cão, ou pela fêmea ao bezerro, pelo colostro (FRENCH, 1999). Quando o cão é a fonte, a infecção ocorre pela ingestão bovina de oocistos esporulados contidos em água e alimentos contaminados por fezes caninas. Porém, o animal também pode se tornar hospedeiro devido à ingestão de taquizoítos presentes em tecido infectado (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000). Já a contaminação pelo colostro pode ser embasada no estudo realizado por Uggla *et al.* (1998), que dá suporte a essa afirmação quando testa a contaminação de bezerros por *N. caninum* na ingestão de colostro contaminado com taquizoítos, confirmando ser esta uma possível rota de transmissão.

O *N. caninum* é um agente com alta eficiência na transmissão placentária (CANADA, 2006), ao ponto de praticamente todos os bezerros nascerem infectados em um rebanho acometido pela doença (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). A maioria destes animais são assintomáticos e sustenta a doença no rebanho (MALEY *et al.*, 2003). Uma característica que merece ser acentuada é que uma matriz soropositiva para a infecção provavelmente transmitirá via transplacentária a doença para toda a sua prole durante toda a sua vida (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). Contudo, French *et al.* (1999) afirmaram que mesmo com alta prevalência, a transmissão vertical não é o suficiente para manter endêmica a doença em um rebanho, sendo necessário que haja alguma forma de transmissão horizontal.

Em relação à transmissão venérea através de sêmen contaminado, Canada (2006) realizou um estudo em que inseminou vacas com sêmen contaminado com taquizoítos, comparando com um grupo controle inseminado com sêmen do mesmo touro, porém livre do parasito. Nenhum dos animais apresentou infecção, indicando que a contaminação pelo sêmen é improvável (CANADA, 2006).

Outra fonte de transmissão que não deve ser esquecida é a que ocorre por animais silvestres. Um experimento realizado por Gondim *et al.* (2004), em Illinois, EUA, demonstrou a contaminação de cães pela ingestão de tecidos de cervos naturalmente infectados. Além disso, anticorpos de *N. caninum* foram encontrados em diversos animais, como lobos, coiotes, cervos e alces (GOLDIM *et al.*, 2004), assim como em zebras, gazelas, javalis e ratos, demonstrando

a vasta extensão de contaminação e a existência de um ciclo silvestre do parasito (GONDIM, 2006).

### 3.7.3 Diagnóstico

Primeiramente, um bom diagnóstico é dependente de uma boa necropsia dos fetos abortados, da coleta de tecido cerebral, que mesmo que semilíquido, ainda é útil formolizado para exame histopatológico (DUBEY, 2005), fluidos de pleuropneumonia e soro, para que possam ser analisados juntamente com amostras sanguíneas e a placenta da fêmea (CABRAL *et al.*, 2009). Além disso, dados como idade gestacional, existência de lesões fetais compatíveis e ausência de outro agente etiológico abortivo precisam estar em sintonia para um diagnóstico assertivo (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000).

A partir da necropsia dos fetos é possível identificar em alguns casos: inflamação não supurativa, encefalite multifocal com infiltrado de células inflamatórias mononucleares (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000; CABRAL *et al.*, 2009), miocardite, epicardite, miosite não supurativa focal, hepatite portal não supurativa com focos de necrose e pneumonia intersticial (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000).

O diagnóstico confirmatório é realizado pela IHQ e PCR (JENKINS *et al.*, 2002). A IHQ é um método eficaz na identificação parasitária, pois detecta os dois estágios do parasito possivelmente presentes no hospedeiro (cisto e taquizoíto) (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000). Ainda que autolisado, o cérebro é o órgão de preferência para tal teste (CABRAL *et al.*, 2009), mas amostras de pulmão, rim e músculo esquelético também são eficientes (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000). Embora seja o melhor teste que evidencia o *N. caninum* como agente etiológico dos abortos, a IHQ possui pouca sensibilidade se comparada ao PCR (DUBEY, 2005). Por ser uma técnica diagnóstica mais sensível que as demais, o teste de PCR pode detectar mais resultados positivos, porém dois cenários são possíveis nessa detecção: o feto analisado pode não apresentar nenhum tipo de lesão pois houve morte abrupta, ou era jovem demais para desenvolver qualquer tipo de resposta contra o agente (SÖNDGEN *et al.*, 2001).

A sorologia na Neosporose é mais utilizada para classificar a exposição de rebanho ao parasito e não como método definitivo (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000), pois a positividade materna ou de tecido fetal e feto abortado para *N. caninum* não é suficiente para justificar os abortos, visto que grande parte das infecções congênicas não tem como consequência o aborto (JENKINS *et al.*, 2002). Da mesma forma, a negatividade nos testes não descarta tal possibilidade (JENKINS *et al.*, 2002; DUBEY; SCHARES, 2006). Ou seja, é

possível que a Neosporose seja a causa de abortos de vacas soronegativas visto que a quantidade de anticorpos é variável durante a prenhez (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000).

