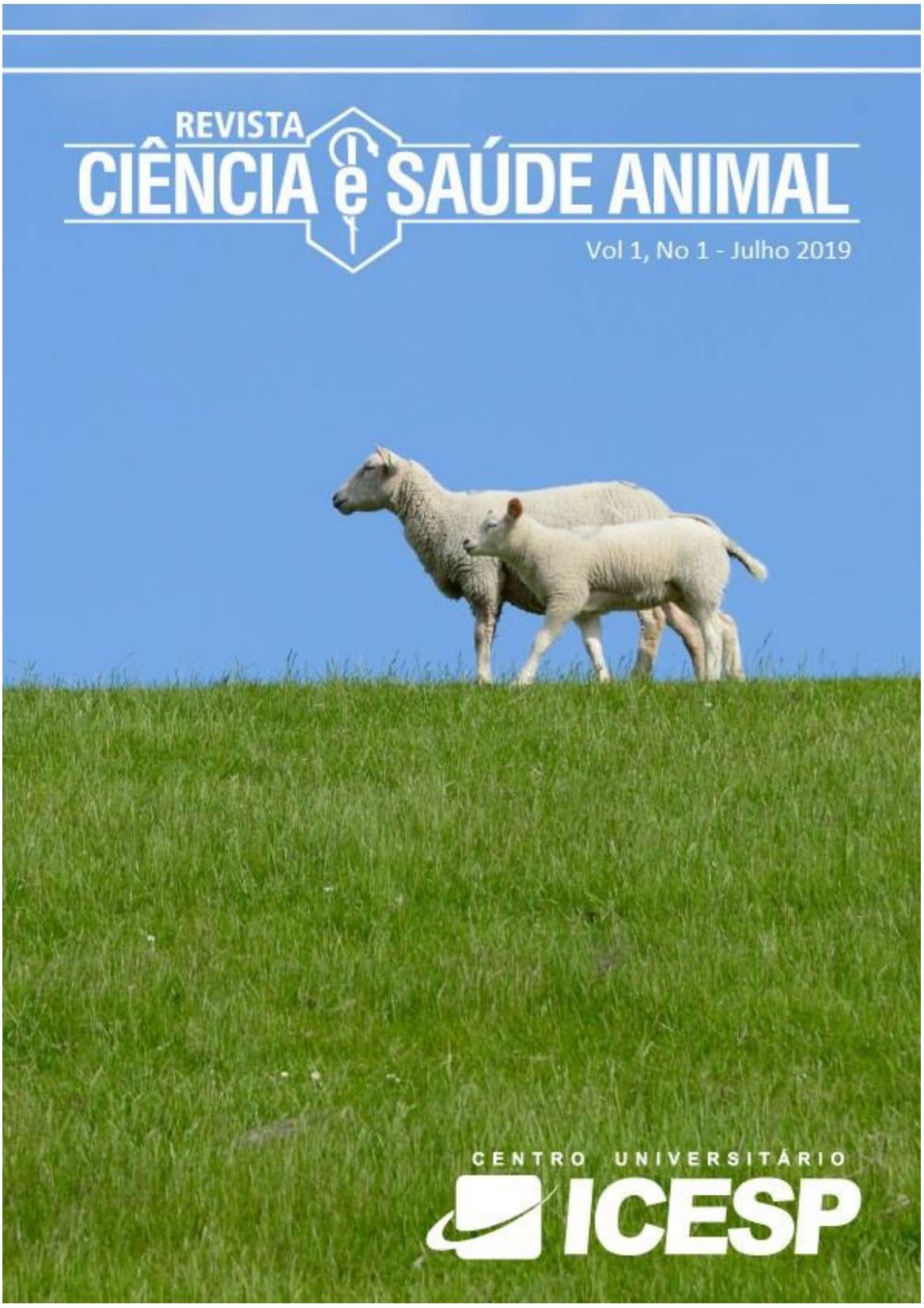
REVISTA
CIÊNCIA e SAÚDE ANIMAL
Vol 1, No 1 - Julho 2019
CENTRO UNIVERSITÁRIO
ICESP

REVISTA CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

VOL. 1, Nº 1, JULHO 2019

SUMÁRIO

ARTIGOS ORIGINAIS

Estudo retrospectivo de casos de erliquiose canina atendidos no centro universitário ICESP de Brasília

Neemias Meneses Mota et al. 01-14

Avaliação microbiológica para detecção de *staphylococcus aureus* em queijos tipo muçarela

Paulo Henrique Gilio Gasparotto et al. 15-25

Onfalopatia em bezerros - relato de caso

Kariny Melo de Meireles et al. 26-38

REVISTA CIÊNCIA & SAÚDE ANIMAL

VOL. 1, Nº 1, JULHO 2019

ESTUDO RETROSPECTIVO DE CASOS DE ERLIQUIOSE CANINA ATENDIDOS NO CENTRO UNIVERSITÁRIO ICESP DE BRASÍLIA

RETROSPECTIVE STUDY OF ERLIQUIOSE CANINE CASES AT THE ICESP DE BRASÍLIA UNIVERSITY CENTER

Neemias Meneses Mota, Discente Centro Universitário ICESP, Brasília, Brasil.*
Filipe Medeiros Ramaldes, Discente Centro Universitário ICESP, Brasília, Brasil.
Diogo Ramos Leal, Docente Centro Universitário ICESP, Brasília, Brasil.

