

116

Circular
TécnicaJuiz de Fora, MG
Outubro, 2017

Autores

Guilherme Nunes de Souza
Médico Veterinário, D.Sc.,
Pesquisador da Embrapa Gado de
Leite, Juiz de Fora, MG

**Antônio Cândido de Cerqueira
Leite Ribeiro**
Médico Veterinário, D.Sc.,
Analista da Embrapa Gado de
Leite, Juiz de Fora, MG

Bruna Rios Coelho Alves
Médica Veterinária, Ph.D
Analista da Embrapa Gado de
Leite, Juiz de Fora, MG

Francielly Castro de Ávila
Médica Veterinária
Autônoma, Cruz Alta, RS

**Juliana França Monteiro de
Mendonça**
Médica Veterinária, M.Sc.
Doutoranda em Medicina
Veterinária/Universidade Federal
Fluminense, Niterói, RJ

**Lígia Margareth Cantarelli
Pegoraro**
Médica Veterinária, D. Sc.
Pesquisadora da Embrapa Clima
Temperado, Pelotas, RS

Walter Lilenbaum
Médico Veterinário, Ph.D
Professor da Universidade Federal
Fluminense, Niterói, RJ

Coleta, armazenamento e envio de amostras de material de aborto para diagnóstico de doenças infecciosas em bovinos

Introdução

Os principais problemas reprodutivos observados em bovinos estão associados à repetição de cio, abortamentos, mumificação fetal, nascimento de bezerros fracos e/ou com malformações, descarte prematuro de reprodutores entre outros fatores. Sabe-se que a etiologia das doenças da reprodução é multifatorial, podendo ser a causa uma doença infecciosa ou não infecciosa. Desta forma, o diagnóstico diferencial para a identificação de possíveis agentes infecciosos causadores de abortamentos deve ser realizado em amostras de tecidos fetais com objetivo de identificar o real problema e, consequentemente, melhorar os índices reprodutivos do rebanho.

Aspectos importantes devem ser considerados no diagnóstico, tais como o histórico do animal/rebanho, idade, condição fisiológica da vaca (seca ou lactante), histórico reprodutivo (eventuais falhas reprodutivas como abortos, fetos mumificados e/ou repetição de cio), manejos nutricional e sanitário, e mudanças no manejo de rotina como introdução de animais externos sem controle sanitário. Índices de ocorrência de abortos no rebanho de até 1% indicam normalidade, 2 a 3% são considerados como um alerta e maiores que 3% indicam problema infeccioso, ambiental ou de manejo (STRAUFUSS, 1988).

Entretanto, o sucesso no diagnóstico da causa do aborto depende de alguns fatores como a coleta, o armazenamento e o transporte adequado de amostras (fetos abortados, tecidos fetais e/ou placenta), a realização adequada da necropsia, assim como a correta execução de exames laboratoriais (histopatológicos, microbiológicos, imuno-histoquímicos, sorológicos e micológicos) (FERNANDES, 2001).

Entre as doenças infecciosas causadoras de abortamento em bovinos, as mais comumente identificadas são brucelose, leptospirose, campilobacteriose, micoplasmose, diarreia viral bovina (BVD), rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e neosporose. Entretanto, outras doenças infecciosas como listeriose (*Listeria monocytogenes*), língua azul (Vírus da Língua Azul), mastite causada por coliformes (endotoxina) e micoses (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor*), e tristeza parasitária também podem causar abortamentos em bovinos. Ressalta-se que cada agente etiológico tem um momento específico durante o período de gestação para gerar o processo fisiopatológico e, consequentemente, causar o abortamento (Tabela 1). Desta forma, identificar o período de gestação, em função da data da cobertura natural ou inseminação artificial da fêmea ou pelo tamanho do feto abortado, é importante para auxiliar no diagnóstico laboratorial. O objetivo desta Circular Técnica é apresentar as informações necessárias sobre o material a ser utilizado na coleta, tipo de amostra que deve ser coletada, forma de coleta, armazenamento e transporte dessas amostras para laboratórios de diagnóstico.