Diversos testes sorológicos podem ser utilizados e estão disponíveis no mercado. O teste de imunofluorescência indireta (IFI) é muito utilizado em caninos e bovinos, porém possui uma reatividade cruzada com *Toxoplasma gondii* (ATKINSON *et al.*, 2000). Além disto, diferentes variações de ELISA podem ser usadas para a detecção de anticorpos contra *N. caninum*, sendo alguns mais sensíveis e específicos que outros (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999). A utilização destes testes sorológicos é bem responsiva em animais com níveis moderados a altos de anticorpos, contudo, em várias situações podemos encontrar soros com baixos níveis de anticorpos (animais com infecção recente ou cães com infecção subclínica), o que limita o uso apenas de sorologia para o diagnóstico (ATKINSON *et al.*, 2000).

#### 4 COLETA E ENVIO DE AMOSTRAS DE MATERIAIS BIOLÓGICOS

Amostras de placenta, fetos abortados intactos e sangue das fêmeas que sofreram aborto são os materiais ideais para o diagnóstico para as enfermidades descritas acima (ANDERSON, 2007). É importante levar em consideração que a expulsão do feto morto pode ocorrer tardiamente, de forma que o feto já se encontre autolisado, dificultando ainda mais a identificação de um agente etiológico (ANTONIASSI *et al.*, 2007; CABELL, 2007). Além disto, fetos parcialmente digeridos, sujos de lama, fezes, ou degradados devido ao calor ambiental são impróprios para envio (HOLLER, 2012).

Quando não houver a possibilidade de envio do feto íntegro, deve-se enviar cérebro, pulmões, linfonodo bronquial, fígado, rins, baço, conteúdo do abomaso e soro fetal, juntamente com um laudo detalhado de necropsia (PELLEGRIN *et al.*, 2003); uma amostra dos órgãos já citados deve ser armazenada em solução de formol a 10% (DEL FAVA; PITUCO; GENOVEZ, 2007) e outra amostra deve ser mantida em frascos individuais, os quais devem ser mantidos refrigerados, se o tempo de transporte for menor que 24 h, ou congelados, quando o tempo de transporte for superior a 24 h (PELLEGRIN *et al.*, 2003), sendo encaminhados aos setores de destino, como evidenciado na Tabela 1.

Tabela 1. Material biológico de abortamento bovino e recomendações de amostragem e preservação do material

| <b>Resfriado</b> |     | <b>Formolizado</b>  |     |
|------------------|-----|---------------------|-----|
| Pulmão           | BV  | Pulmão              | HP  |
| Rim              | BV  | Rim                 | HP  |
| Fígado           | V   | Fígado              | HP  |
| Baço             | V   | Baço                | HP  |
| Coração          | V   | Coração             | HP  |
| Placenta         | BVM | Placenta            | HP  |
|                  |     | Músculo esquelético | HP  |
|                  |     | Timo                | HP  |
|                  |     | Cérebro             | HP  |
|                  |     | Orelha              | IHQ |

Conteúdo estomacal e intestinal do feto: coletar com seringa e armazenado em tubo com tampa

Fluído torácico/ sangue intracardiaco fetal: coletar com seringa e armazenado em tubo com tampa

Sangue materno para sorologia

Amostra de água e comida

B: bacteriologia; V: virologia; M: micologia; HP: histopatologia; IHC: imunohistoquímica.

Fonte: adaptada de HOLLER (2012).

É importante relatar o comprimento linear do feto, para que se faça uma estimativa de estágio da gestação, e não deixar sinais de vitalidade no momento do parto, como insuflação

pulmonar ou hemorragia dos vasos umbilicais, passarem despercebidas (ANDERSON, 2007). Tais informações são importantes, visto que o aborto requer a expulsão de um feto, antes deste ser viável, para fora do útero (HOLLER, 2012).

O sangue da fêmea que abortou deve ser enviado preferencialmente em dois momentos, um seguido do aborto, e outro 21 a 30 dias após o aborto (PELLEGRIN *et al.*, 2003). A inclusão da placenta com cotilédones presentes nos materiais enviados é de extrema importância, já que dependendo do agente infeccioso, esta se torna o tecido mais afetado (ANDERSON, 2007; HOLLER, 2012). No caso de suspeita de Tricomonose ou Campilobacteriose, é importante, além das amostras já citadas, a coleta de esmegma prepucial e secreções vaginais (MACHI *et al.*, 2016). Assim como estas, alguns materiais diferenciais podem ser incluídos nas amostras enviadas ao laboratório de acordo com a suspeita do médico veterinário, conforme apresentado na Tabela 2. Informações como a taxa de aborto no rebanho, se os abortos são recorrentes em novilhas ou vacas, se há retenção de placenta e histórico de vacinação são alguns dos levantamentos importantes de dados e informações que ajudam a indicar e excluir possíveis fatores etiológicos (ANDERSON, 2007; HOLLER, 2012).