*Autor correspondente: neemiasmota@yahoo.com.br

Submetido: 06/04/2019
Aceito: 29/04/2019

Resumo

Este estudo retrospectivo relata a prevalência de casos de Erliquiose canina atendidos na Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília no período de janeiro de 2015 a julho de 2017. Neste período 1958 cães foram atendidos, dos quais 319 foram considerados portadores de hemoparasitoses conforme sinais clínicos observados e alterações hematológicas registradas nas atas de atendimento, contudo, apenas 29 cães foram diagnosticados por meios de testes específicos com patógenos transmitidos por ectoparasitas, sendo *Anaplasma Platys*, *Ehrlichia canis*, *Leishmania spp,* e *Babesia spp.* Dos animais considerados portadores de hemoparasitoses, 84 cães não fizeram testes específicos para confirmação do diagnóstico, realizando apenas hemograma com contagem de plaquetas e exames bioquímicos, sendo considerados portadores de *Ehrlichia canis* de acordo com o perfil hematológico e alterações clinicas observadas, recebendo tratamento com Doxiciclina 7,5 a 10 mg/kg BID durante 28 dias. A Erliquiose canina obteve prevalência de 4,9%, no entanto, apenas 0,6% tiveram diagnóstico confirmado por meio de testes específicos.

Palavras-chave: Hemoparasitose; *Ehrlichia canis;* Doxiciclina; prevalência; diagnóstico.

Abstract

This retrospective study reports the prevalence of canine ehrlichiosis treated at the Veterinary Clinic of University Center ICESP of Brasília between January 2015 and July 2017. Of the total 1958 dogs seen, 319 were considered carriers of hemoparasitoses according to observed clinical signs and alterations However, only 29 dogs were diagnosed by means of specific tests with pathogens transmitted by ectoparasites, such as Anaplasma Platys, *Ehrlichia canis*, Leishmania spp and Babesia spp. Of the animals considered as having hemoparasitoses, 84 dogs did not perform specific tests to confirm the diagnosis, performing only blood counts with platelet counts and biochemical tests, being considered Ehrlichia canis carriers according to the hematological profile and clinical alterations observed, being treated with Doxycycline 7.5 to 10 mg / kg BID for 28 days. Canine ehrlichiosis had a prevalence of 4,9%; however, only 0.6% had a diagnosis confirmed by means of specific tests.

Keywords: Hemoparasitosis; *Ehrlichia canis*; Doxycycline; prevalence; diagnosis.

CC BY

Introdução

No Brasil 44,3% dos domicílios tem pelo menos um cão, este número representa 28,9 milhões de unidades domiciliares, chegando a um total de 52,2 milhões de cães no país, com média de 1,8 animal por domicilio. A região Centro-Oeste está em segundo lugar na média nacional, com 49,8% de cães por domicílio[1]. No Distrito Federal, a estimativa da população de animais segundo a campanha de vacinação antirrábica de agosto de 2016, é de 339,2 mil cães e gatos, sendo 279 mil (82,25%) cães e 61 mil (17,98%) gatos[2].

Rotineiramente na clínica veterinária são atendidos casos de animais com doenças infecciosas, muitas delas são conhecidas como hemoparasitoses. Os animais tornam-se alvos fáceis desses tipos de doenças, visto que eles podem adquiri-las após a picada de ectoparasitas contaminados com os agentes causadores, que frequentemente podem ser encontrados livres no ambiente[3]. São enfermidades cujos agentes etiológicos possuem tropismo por células sanguíneas, e após a picada do vetor transmissor com o agente patogênico, normalmente um artrópode, o animal pode desenvolver doenças como a Erliquiose canina[4], no entanto, há alguns gêneros como *Wolbachia e Neorickettsia*, que ao invés de utilizarem artrópodes como vetores, utilizam helmintos[5].

A Erliquiose canina é considerada uma das principais hemoparasitoses que acometem os cães no Brasil, sendo causada pela bactéria *Erlichia canis*[3,6,7]. A bactéria pertence a ordem das *Rickettsias* e está distribuída mundialmente, porém com maior ocorrência e alta prevalência em regiões de climas temperados devido à alta população do vetor transmissor o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*[7,8,9].

As *Rickettsias* são bactérias pequenas, Gram negativas, com aspectos comuns entre si e parasitismo intracelular obrigatório, e sua multiplicação ocorre por divisão binária somete dentro da célula hospedeira[10].

O objetivo deste trabalho é elaborar um estudo retrospectivo de casos de Erliquiose canina atendidas na Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília, e contribuir para que medidas profiláticas sejam adotadas afim de que essa doença ocorra cada vez menos.

A Clínica Escola tem por finalidade o aprendizado na prática, e funciona nas instalações do Centro Universitário ICESP de Brasília. A especialidade de atendimentos é restrita a animais de pequeno porte como cães e gatos, no entanto, um especialista em animais silvestres se mantém de sobreaviso para atender quando necessário.