Tabela 1. Agente infeccioso, período de gestação em que usualmente ocorre o abortamento em bovinos e forma de transmissão de acordo com agentes infecciosos.

Agente	Período de gestação	Forma de transmissão	Observações
<i>Leptospira</i> spp.	Qualquer período de gestação	Água/alimentos contaminados por urina de animais	Zoonose. Eficácia das vacinas atualmente disponíveis é limitada
<i>Brucella abortus</i>	Terço final da gestação	Eliminada através de fluidos e restos fetais, sendo a via oral nasal a principal forma de infecção	Zoonose (Existe vacina disponível no mercado)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Dois últimos terços de gestação	Silagem de má qualidade ou estragada	Pode apresentar sinais neurológicos e reprodutivos
<i>Ureaplasma diversum</i> e <i>Mycoplasma bovis</i>	Qualquer período de gestação	Animais infectados (especialmente touros)	Pode ser encontrada no trato reprodutivo de vacas saudáveis, e causar abortamento em rebanhos previamente não infectados
Vírus da diarreia viral bovina (BVDV)	Primeiro ou segundo terço de gestação	Bezerros podem tornar-se cronicamente infectados antes do nascimento (persistentemente infectados, PI)	Existe vacina disponível no mercado
Vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR)	Dois últimos terços de gestação	Animais infectados (contato direto entre animais ou por formação de aerossóis)	Além do abortamento, a doença apresenta manifestações respiratórias (pneumonias). Existe vacina disponível no mercado
<i>Neospora caninum</i>	Aborto pode ocorrer do 3º ao último mês, sendo mais comum 4º ao 6º mês	Canídeos selvagens e domésticos têm um importante papel na transmissão da doença	Não há vacina disponível
<i>Trichomonas foetus</i> e <i>Campylobacter fetus</i>	Primeiros 5 meses de gestação	Touros infectados são a principal fonte de infecção (especialmente os mais velhos). Vacas infectadas podem infectar touros saudáveis. Equipamentos de inseminação artificial também podem transmitir a campilobacteriose	Rebanhos que realizam inseminação artificial e não usam touros geralmente não apresentam problemas por estes patógenos.

Exame do feto e da placenta

A conduta inicial em casos de abortamentos é a realização de um exame criterioso com objetivo de avaliar e identificar possíveis alterações macroscópicas que possam dar suporte ao diagnóstico de doenças infecciosas. Como exemplo, casos de abortamento por fungos do gênero *Aspergillus* provocam áreas circulares multifocais branco-acinzentadas na pele do feto bovino

abortado, principalmente na região da cabeça e dorso, assim como espessamento dos cotilédones placentários. Antes de iniciar o procedimento de necropsia, os fetos devem ser medidos da nuca até a inserção da cauda (BARR et al., 1990), pois existem agentes infecciosos específicos que promovem o retardo de crescimento fetal. Qualquer alteração macroscópica indicativa de anomalia fetal deve ser registrada.

A avaliação da placenta é de fundamental importância no diagnóstico das causas de abortamento, pois em alguns casos ela é o único órgão a apresentar alterações. A placenta é um órgão grande, portanto, muitas vezes as alterações podem não estar presentes em toda a sua extensão. Por isso, é necessário fazer uma avaliação cuidadosa, principalmente das partes que ficam retidas, pois nestas as alterações estão mais comumente presentes. A placenta retida é geralmente a porção com menor contaminação por agentes ambientais, sendo, portanto, ideal para a coleta (FERNANDES, 2001). Na placenta normal, os cotilédones são vermelhos (mais fresca) e amarronzados e o tecido entre os cotilédones é translúcido, se tornando mais opaco com o tempo. Placentas muito opacas podem ser indício de edema, inflamação ou fibrose. Sinais de inflamação na placenta incluem espessamento, exsudação e cotilédones mais profundos que o tecido placentário ao redor. Outras alterações incluem aderências, hemorragias e necrose (ANDERSON, 2007).

Relação entre idade e tamanho do feto

O conhecimento da relação entre o tamanho do feto e o período de gestação (Tabela 2) pode auxiliar no diagnóstico da causa do abortamento. Recomenda-se que todos os fetos com até 2 kg sejam encaminhados ao laboratório para diagnóstico, como no caso dos exemplos da Figura 1.