Tabela 2. Amostras biológicas preferenciais e diferenciais, testes diagnósticos em relação a doenças infecciosas causadoras de abortos em distintas fases da gestação de bovinos

| <b>DOENÇA</b>            | <b>FASE DO ABORTO</b> | <b>AMOSTRA DIFERENCIAL</b>         | <b>PRINCIPAIS TESTES</b> |
|--------------------------|-----------------------|------------------------------------|--------------------------|
| <b>BVD</b>               | Até 4º mês            | Leite                              | RT-PCR, cultivo          |
| <b>IBR</b>               | Entre 4º e 8º mês     | <i>Swab</i> genital e mucosa nasal | ELISA, qPCR              |
| <b>Leptospirose</b>      | Entre 1º e 3º mês     |                                    | MAT, ELISA, PCR          |
| <b>Brucelose</b>         | Terço final           | Leite e sêmen                      | AAT, 2-ME                |
| <b>Campilobacteriose</b> | Entre 4º e 8º mês     | Secreção prepucial e vaginal       | PCR, cultivo             |
| <b>Tricomonose</b>       | Entre 1º e 3º mês     | Secreção prepucial e vaginal       | Microscopia, PCR         |
| <b>Neosporose</b>        | Entre 5º e 6º mês     | Tecido cerebral                    | IHQ, PCR                 |

RT-PCR/qPCR: transcriptase reversa (RT), reação em cadeia da polimerase (PCR), PCR quantitativo (qPCR); MAT: teste de aglutinação microscópica; AAT: antígeno acidificado tamponado; 2-ME: 2-mercaptoetanol; IHQ: imunohistoquímica  
Fonte: a própria autora

## 5 CONCLUSÃO

A gama de doenças descritas acima são um problema persistente na produção bovina, visto que são responsáveis tanto por perdas reprodutivas, quanto produtivas, por conseguinte, econômicas. A semelhança entre os sinais clínicos e o estágio gestacional de aborto causado por estas enfermidades torna a realização de um diagnóstico clínico extremamente difícil e desafiador, e é de extrema importância a identificação da doença que acomete determinada propriedade principalmente pela capacidade zoonótica que a Brucelose e Leptospirose possuem, por exemplo.

O médico veterinário passa por dificuldades em termos de recursos diagnósticos, dependendo da localização geográfica onde este atua, pois sem o conhecimento do agente infeccioso causador da doença *per se*, a escolha de tratamento se torna muito mais complexa. Por isso, a percepção das leves diferenças na apresentação de algumas das doenças citadas, juntamente com o conhecimento referente aos testes laboratoriais preferenciais para cada uma, suas especificidades e sensibilidades, faz com que médicos veterinários de campo saibam requisitar exames complementares condizentes com sua suspeita clínica, evitando gastos desnecessários e obtendo laudos assertivos.

## REFERÊNCIAS

- ABUBAKAR, M.; MANSOOR, M.; ARSHED, M. J. Bovine Brucellosis: Old and New Concepts with Pakistan Perspective. **Pakistan Veterinary Journal**, Faisalabad, v. 32, n. 2, p. 147-155, Oct. 2012.
- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira*. In: GYLES, C. L. *et al.* (ed.). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 4th ed., John Wiley & Sons, 2010a. cap. 28, p. 527-547.
- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 140, n. 3-4, p. 287-296, Jan. 2010b.
- AHMED, A. *et al.* Development and validation of a real-time PCR for detection of pathogenic *Leptospira* species in clinical materials. **PLoS One**, [S.l.], v. 4, n. 9, p. e7093, Sep. 2009.
- ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F.; MÉDICI, K. C. Consequências da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 sobre o sistema reprodutivo de bovinos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 19, n. 1, p. 86-93, 1998.
- ALVES, T. M.; STYNEN, A. P. R.; MIRANDA, K. L.; LAGE, A. P. Campilobacteriose genital bovina e tricomonose genital bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 4, p. 336-344, abr. 2011.
- ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60, p. 417-431, July 2000.
- ANDERSON, M. L. Infectious causes of bovine abortion during mid-to late-gestation. **Theriogenology**, Stoneham, v. 68, n. 3, p. 474-486, Aug. 2007.
- ANTONIASSI, N. A. B. *et al.* Diagnóstico das causas infecciosas de aborto em bovinos. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 69-72, jul./dez. 2007.
- ATKINSON, R. *et al.* Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 16, n. 3, p. 110-114, Mar. 2000.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 425-445, Nov. 1995.
- BARTHA, A. Infecções por Hesper-vírus. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**, São Paulo: Roca, 1999. v.1, cap. 17, p. 278-337.
- BEJA-PEREIRA, A. *et al.* DNA genotyping suggests that recent brucellosis outbreaks in the Greater Yellowstone Area originated from elk. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 45, n. 4, p. 1174-1177, Oct. 2009.
- BHARTI, A. R. *et al.* Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.l.], v. 3, n. 12, p. 757-771, Dec. 2003.

- BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 10, p. 1497-1507, Oct. 1999.
- BOLIN, C. A.; ALT, D. P. Clinical signs, diagnosis, and prevention of bovine leptospirosis. **The Bovine Practitioner**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 50-55, Jan. 1999.
- BOMFIM, M. R. Q.; BARBOSA-STANCIOLI, E. F.; KOURY, M. C. Detection of pathogenic leptospires in urine from naturally infected cattle by nested PCR. **The Veterinary Journal**, London, v. 178, n. 2, p. 251-256, Nov. 2008.
- BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual técnico**. Brasília, p. 184-188, 2006.
- BRICKER, B. J.; HALLING, S. M. Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 32, n. 11, p. 2660-2666, Nov. 1994.
- BROWER, A. *et al.* Encephalitis in aborted bovine fetuses associated with Bovine herpesvirus 1 infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 20, n. 3, p. 297-303, May 2008.
- BUCHANAN, THOMAS M.; FABER, L. C. 2-mercaptoethanol Brucella agglutination test: usefulness for predicting recovery from brucellosis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 11, n. 6, p. 691-693, June 1980.
- CABELL, E. Bovine abortion: aetiology and investigations. **In Practice**, London, v. 29, n. 8, p. 455-463, Sep. 2007.
- CABRAL, A. D. *et al.* Diagnosis of *Neospora caninum* in bovine fetuses by histology, immunohistochemistry, and nested-PCR. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 14-19, Dec. 2009.
- CADMUS, S. I. B.; ADESOKAN, H. K.; STACK, J. The use of the milk ring test and rose bengal test in brucellosis control and eradication in Nigeria. **Journal of the South African Veterinary Association**, [S.l.], v. 79, n. 3, p. 113-115, July 2008.
- CAMPERO, C. M. *et al.* Immunohistochemical identification of *Campylobacter fetus* in natural cases of bovine and ovine abortions. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, Berlin, v. 52, n. 3, p. 138-141, May 2005.
- CANADA, N. *et al.* Artificial insemination of cows with semen in vitro contaminated with *Neospora caninum* tachyzoites failed to induce neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 139, n. 1-3, p. 109-114, June 2006.
- CARVALHO NETA, A. V. *et al.* Pathogenesis of bovine brucellosis. **The Veterinary Journal**, London, v. 184, n. 2, p. 146-155, May 2010.

CAVALCANTE, F. A. *et al.* Teste do Anel em Leite (TAL) na detecção de brucelose no leite cru entregue a laticínios no Acre. *In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO*, 10., 2015, Rio Branco. **Anais**, Rio Branco: Ifac; Conif, 2015, p. 1-5.

CHABAN, B. *et al.* Isolation rates of *Campylobacter fetus* subsp *venerealis* from bovine preputial samples via passive filtration on nonselective medium versus selective medium, with and without transport medium. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 74, n. 8, p. 1066-1069, Aug. 2013.

CHO, D. *et al.* Quantitative rose Bengal test for diagnosis of bovine brucellosis. **Journal of Immunoassay and Immunochemistry**, Montecello, v. 31, n. 2, p. 120-130, Mar. 2010.

COBO, E. R. *et al.* Sensitivity and specificity of culture and PCR of smegma samples of bulls experimentally infected with *Tritrichomonas foetus*. **Theriogenology**, Stoneham, v. 68, n. 6, p. 853-860, Oct. 2007.

COLLANTES-FERNÁNDEZ, E. *et al.* Influence of the stage of pregnancy on *Neospora caninum* distribution, parasite loads and lesions in aborted bovine fetuses. **Theriogenology**, Stoneham, v. 65, n. 3, p. 629-641, Feb. 2006.

CORBEL, M. J. Brucellosis: an overview. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 3, n. 2, p. 213, Apr./June 1997.

CORBEIL, L. B. *et al.* Uterine mast cells and immunoglobulin-E antibody responses during clearance of *Tritrichomonas foetus*. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 42, n. 3, p. 282-290, May 2005.

COWLEY, D. J. B. *et al.* Aspects of bovine herpesvirus-1 infection in dairy and beef herds in the Republic of Ireland. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 53, n. 1, p. 40, June 2011.

DALY, R. Control of infectious reproductive disease: the role of biosecurity. **Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle Proceedings September**, [S.l.] v. 11, p. 197-208, 2007.

DAVISON, H. C.; OTTER, A.; TREES, A. J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 10, p. 1683-1689, Oct. 1999.