Erliquiose Canina

Atualmente chamada de Erliquiose Monocítica Canina – CME[09], já foi descrita com outros nomes como Pancitopenia Tropical Canica – TCP[11] e Erliquiose Granulocítica Canina – CGE[12], foi descrita em cães pela primeira vez em 1935 no Instituto Pasteur em Argélia na França, quando cães expostos à infestações de *Rhipicephalus sanguineus* desenvolveram doença febril e anêmica, ao realizarem a coloração do sangue com Giemsa, observaram pequenos organismos de *Rickettsia* não descritos ainda e os chamaram de *Rickettsia canis*[13]. Mais tarde em 1945, foi renomeada para *Ehrlichia canis* em homenagem ao bacteriologista alemão Paul Ehrlich[14]. Em 1968 durante a guerra do Vietnã, os Estados Unidos lançou um programa nomeado de “cão trabalhador”, no qual os cães eram levados aos territórios vietnamitas para farejarem trincheiras, no entanto, com a morte de 250 cães após hemorragias severas sem causa definida iniciou-se uma investigação pela causa das mortes, na qual foi diagnosticada a presença da bactéria *Erlichia canis*, sendo considerada a responsável pelos óbitos[15]. No Brasil a doença foi relatada pela primeira vez em 1973 na cidade de Belo Horizonte, através da análise de esfregaços sanguíneos de cães infestados por *Rhipicephalus sanguineus*[16].

A Erliquiose canina é considerada uma das principais hemoparasitoses que acometem os cães no Brasil, sendo causada pela bactéria *Erlichia canis*[3,6,7]. A doença está distribuída mundialmente, porém com maior incidência e alta prevalência em regiões de climas temperados devido à alta população do vetor transmissor o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*[7,8,9,17].

Mais conhecido como carrapato marrom do cão, o *Rhipicephalus sanguineus* pertencente à família Ixodidae formada pelos carrapatos duros, se reproduz e vive em climas temperados e os adultos em jejum podem sobreviver por mais de um ano[5].

O ciclo de vida do *R. sanguineus* é dividido em três fases (larva, ninfa e adulto), sendo o cão doméstico o único hospedeiro para os três estágios parasitários[18].

O carrapato macho não precisa da cópula com a fêmea para que ocorra a contaminação, o mesmo pode se contaminar ainda na fase de larva após se alimentar de sangue contaminado, e manter o patógeno transestadialmente até a fase adulta, podendo transmiti-lo por até 155 dias após o contato[4,19].

Etiologia

A Erliquiose canina é uma doença que acomete a família *Canidae* que são cães, lobos, raposas e chacais[20]. A doença é causada por uma bactéria Gram-negativa da espécie *Erlichia canis,* que é uma *Rickesttsia* pertencente à Família Anaplasmataceae, classe Alphaproteobacteria, a qual possui várias espécies além da *E. canis* como: *E. phagocytophila, E. bovis, E. cowdria, e E. risticii*, transmitidas pela picada do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*[21].

É uma bactéria intracelular obrigatória que parasita as células mononucleares do sistema imunológico como monócitos, macrófagos e eventualmente neutrófilos[21]. Apresenta-se como cocobacilos corados por Giemsa, podem estar em pares, cadeias ou isolados. O envelope típico é formado por três camadas, membrana citoplasmática interna, parede celular rígida e membrana externa com aspecto trilaminar. A multiplicação ocorre por divisão binária somete dentro da célula hospedeira[10].

Patogenia

A *Erlichia canis* possui três estágios de desenvolvimento, que são corpos elementares, órgãos iniciais e mórula. Os corpos elementares são inicialmente pequenos com 0,5µm de diâmetro, são fagocitados pelos monócitos do cão e replicam-se no interior da célula por fissão binária, ao atingirem a fórmula de mórula com dezenas de corpos elementares, tornam-se maduras e saem da célula por exocitose causando lise celular[14].

A infecção pode ser dividida em três fases, aguda, subclínica ou crônica, no entanto, cães imunocompetentes podem eliminar a doença ainda na fase aguda, porém esta fase pode levar a aplasia medular, causando uma pancitopenia e alta mortalidade por hemorragia grave e septicemia[20,22]. A fase aguda é caracterizada pelos sinais clínicos característicos da doença como, febre, anorexia, perda de peso, depressão, corrimentos oculares, mucosas pálidas, esplenomegalia e linfadenopatia, acompanhados dos achados laboratoriais como trombocitopenia, macroplaquetas, leucocitose, monocitose, presença de mórulas e anemia[19,23,24].

Na fase subclínica, os sinais são poucos específicos e podem desaparecer sem que o animal seja tratado[25], porém na fase crônica, a pancitopenia é o achado laboratorial clássico, incluindo sinais clínicos como petéquias, epistaxe, uveíte, letargia e palidez das mucosas[19,22,23,25.]

A causa da mielossupressão ainda não é totalmente definida, mas acredita-se que fatores como vasculite leve, aumento no consumo secundário, sequestro esplênico, co-infecções com outros agentes como *Leishmania* ou *Babésia* e suscetibilidade de raça, como o Pastor alemão que tem depressão da imunidade mediada levando a hemorragias graves, podem causar a aplasia medular. A trombocitopenia pode ser causada por anticorpos antiplaquetários encontrados em cães portadores de *E. canis*, ou também por células infectadas que circulam pela corrente sanguínea aderindo-se ao endotélio de órgão vitais, causando vasculite e infecção do tecido subendotelial, contudo, a resposta imunológica humoral também pode estar diretamente ligada a trombocitopenia[22,23,26,27].