Figura 1. Exemplos de fetos abortados com menos de 2 kg que devem encaminhados ao laboratório para diagnóstico de doenças infecciosas. Fonte: Embrapa Gado de Leite.

Tabela 2. Estimativa do tamanho do feto bovino em diferentes períodos da gestação. O tamanho do feto é calculado pela medida da distância entre a nuca e a inserção da cauda.

Período de gestação (meses)	Tamanho do feto bovino (cm)	Figura
1	0,71 a 1,23	
2	1,90 a 3,76	
3	13 a 21	
4	21 a 31	
5	32 a 43	
6	44 a 57	
7	59 a 67	
8	68 a 85	
9	Maior que 85	

Fontes: Antoniassi et al. (2007); Assis Neto et al. (2009) e Sornas et al. (2014).

Coleta de amostras de abortamentos de bovinos de acordo com o peso do feto e o tipo de amostra (feto e placenta)

Deve-se adotar procedimentos sistemáticos para a coleta de amostras de abortamentos para diagnóstico laboratorial, já que a causa do abortamento, muitas vezes, pode ser multifatorial. Na maioria dos casos alterações macroscópicas não são observadas, podendo, inclusive, ocorrer autólise fetal, fator que dificulta o diagnóstico (ANTONIASSI et al., 2007).

Preferencialmente todo o feto e a placenta devem ser coletados e armazenados em sacos limpos para, então, serem refrigerados o mais rápido possível. Em algumas situações a coleta de amostras pareadas de sangue podem auxiliar o diagnóstico no caso de infecções ativas na vaca, como na leptospirose ou na BVD (HOVINGH, 2009).

Há maior possibilidade de se diagnosticar a causa de um abortamento se todas as possíveis amostras forem coletadas, armazenadas e enviadas ao laboratório da maneira correta (em caso de dúvida, consulte um Médico Veterinário). Na Tabela 3, estão listadas as amostras que devem ser coletadas, bem como as informações de acondicionamento e envio das mesmas.

Tabela 3. Informações necessárias para coleta de amostras de abortamentos de bovinos de acordo com o peso do feto e tipo de amostra (feto e placenta).

Informação necessária	Fetos com até 2 kg	Feto e natimorto com mais de 2 kg	Placenta
Amostra a ser coletada	Feto inteiro	Realizar a necropsia do feto abortado e coletar os fragmentos dos órgãos com pinça e tesoura esterilizada. Escolher parte do órgão com lesão. Se não houver lesão, coletar aleatoriamente fragmentos de tecidos do fígado, pulmão, baço, sistema nervoso central, coração, rim, timo e fluidos corporais (líquido toracoabdominal ou pericárdico e conteúdo gástrico). Os fragmentos de tecidos devem ter cerca de 20 gramas (tamanho de 3x3x1 cm). O volume de 3 mL de cada fluido corporal.	A área de transição do tecido reprodutivo com e sem lesão deve ser selecionada para a coleta de material. No caso dos bovinos, coletar sempre de 5 a 10 carúnculas (20 gramas). Fragmentos de tecido 3x3x1 cm.
Acondicionamento	Saco plástico (mínimo de 3 sacos por feto)	As amostras de órgãos são armazenadas em saco plástico e/ou coletor universal esterilizado. Coletar os fluidos corporais com seringa e agulha esterilizada. Fragmentos de tecidos em solução de formol 10%.	Saco plástico ou coletor universal. Frascos podem ser usados de acordo com o tamanho da amostra de tecido coletada.
Temperatura de armazenamento		Refrigeração (+2°C a +8°C). Nunca congelar.	
Tempo para chegada ao laboratório		48 horas	
O que procurar	Anticorpos (proteínas). Microrganismos (bactérias, vírus, fungo, parasitos). Lesão macro e/ou microscópica nos órgãos (exame histopatológico).		Microrganismos (bactérias, vírus, fungo, parasitos). Lesão macro e/ou microscópica nos órgãos (exame histopatológico).
Observação	A coleta de amostras de diferentes órgãos para os exames é realizada no laboratório.	Enviar para o laboratório ao mesmo tempo as amostras refrigeradas e os fragmentos em solução de formol 10%.	