DE VRIES, A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 10, p. 3876-3885, Oct. 2006.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; GENOVEZ, M. E. Diagnóstico diferencial de doenças da reprodução em bovinos: experiência do Instituto Biológico. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 73-79, jul./dez. 2007.

DIAS, J. A. *et al.* Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, p. 66-76, nov. 2009.

DIAS FILHO, M. B. **Produção de bovinos a pasto na fronteira agrícola**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, ago. 2010. 34 p. (Documentos, 368). Disponível em: <file:///C:/Users/Ana%20Vera/Downloads/Doc368.pdf>. Acesso em: 4 nov. 2020.

DIJKSTRA, T. *et al.* Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 31, n. 8, p. 747-752, June 2001.

DUBEY, J. P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of bovine neosporosis. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 134, n. 4, p. 267-289, May 2006.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 21, n. 2, p. 473-483, July 2005.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 140, n. 1-2, p. 1-34, Aug. 2006.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 20, n. 2, p. 323-367, Apr. 2007.

EDMONDSON, Misty A. *et al.* Comparison of tests for detection of bovine viral diarrhea virus in diagnostic samples. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 19, n. 4, p. 376-381, July 2007.

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 10, n. 3, p. 463-478, Nov. 1994.

FALENSKI, A. *et al.* Survival of *Brucella* spp. in mineral water, milk and yogurt. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 326-330, Jan. 2011.

FÁVERO, J. F. *et al.* Bovine leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their cause-effect relation. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 107, p. 149-154, June 2017.

FINO, T. C. M. *et al.* Infecções por herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e suas implicações na reprodução bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 36, n. 2, p. 122-127, abr./jun. 2012.

FLORES, E. F. *et al.* A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 125-134, jul./set. 2005.

FRENCH, N. P. *et al.* Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 10, p. 1691-1704, Oct. 1999.

FULTON, R. W. *et al.* Prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in persistently infected cattle and BVDV subtypes in affected cattle in beef herds in south central United States. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 73, n. 4, p. 283, Oct. 2009.

FULTON, R. W. *et al.* Challenge with Bovine viral diarrhoea virus by exposure to persistently infected calves: protection by vaccination and negative results of antigen testing in nonvaccinated acutely infected calves. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 70, n. 2, p. 121, Apr. 2006.

GARD, J. A.; GIVENS, M. D.; STRINGFELLOW, D. A. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV): epidemiologic concerns relative to semen and embryos. **Theriogenology**, Stoneham, v. 68, n. 3, p. 434-442, Aug. 2007.

GEORGIEVA, D. A.; PRELEZOV, P. N.; KOINARSKI, V. T. S. Neospora caninum and neosporosis in animals. A review. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, Stara Zagora, v. 9, n. 1, p. 1-26, 2006.

GIVENS, M. D. A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in beef cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 66, n. 3, p. 648-654, Aug. 2006.

GODFROID, J. *et al.* How to substantiate eradication of bovine brucellosis when aspecific serological reactions occur in the course of brucellosis testing. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 90, n. 1-4, p. 461-477, Dec. 2002.

GODFROID, J.; NIELSEN, K.; SAEGERMAN, C. Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. **Croatian Medical Journal**, Zagreb, v. 51, n. 4, p. 296-305, Aug. 2010.

GONDIM, L. F. P. *Neospora caninum* in wildlife. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 22, n. 6, p. 247-252, June 2006.

GONDIM, L. F. P. *et al.* Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. **Journal of Parasitology**, Oxford, v. 90, n. 6, p. 1361-1365, Dec. 2004.

GROFF, A. *et al.* Polymerase chain reaction for the diagnosis of bovine genital campylobacteriosis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 12, p. 1031-1035, Dec. 2010.

GROOMS, D. L. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 20, n. 1, p. 5, Mar. 2004.

GUAGNINI, F. S. Manejo reprodutivo em rebanhos leiteiros: custo ou investimento? *In*: SIMPÓSIO NACIONAL DA VACA LEITEIRA, 4., 2017, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias e Núcleo Ruminção, p. 248, 2017.

GUL, S. T. *et al.* Epidemiology and epizootology of brucellosis: A review. **Pakistan Veterinary Journal**, Faisalabad, v. 27, n. 3, p. 145, 2007.

HAAS, D. J. *et al.* Trichomoniasis in cattle. **Veterinária em Foco**, Canoas, v. 15, n. 2, p. 54-63, 2018.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, P. *et al.* A comparison between polymerase chain reaction (PCR) and traditional techniques for the diagnosis of leptospirosis in bovines. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 84, n. 1, p. 1-7, Jan. 2011.

HOLLER, L. D. Ruminant abortion diagnostics. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 28, n. 3, p. 407-418, Nov. 2012.