Diagnóstico laboratorial

Com um vetor distribuído mundialmente, e por apresentar características atípicas e sinais clínicos inespecíficos, o diagnóstico da Erliquiose canina torna-se dificultoso[28]. O diagnóstico é baseado nos sinais clínicos apresentados pelo animal e através de alterações observadas em exames hematológicos, como trombocitopenia, anemia ou leucopenia[17]. O teste específico de Reação de Imunofluorescencia Indireta - RIFI pode detectar anticorpos séricos em até 7 dias após a infecção, porém pode-se obter um resultado falso-negativo, quando na fase aguda os sinais clínicos se apresentam antes do desenvolvimento de anticorpos séricos, levando alguns cães se manterem soronegativos por até 28 dias[29].

O Ensaio de Imunoabsorção Enzimática – ELISA, possui alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de *E. canis,* e baseia-se em reações antígeno-anticorpo detectáveis através de reações enzimáticas, porém, só se obtém resultados positivos ou negativos. O teste de Reação em Cadeia da Polimerase - PCR, é o método de diagnóstico mais preciso, pois replica parte do DNA do patógeno em múltiplas vezes, contudo, torna-se mais oneroso que os demais[20,24,29]. O teste rápido SNAP 4Dx Plus®, além de conferir a presença de anticorpos para *E. canis,*[30] também pode diagnosticar exposição a patógenos causadores outras doenças como *E. ewingii, Anaplasma platys, A. phagocytophilum e Borrelia burgdorferi*[31]*.* Também pode-se verificar presença de mórulas de *E. canis* através de esfregaços sanguíneos de capilares periféricos[32].

Tratamento

O tratamento é realizado com antibióticos derivados das tetraciclinas, que são consideradas drogas de primeira linha para o tratamento de doenças Ehrlichiais[6,14]. As tetraciclinas são drogas de eleição usadas para o tratamento de infecções bacterianas causadas por *Chlamydia, Rickettsia, Mycoplasma, Brucella* e *Espirochaeteae,* e também na área de nutrição animal[33]. A Doxiciclina é um antibiótico bacteriostático derivado da tetraciclina e utilizado no tratamento de Erliquiose canina[24,34,35]. Segundo o consenso do Colégio Internacional Americano de Medicina Veterinária (ACVIM), a Doxiciclina deve ser administrada na dose de 10 mg/kg SID durante 28 dias[29].

Um imunossupressor como a Dexametasona, pode ser administrado para melhorar a eficácia da Doxiciclina[30]. Há indicações de tratamento com o Dipropionato de Imidocarb[23], porém a trombocitopenia tem uma lenta recuperação[29], contudo, após estudo comparativo entre a eficácia da Doxiciclina e o Dipropionato de Imidocarb, observou-se que o D. Imidocarb não é tão eficaz quando comparado a Doxiciclina no tratamento de Erliquiose canina[24].

O Cloranfenicol também é indicado para o tratamento de *Rickettsias,* porém, causa distúrbios hematológicos interferindo na síntese do grupo heme provocando aplasia medular[4,27] e descoloração dos dentes[36]. De acordo com Branger et al. (2004)[35], a Rifampicina também é eficaz na eliminação de *E.* canis. Após resultados de PCR em um estudo *In vitro* sobre susceptibilidade de antibióticos, a Rifampicina tornou-se um potencial medicamento alternativo para a Doxiciclina no tratamento de *E. canis*[22].

A transfusão sanguínea também é uma forma de tratamento para Erliquiose canina[36]. Após realizar transfusão sanguínea em cães de um grupo controle não tratados, Breitschwerdt et al. (1998)[34], relatam que os animais infectados eliminavam a infecção, ou alternativamente suprimiam a ehrlichemia.

Os anticorpos podem desaparecer entre 6 e 9 meses, sendo sugerido o PCR para diagnóstico da total eliminação do patógeno, se o resultado for negativo, deve-se repetir o teste em dois anos para se ter um diagnóstico final[25,29,37]. Mesmo após a cura clínica, os cães podem permanecer soropositivos entre 32 e 36 meses[25,26]. Patologias concomitantes podem interferir no tratamento como *Babesia* e outras *Rickettsias.* Se a contagem de plaquetas não começar a normalizar em até sete dias após o início do tratamento, deve-se considerar destruição imunomediada ou co-infecção por *Babésia*[29].

Profilaxia

A profilaxia é a melhor medida para evitar a contaminação por *E. canis*. Para o controle do *R. sanguineus* pode-se agir de forma direta no hospedeiro e no ambiente com uso de produtos para controle de ectoparasitas. Por apresentar hábito nidícola, em torno de 95% da população de *R. sanguineus* se mantém no ambiente, restando apenas 5% em parasitose no animal. Quando os carrapatos ingurgitados se desprendem do cão, procuram um lugar para se desenvolver, apresentando geotropismo negativo, sendo comum encontrar fêmeas ingurgitadas subindo pelas paredes[38]. Os produtos carrapaticidas a base de piretróides são os mais indicados para o controle do *R. sanguineus* presente no ambiente, de modo que seja realizada 3 a 4 aplicações em um intervalo de 14 dias, sendo suficiente para controlar ou até mesmo eliminar a infestação local. Quando o ambiente for formado por grandes quintais e o controle local tronar-se inviável, deve-se fazer o controle com ectoparasiticidas de longa ação para uso exclusivo no animal, visando atingir indiretamente os 95% livres no ambiente, tornando o cão uma “armadilha viva”, devendo respeitar rigorosamente o intervalo terapêutico do ectoparasiticida utilizado, assim o carrapato não completará o repasto sanguíneo[18].