Material para coleta de amostras fetal para diagnóstico de doenças infecciosas

Os materiais necessários para a coleta de material para diagnóstico de doenças infecciosas são: luvas de manipulação, sistema para coleta de sangue a vácuo (agulha, tubos a vácuo e canhão), microtubos

para armazenamento do soro, agulha e seringa esterilizadas, *swab* estéril, meios para transporte de secreções (BHI, A3XB, *Eagle* e *Lactopep*), saco plástico, coletor universal estéril, facas de necropsia específicas, tubo com tampa rosqueada, papel toalha e gaze (Figura 2).

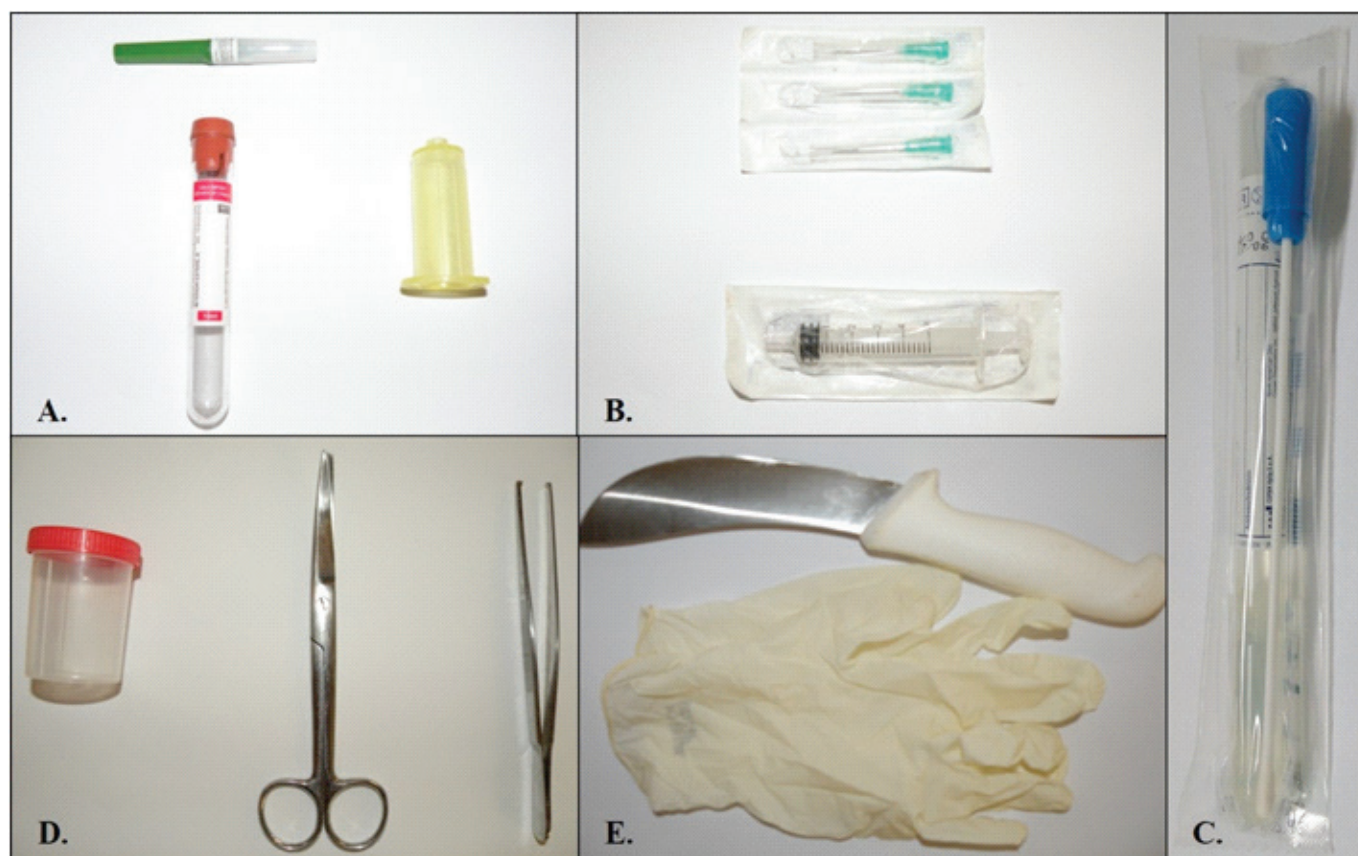


Figura 2. Materiais necessários à coleta de material de aborto para diagnóstico laboratorial. A. agulha, tubo a vácuo e canhão para coleta de sangue; B. agulha (13 x 0,38 mm) e seringa (3 mL) esterilizadas; C. *swab* estéril em tubo com meio de cultura; D. frasco universal esterilizado, tesoura sem ponta e pinça dente de rato; E. faca de necropsia e luva de látex.

Fotos: Guilherme Souza/Embrapa Gado de Leite.

Conclusão

O diagnóstico das doenças reprodutivas que causam abortamentos é de suma importância em um rebanho já que muitas dessas doenças são infecciosas (podem afetar outros animais do rebanho) e também zoonóticas (podendo afetar seres humanos). Para o sucesso do diagnóstico, a coleta e o envio de materiais para o laboratório devem ser realizados de maneira correta para que o material a ser analisado se mantenha preservado e sem contaminação.

Referências

- ANDERSON, K. L. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology*, v. 68, p. 474-486, 2007.
- ANTONIASSI, N. A. B.; SANTOS, A. S.; OLIVEIRA, E. C.; PESCADOR, C. A.; DRIEMEIER, D. Diagnóstico das causas infecciosas de abortos em bovinos. *Biológico*, v. 69, n. 2, p. 69-72, 2007.
- ASSIS NETO, A. C.; MORCELI, J. A. B.; FONSECA, R.; AMBRÓSIO, C. E.; PEREIRA, F. T. V.; MIGLINO,