HORSCH, F. Leptospirose. *In*: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**, São Paulo: Roca, 1999. v.2, cap. 53, p. 305-324.

HOUE, H. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 521-547, Nov. 1995.

HUM, S., QUINN, C., KENNEDY, D. Diagnosis of bovine venereal campylobacteriosis by ELISA. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 71, n. 5, p. 140-143, May 1994.

JENKINS, M. *et al.* Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 32, n. 5, p. 631-636, May 2002.

JIMENEZ, D. F. *et al.* Factors associated with infection by *Campylobacter fetus* in beef herds in the Province of Buenos Aires, Argentina. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 101, n. 3-4, p. 157-162, Sep. 2011.

JUNQUEIRA, J. R. C.; ALFIERI, A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 289-298, abr./jun., 2006.

JUNQUEIRA JUNIOR, D. G. *et al.* Diagnosis of bovine brucellosis in bulls by seroagglutination and seminal plasma agglutination tests. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 5, p. 3203-3209, 2015.

LANDER, K. P. The application of a transport and enrichment medium to the diagnosis of *Campylobacter fetus* infections in bulls. **British Veterinary Journal**, London, v. 146, n. 4, p. 334-340, July/Aug. 1990.

LANYON, S. R. *et al.* Bovine viral diarrhoea: pathogenesis and diagnosis. **The Veterinary Journal**, London, v. 199, n. 2, p. 201-209, Feb. 2014.

LEAL, D. R. Estudo da campilobacteriose e tricomonose genitais bovina no Distrito Federal e Goiás. 2012, 90 f., Dissertação (Mestrado em Ciências Animais), Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

LEFEBVRE, R. B. Microrganismos Espirais e Curvos V / Leptospira. *In*: MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. (ed.). **Microbiologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016, cap. 25, p. 184-187.

LILENBAUM, W.; MARTINS, G. Leptospirosis in cattle: a challenging scenario for the understanding of the epidemiology. **Transboundary and Emerging Diseases**, [S.l.], v. 61, p. 63-68, Aug. 2014.

- LOPES, M. A.; CARDOSO, M. G.; DEMEU, F. A. Influência de diferentes índices zootécnicos na composição e evolução de rebanhos bovinos leiteiros. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 10, n. 2, p. 446-453, jul. 2009.
- LOPES, L. M. S. *et al.* Um novo meio de transporte e cultivo para *Tritrichomonas foetus* (Riedrnüller, 1928). I: Dias de viabilidade dos parasitos. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 16, n. 2, p. 260-263, jun. 1995.
- LOUREIRO, A. P.; LILENBAUM, W. Genital bovine leptospirosis: A new look for an old disease. **Theriogenology**, Stoneham, v. 141, p. 41-47, Jan. 2020.
- MAHAJAN, V. *et al.* Comparison of diagnostic tests for diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 149, n. 4, p. 391-401, Nov. 2013.
- MALEY, S. W. *et al.* The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: inoculation at mid-gestation. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 129, n. 2-3, p. 186-195, Aug-Oct. 2003.
- MCMILLEN, L. *et al.* Comparison of culture and a novel 5' Taq nuclease assay for direct detection of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* in clinical specimens from cattle. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 44, n. 3, p. 938-945, Mar. 2006.
- MEGID, J. *et al.* Avaliação das provas de soroaglutinação rápida, soroaglutinação lenta, antígeno acidificado e 2-mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose bovina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 5, p. 395-399, Jan. 2000.
- MICHI, A. N. *et al.* A review of sexually transmitted bovine trichomoniasis and campylobacteriosis affecting cattle reproductive health. **Theriogenology**, Stoneham, v. 85, n. 5, p. 781-791, Mar. 2016.
- MOHAMAND, N. *et al.* Milk Ring Test for spot identification of *Brucella abortus* infection in single cow herds. **Journal of Advanced Veterinary and Animal Research**, [S.l.], v. 1, n. 2, p. 70-72, June 2014.
- MOHAMMED, H. *et al.* Leptospira: morphology, classification and pathogenesis. **Journal of Bacteriology and Parasitology**, [S.l.], v. 2, n. 06, 2011.
- MONKE, H. J. *et al.* Effect of transport enrichment medium, transport time, and growth medium on the detection of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 14, n. 1, p. 35-39, Jan. 2002.
- MSHELIA, G. D. *et al.* Epidemiology of bovine venereal campylobacteriosis: geographic distribution and recent advances in molecular diagnostic techniques. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 45, n. 5, p. e221-e230, Nov. 2010.

MUKHUFHI, N. *et al.* Evaluation of a PCR test for the diagnosis of *Tritrichomonas foetus* infection in bulls: effects of sample collection method, storage and transport medium on the test. **Theriogenology**, Stoneham, v. 60, n. 7, p. 1269-1278, Oct. 2003.