Materiais e Métodos

Este estudo retrospectivo foi desenvolvido por meio da análise de dados registrados nas atas de atendimentos da Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília no período de janeiro de 2015 a julho de 2017. As atas de atendimentos eram divididas em colunas com as seguintes informações: data de atendimento, nome do animal, espécie e sexo, raça, procedimento realizado, suspeita/diagnóstico e o nome do Médico Veterinário responsável pelo atendimento.

Os pacientes foram selecionados com base na classificação da coluna suspeita/diagnóstico, onde foram identificados os casos de animais com registro de hemoparasitose, diagnóstico a esclarecer, óbito, eutanásia e dermatopatias. Os dados coletados foram registrados em uma planilha e posteriormente selecionados os casos confirmados de hemoparasitoses, no entanto, os casos sugestivos de hemoparasitose sem diagnóstico confirmado também foram selecionados, pois os animais receberam tratamento para Erliquiose canina conforme alterações hematológicas e sinais clínicos observados.

As doenças encontradas foram confirmadas através de exames laboratoriais

realizados por laboratórios terceirizados. Os métodos de diagnósticos foram: Pesquisa de Hematozoário (PH) com amostra de sangue total, Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF) de linfonodo, teste rápido SNAP 4Dx plus®, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA).

Resultados e discussão

De janeiro de 2015 a julho de 2017, foram atendidos na Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília 2192 animais, desses animais 234 (10,67%) eram felinos e 1958 (89,32%) caninos, conforme observado no Gráfico 1.

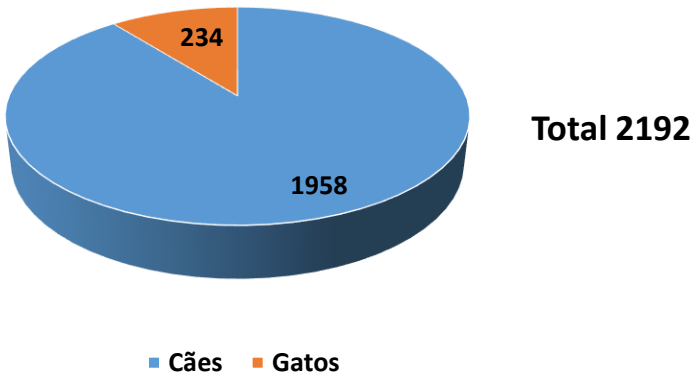

Gráfico 1 – Proporção de cães e gatos atendidos na Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília no período de janeiro de 2015 a julho de 2017.

Dos 1958 cães atendidos neste período, 319 cães foram selecionados de acordo com as informações contidas na coluna suspeita/diagnóstico da ata de registros de atendimentos. Foram incluídos nesta seleção os casos de diagnóstico a esclarecer, óbito, eutanásia, hemoparasitose e dermatopatias conforme Gráfico 2.

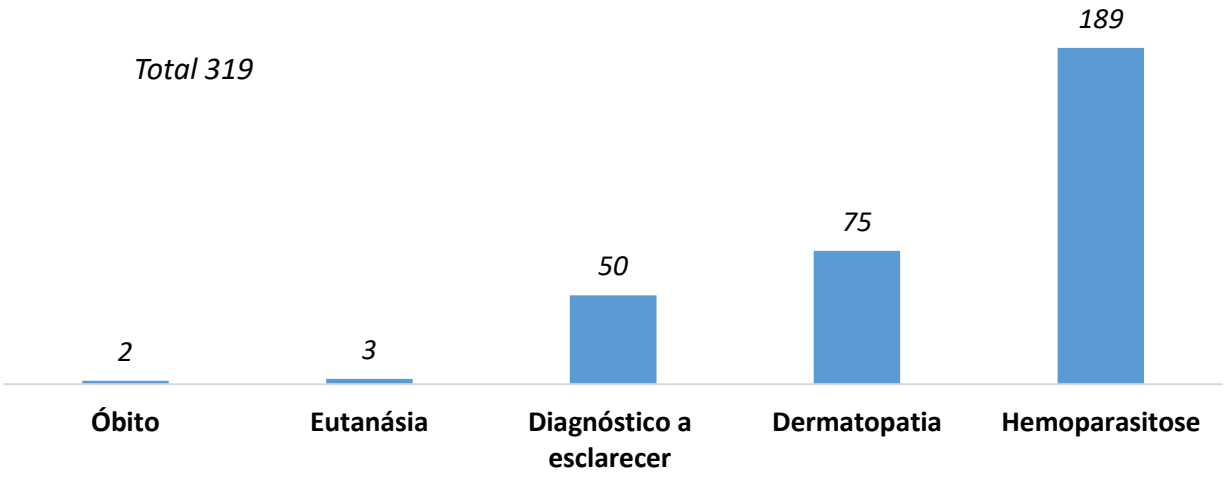

Gráfico 2 – Número de casos selecionados na coluna suspeita/diagnóstico da ata de registros de atendimentos da Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília no período de janeiro de 2015 a julho de 2017.