M. A. Evolução morfométrica dos anexos embrionários e fetais bovinos obtidos a partir de monta natural com 10 a 70 dias da gestação.

Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 29, n. 10, p. 859-862, 2009.

BARR, C. B.; ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; DAFT, B. M.; KINDE, H.; CONRAD, P. A. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. **Veterinary Pathology**, v. 27, p. 354-361, 1990.

FERNANDES, C. G. Doenças da Reprodução. Abortos em bovinos. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. C.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 2. ed. São Paulo: Ed. Varela, 2001. p. 349-361.

HOVINGH, E. **Abortions in dairy cattle II**: - Diagnosing and preventing abortion problems. Virginia Cooperative Extension, 2009.

SORNAS, A. S.; JÚNIOR, P. R.; MOIZES, F. A. F. Impacto do abate de vacas prenhes sob parâmetros de carcaça e sua influência no resultado econômico. **Archives of Veterinary Science**, v. 19, n. 4, p. 01-08, 2014.

STRAUFUSS, A. C. **Necropsy**. Procedures and basic diagnosis methods for practicing veterinarians. Illinois: Springfield, 1988. 244 p. 1988.

Circular Técnica, 116

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Gado de Leite
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco
Fone: (32)3311-7400
Fax: (32)3311-7401
www.embrapa.br/fale-conosco/sac



1ª edição
1ª impressão: Web

Comitê Local de publicações

Presidente *Pedro Braga Arcuri*
Secretária-Executiva *Inês Maria Rodrigues*
Membros *Jackson Silva e Oliveira, Leônidas Paixão Passos, Alexander Machado Auad, Fernando César Ferraz Lopes, Francisco José da Silva Lédo, Pérsio Sandir D'Oliveira, Fábio Homero Diniz, Frank Ângelo Tomita Bruneli, Nivea Maria Vicentini, Leticia Caldas Mendonça, Rita de Cássia Bastos de Souza, Rita Palmyra da Costa, Virginia de Souza Columbiano Barbosa*

Expediente

Supervisão editorial *Guilherme Nunes de Souza*
Tratamento das ilustrações e editoração eletrônica
Carlos Alberto Medeiros de Moura