MUYLKENS, B. *et al.* Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 38, n. 2, p. 181-209, Mar./Apr. 2007.

MWACHUI, M. A. *et al.* Environmental and behavioural determinants of leptospirosis transmission: a systematic review. **Plos Neglected Tropical Disease**, [S.l.], v. 9, n. 9, p. e0003843, Sep. 2015.

NANDI, S. *et al.* Bovine herpes virus infections in cattle. **Animal Health Research Reviews**, Cambridge, v. 10, n. 1, p. 85, May 2009.

NEWCOMER, B. W.; GIVENS, D. Diagnosis and control of viral diseases of reproductive importance: infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhoea. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 32, n. 2, p. 425-441, July 2016.

NIELSEN, K. Diagnosis of brucellosis by serology. **Veterinary microbiology**, Amsterdam, v. 90, n. 1-4, p. 447-459, Dec. 2002.

NIETFELD, J. C. Microrganismos Espirais e Curvos III / Campylobacter e Arcobacter. *In*: MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. (ed.). **Microbiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016, cap. 23, p. 171-179.

OLIVEIRA, A. P. *et al.* Bovine herpesvirus type 1 in cumulus-oocyte complexes collected from naturally infected cows. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 676-679, May 2016.

OLSEN, S. C. *et al.* *Brucella*. *In*: GYLES, C. L. *et al.* (ed.). **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 4th ed., John Wiley & Sons, 2010. cap. 22, p. 429-442.

OLSEN, S.; BELLAIRE, B. *Brucella*. *In*: MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. (ed.). **Microbiologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. cap. 15, p. 131- 138.

OTAKA, D. Y. *et al.* Serology and PCR for bovine leptospirosis: herd and individual approaches. **Veterinary Record**, London, v. 170, n. 13, p. 338-338, Mar. 2012.

PALMQUIST, O. K. Contribuição ao conhecimento da incidência da brucelose no Estado do Paraná (Brasil). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, p. 307-309, Dec. 2001.

PASSLER, T. *et al.* Experimental persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in white-tailed deer. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 122, n. 3-4, p. 350-356, June 2007.

PAULIN, L. M. S.; FERREIRA NETO, J. S. Brucelose em búfalos. **Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 389-401, 2008.

PELLEGRIN, A. O. **A campilobacteriose e tricomonose são doenças reemergentes?**. Corumbá: Embrapa Pantanal, dez. 2002. 27 p. (Documentos, 41). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/810729/1/DOC41.pdf>. Acesso em: 4 nov. 2020.

PELLEGRIN, A. O. *et al.* Bovine genital campylobacteriosis in Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux**, Paris, v. 55, n. 3, p. 169-173, 2002.

PELLEGRIN, A. O. *et al.* **Coleta de material para diagnóstico das doenças infecciosas que interferem com a reprodução de bovinos**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 3 p. (Circular Técnica, 45). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/811093/1/CT45.pdf>. Acesso em: 4 nov. 2020.

PELLEGRIN, A. O.; LEITE, R. C. **Atualização sobre tricomonose genital bovina**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 22 p. (Documentos, 54). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/811109/1/DOC54.pdf>. Acesso em: 4 nov. 2020.

PENA BELLO, C. A. The role of the CD46 receptor in the pathogenicity of the bovine viral diarrhoea virus infection in bovine cultured cells. 2019, 69 f., Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

PINTO, M. R. A. *et al.* Avaliação da prova do antígeno acidificado tamponado, em comparação com as provas de fixação de complemento e 2-mercaptoetanol, para diagnóstico sorológico da brucelose em um rebanho bubalino (*Bubalus bubalis*) infectado por *Brucella abortus*. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 21, p. 147-154, 2005.

POESTER, F. P. *et al.* Diagnosis of brucellosis. **The Open Veterinary Science Journal**, [S.l.], v. 4, n. 1, Nov. 2010.

PRITCHARD, G. Milk antibody testing in cattle. **In Practice**, London, v. 23, n. 9, p. 542-549, Oct. 2001.

PRIYANKA, B. N. S.; KASHYAP, S. K. Bovine brucellosis: A review on background information and perspective. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 607-613, 2019.

RADOSTITS, O. M.; LITTLEJOHNS, I. R. New concepts in the pathogenesis, diagnosis and control of diseases caused by the bovine viral diarrhoea virus. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 29, n. 6, p. 513-528, June 1988.

RAE, D. O.; CREWS, J. E. *Tritrichomonas foetus*. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 22, n. 3, p. 595-611, Nov. 2006.

RIDPATH, J. F. Bovine viral diarrhoea virus: global status. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 26, n. 1, p. 105-121, Mar. 2010.

RICHTER, V. *et al.* A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. **The Veterinary Journal**, London, v. 220, p. 80–87, Feb. 2017.