As dermatopatias fizeram parte da seleção, pois os animais que possuíam Dermatite Alérgica por Picada de Ectoparasitas (DAPE), também estavam expostos as doenças transmitidas pelo *R. sanguineus.*

A partir da análise dos prontuários dos 319 animais, 113 foram considerados portadores de hemoparasitoses conforme sinais clínicos observados e alterações hematológicas, contudo, apenas 29/113 (25,66%) cães foram diagnosticados por meios de testes específicos para detecção de patógenos transmitidos por ectoparasitas, sendo 3/29 (2,25%) *Anaplasma Platys,* 12/29 (10,62%) *Erlichia canis* e 12/29 (10,62%) *Leishmania spp,* além de 02/29 animais (1,77%) com patologias concomitantes como *Babesia spp* e *Erlichia canis, Leishmania spp* e *Erlichia canis.*

Dos 113 animais considerados portadores de hemoparasitoses, 84 (74,34%) cães não fizeram testes específicos para confirmação do diagnóstico, realizando apenas hemograma com contagem de plaquetas e exames bioquímicos. As alterações clinicas observadas no exame físico foram febre, apatia, anorexia, depressão, descarga oculonasal, mucosas pálidas e linfadenomegalia, já no exame hematológico, pode-se observar anemia, leucopenia e trombocitopenia. Diante destas alterações, chegou-se ao diagnóstico sugestivo de que os cães eram portadores de Erliquiose canina[19,23,39]. Alguns cães foram submetidos à eutanásia, sendo 04/84 com diagnóstico sugestivo de hemoparasitose, 01/84 com Anaplasmose e 01/84 com Leishmaniose, outros 02 cães vieram a óbito após serem diagnosticados com *E. canis.*

De acordo com o consenso do ACVIM, a dose de Doxiciclina recomendada para o tratamento de *E. canis* é de 10 mg/kg SID durante 28 dias[29].

A Doxiciclina é utilizada como droga de eleição para o tratamento de cães portadores de *E. canis* atendidos na Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília, pois é de fácil aquisição econômica e não provoca distúrbios hematológicos como o Cloranfenicol[4,27], e proporciona uma rápida recuperação da trombocitopenia, ao contrário do D. Imidocarb[29].

Porém, o tratamento para Erliquiose canina realizado nos cães atendidos na Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília não segue a recomendação do consenso, tanto a dose quanto o intervalo terapêutico foram ajustados após realizar tratamentos sem obter resposta clínica satisfatória. O tratamento dos cães foi realizado com Doxiciclina sendo administrada a dose variável de 7.5 a 10 mg/kg BID durante 28 dias. Essa variação da dose é determinada de acordo com a melhor adequação da dose em relação ao peso corporal do animal e a apresentação do fármaco em comprimidos, buscando sempre administrar a dose máxima. Acredita-se que o uso indiscriminado da Doxiciclina ao longo dos anos, tenha favorecido a bactéria *E. canis* a adquirir resistência.

Os casos confirmados de *E. canis* obtiveram prevalência de 0,6%, no entanto essa prevalência pode não ser um dado preciso, visto que os casos tratados para *E. canis* sem diagnóstico confirmado obtiveram prevalência de 4,3%. A baixa prevalência pode ser justificada devido os proprietários possuírem limitações financeiras e não concordarem em realizar os testes específicos, que normalmente são onerosos, levando a optarem por realizar o tratamento apenas com o diagnóstico sugestivo. Há também a justificativa de que apenas os cães que apresentavam sinais clínicos sugestivos de hemoparasitose realizavam testes específicos, ficando fora aqueles animais que provavelmente poderiam estar na fase subclínica da doença, tornando baixa a prevalência. Se somados os casos de diagnósticos confirmados (0,6%) com os casos não confirmados porém tratados (4,3%), obtém-se uma prevalência de 4,9%, conforme Gráfico 3.

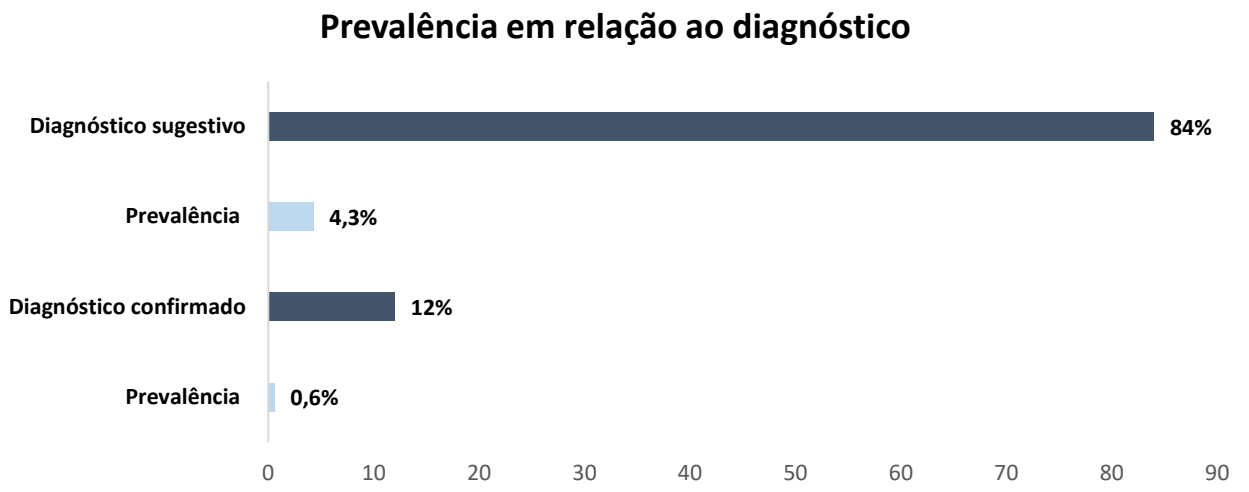

Gráfico 3 – Prevalência de *Ehrlichia canis* de acordo com o diagnóstico dos cães atendidos na Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília no período de janeiro de 2015 a julho de 2017.

No Distrito Federal - DF, em um estudo realizado por Nóbrega[17], foi verificada prevalência semelhante a este estudo, sendo observado prevalência de 6,4%, contudo, Lima[40] relata prevalência de 21,67% em um estudo realizado nesta mesma região. Números mais altos foram observados por Aguiar et al.[9], que relatou prevalência de 37,9% em cães domiciliados e 24,8% em cães da área rural de Rondônia- RO, assim como Ramos et al.[7] com prevalência de 38,4% em Recife - PE, Salgado[41] com prevalência de 60,48% em Mato Grosso do Sul – MS e Dagnone et al.[8] com prevalência de 21,7% em Londrina – PR. De acordo com Moreira[39] num estudo retrospectivo realizado em Belo Horizonte - MG, observou-se aumento dos casos de *E. canis* a partir da virada do milênio, devido à alta proliferação da doença no Brasil, chegando a prevalência de 35,9%. O mesmo salienta que os animais positivos para *E. canis,* encontravam-se com idade entre 13 e 24 meses, e justifica que essa idade pode ser atribuída a maturidade sexual dos animais, quando eles ficam mais inquietos e começam a frequentar locais públicos, tornando-os vulneráveis ao vetor transmissor.

Conclusão

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* transmissor de *Ehrlichia canis* está distribuído em todo território brasileiro, tornando a Erliquiose canina uma doença endêmica. Entre as hemoparasitoses atendidas na Clínica Escola Veterinária do Centro Universitário ICESP de Brasília de janeiro de 2015 a julho de 2017, a Erliquiose canina obteve maior prevalência, no entanto, a maior parte dessa prevalência pertence aos

casos sem diagnóstico confirmado por meio de testes específicos, chamando a atenção para a importância da realização desses testes para um diagnóstico preciso e um tratamento eficaz. A Doxiciclina é a tetraciclina de eleição para o tratamento de Erliquiose canina, sendo a mais eficaz quando comparada a outros antibióticos. Medidas profiláticas devem ser adotadas afim de evitar ocorrência dos casos de contaminação por *E. canis,* sendo recomendada a utilização de carrapaticidas de administração por via tópica ou oral, preferencialmente aqueles com efeito residual, e limpeza do ambiente com produtos à base de piretróides.

Referências

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [site da internet]. Pesquisa Nacional de Saúde 2013. http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/ pns/2013/default.shtm. Acesso: 01/08/2017.
2. Martins A. [site da internet]. Secretaria do Estado de Saúde. Vacinação contra raiva quer imunizar 271 mil cães e gatos no DF 2016. http://www.saude.df.gov.br/noticias/item/7725-vacina%C3%A7%C3%A3o-contra-raiva-querimunizar-271-mil-c%C3%A3es-e-gatos-no-df.html. Acesso: 01/08/2017.
3. Labruna MB. Pereira MC. Carrapato em cães no Brasil. Clínica Veterinária. 2001; 6,24:32-30.
4. Lopes CL. Hemoparasitoses em Animais de Companhia: Erliquiose, Babesiose e Micoplasmose, Estudo de Casos Clínicos. [Dissertação]. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro; 2013.
5. Bowman DD. Georgis - Parasitologia Veterinária. 9º ed. Rio de Janeiro: Elsiever; 2010; p. 233-234.
6. Labarthe NM. Barbarini O. Mckee W. Coimbra CA. Hoskins J. Serologic Prevalence of Dirofilaria immitis, Ehrlichia canis, and Borrelia burgdorferi infections in Brazil. Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine.2003; 4(1):67-75.
7. Ramos R. Ramos C. Araujo F. Oliveira R. Souza I. Pimentel D. et al. Molecular Survey and Genetic Characterization of Tick-borne Pathogens in Dogs in Metropolitan Recife (northeastern Brazil). Parasitology research. 2010; 107(5):1115-20.
8. Dagnone AS. Morais HSA. Vidotto MC. Jojima FS. Vidotto O. Ehrlichiosis in Anemic, Thrombocytopenic, ou Tick-infested Dogs from a Hospital Population in South Brazil. Veterinary Parasitology. 2003; v. 117, n. 4, p. 283:290.
9. Aguiar DM. Guacyara TC. Pinter A. Gennari SM. Camargo LMA. Labruna MB. Prevalence of Ehrlichia canis (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. Journal of Medical Entomology. 2007; v. 44, n. 1, 126:132.
10. Monteiro SG. Parasitologia na Medicina Veterinária. São Paulo: Roca; 2014; 250:251.
11. Huxsoll DL. Amyx HL. Hemelt IE. Hildebrandt PK. Nims RM. Jr. WSG. Laboratory Estudies of Tropical Canine Pancytopenia. Experimental Parasitology. 1972; 31, 53:59.
12. Dumler JS. Asanovich KM. Bakken JS. Richter P. Kimsey R. Madigan JE. Serologic Cross-Reactions Among Ehrlichia equi, Ehrlichia phagocytophila, and Human Granulocytic Ehrlichia. Journal of Clinical Microbiology. 1995; Vol. 33, Nº. 5, 1098:1103.
13. Donatien A. Lestoguard F. Existence en Algerie. d'un Rickettsia du chien. Bull Soc Pathol Exot. 1935; 28:418-419.
14. Mcdade J. Ehrlichiosis-A Disease of Animals and Humans. The Journal of Infectious Diseases. 1990; v.161, 609:617.
15. Kelch WJ. Military Working Dogs and Canine Ehrlichiosis (Tropical Canine Pancytopenia) in the Vietnam War. [Dissertação]. Fort Leavenworth (Kansas): U.S Army Comand and General