RIVERA, H. Causas frecuentes de aborto bovino. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, Lima, v. 12, n. 2, p. 117-122, jul./dic. 2001.

SALIKI, J. T.; DUBOVI, E. J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. **The Veterinary Clinics of North America: Food animal practice**, Philadelphia, v. 20, n. 1, p. 69-83, Feb. 2004.

SAMARTINO, L. E.; ENRIGHT, F. M. Pathogenesis of abortion of bovine brucellosis. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 16, n. 2, p. 95-101, Apr. 1993.

SANTOS, R. L. *et al.* Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 6, p. 759-764, June 2013.

SELEEM, M. N.; BOYLE, S. M.; SRIRANGANATHAN, N. Brucellosis: a re-emerging zoonosis. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 140, n. 3-4, p. 392-398, Jan. 2010.

SILVA JUNIOR, F. F. *et al.* Avaliação do teste do anel em leite na vigilância epidemiológica da brucelose bovina em rebanhos e em laticínios. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 2, p. 295-300, Apr. 2007.

SMITH, D. B. *et al.* Proposed revision to the taxonomy of the genus *Pestivirus*, family Flaviviridae. **Journal of General Virology**, London, v. 98, n. 8, p. 2106, Aug. 2017.

SMITH, K. C. Herpesviral abortion in domestic animals. **The Veterinary Journal**, London, v. 153, n. 3, p. 253-268, May 1997.

SPÓSITO FILHA, E.; OLIVEIRA, S. M. DIVULGAÇÃO TÉCNICA TRICOMONOSE BOVINA. **Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 1, p. 9-11, jan./jun. 2009.

SÖNDGEN, P. *et al.* Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 102, n. 4, p. 279-290, Dec. 2001.

TACHEZY, J. *et al.* Cattle pathogen *Trichostrongylus axei* (Riedmüller, 1928) and pig commensal *Trichostrongylus suis* (Gruby & Delafond, 1843) belong to the same species. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, Lawrence, v. 49, n. 2, p. 154-163, Jan. 2002.

TAYLOR, M. A.; MARSHALL, R. N.; STACK, M. Morphological differentiation of *Trichostrongylus axei* from other protozoa of the bovine reproductive tract. **British Veterinary Journal**, London, v. 150, n. 1, p. 73-80, Jan./Feb. 1994.

TEIXEIRA NETO, J. F.; COSTA, N. A.; LOURENÇO JUNIOR, J. B. Análise retrospectiva, situação atual e visão prospectiva. In: TEIXEIRA NETO, J. F.; COSTA, N. A. (ed.). **Criação de bovinos de corte no estado do Pará**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006, p. 11-26.

TRUYERS, I. *et al.* Diagnosis and management of venereal campylobacteriosis in beef cattle. **BMC Veterinary Research**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 280, Nov. 2014.

UGGLA, A. *et al.* Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 28, n. 9, p. 1467-1472, Sep. 1998.

VAN OIRSCHOT, J. T. Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. **Veterinary Quarterly**, The Hague, v. 17, n. 1, p. 29-33, 1995.

VANROOSE, G.; KRUIF, A.; VAN SOOM, A. Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60-61, p. 131-143, July 2000.

VIU, M. A. D. O. *et al.* Rinotraqueíte infecciosa bovina: revisão. **Pubvet**, Londrina, v. 8, p. 0340-0443, fev. 2014.

WANG, J. *et al.* Validation of a real-time PCR assay for the detection of bovine herpesvirus 1 in bovine semen. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 144, n. 1-2, p. 103-108, Sep. 2007.

WILLOUGHBY, K. *et al.* A multiplex polymerase chain reaction to detect and differentiate *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* and *Campylobacter fetus*-species *venerealis*: use on UK isolates of *C. fetus* and other *Campylobacter* spp. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 99, n. 4, p. 758-766, July 2005.

WITTMANN, W.; LIEBERMANN, H. Infecções por Togavírus. *In*: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**, São Paulo: Roca, 1999. v. 1, cap. 7, p. 80-114.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis. *In*: WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2018**. Paris: OIE, 2020a. cap. 3.4.11, p. 1139-1157. Disponível em: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.04.11\\_IBR\\_IPV.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.11_IBR_IPV.pdf) Acesso em: 16 out. 2020.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Brucellosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis*, and *B. suis*) (infection with *B. abortus*, *B. melitensis* and *B. suis*) *In*: WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2018**. Paris: OIE, 2020b. cap. 3.1.4, p. 355-398. Disponível em: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.04\\_BRUCELLOSIS.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELLOSIS.pdf) Acesso em: 16 out. 2020.

YAO, C. Diagnosis of *Tritrichomonas foetus*-infected bulls, an ultimate approach to eradicate bovine trichomoniasis in US cattle?. **Journal of Medical Microbiology**, Edinburgh, v. 62, n. 1, p. 1-9, Jan. 2013.