Staff Colege; 1981.
16. Costa JO. Junior JAB. Silva M. Guimarães MP. Ehrlichia canis Infection in Dogs in Belo Horizonte, Brazil. Arquivo da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. 1973; v. 25, n. 2,199:200.
17. Nóbrega KQ. Estudo das Principais Doenças Infecciosas em Cães Atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de Brasília entre 2011 e 2014. [Monografia]. Universidade de Brasília; 2015.
18. Labruna MB. Biologia – Ecologia de Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae). Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2004; v.13, 123:124.
19. Bremer WG. Schaefer JJ. Wagner ER. Ewing SA. Rikihisa Y. Needham GR. et al. Transstadial and Intrastadial Experimental Transmission of Ehrlichia canis by male Rhipicephalus sanguineus. Veterinary Parasitology. 2005; v. 131, n. 1-2, 95:105.
20. Rikihisa Y. Ewing SA. Fox JC. Western Immunoblot Analysis of Ehrlichia chaffeensis, E. canis, or E. ewingii Infections in Dogs and Humans. Journal of Clinical Microbiology. 1994; Vol. 32, No. 9; 2107:2112.
21. Dumler JS. Barbet AF. Bekker CPJ. Dasch GA. Palmer GH. Ray SC. et al. Reorganization of Genera in the Families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the Order Rickettsiales: Unification of Some Species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, Descriptions of Six New Species Combinations and Designation of Ehrlichia equi and HGE Agent as Subjective Synonyms of Ehrlichia phagocytophila. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2001; v. 51, 2145:2165.
22. Mylonakis ME. Theodorou KN. Canine Monocytic Ehrlichiosis: An Update on Diagnosis and Treatment. Acta Veterinaria-Beograd. 2017; 67-3, 299:317.
23. Harrus S. Aroch I. Lavy E. Bark H. Clinical Manifestations of Infectious Canine Cyclic Thrombocytopenia. Vet. Rec. 1997; 141(10):247– 50.
24. Pedroso CT. Eficácia da Doxiciclina e da Combinação com o Dipropionato de Imidocarb no Tratamento de Ehrlichia canis em cães. [Dissertação]. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2006.
25. Harrus S. Waner T. Aizenberg I. Foley JE. Poland AM. Bark H. Amplification of Ehrlichial DNA from Dogs 34 Months after Infection with Ehrlichia canis. J. Clin. Microbiol. 1998; 36:73–76. a
26. 26 - Frank JR. Breitschwerdt EB. A retrospective Study of Ehrlichiosis in 62 Dogs from North Carolina and Virginia. J. Vet. Intern. Med. 1999; 13:194-201.
27. Moraes LF. Takahira RK. Aplasia Medular em Cães. Revista de Ciências Agroveterinárias Lages. 2010; v.9, n.1, 99:108.
28. Silva MVM. Fernandes RA. Nogueira JL. Ambrósio CE. Erliquiose canina: Revisão de Literatura. Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR. Umuarama. 2011; v. 14, n. 2, 139:143.
29. Neer TM. Breitschwerdt EB. Greene RT. Lappin MR. Consensus Statement on Ehrlichial Disease of Small Animals from the Infectious Disease Study Group of the ACVIM. American College of Veterinary Internal Medicine. J Vet Intern Med. 2002; 16, 309:315.
30. Gaunt S. Beall M. Stillman B. Lorentzen L. Diniz P. Chandrashekar R. et al. Experimental Infection and Co-infection of Dogs with Anaplasma platys and Ehrlichia canis: Hematologic, Serologic and Molecular fi Ndings. Parasit Vectors. 2010; 3:33.
31. Laboratório IDEXX [site da internet].Teste SNAP 4DX Plus® 2017. https://www.idexx.eu/brasil/produtos-esolucoes/snap-e-testes-para-caninos-felinos-eequinos/teste-snap-4dx-plus/. Acesso: 01/08/2017.
32. Nakaghi A. Machado RZ. Costa MT. André MR. Baldani CD. Canine Ehrlichiosis: Clinical, Hematological, Serological and Molecular Aspects. Ciência Rural. 2008; v. 38, 3, 766:770.
33. Couto CMCM. Montenegro CMBSM. Reis S. Complexação da Tetraciclina, da Oxitetraciclina e da Clortetraciclina com o Catião Cobre (II). Estudo Pottenciométrico. Química Nova. 2000; 23,4, 457:460.
34. Breitschwerdt EB. Hegarty BC. Hancock SI. Doxycycline Hyclate Treatment of Experimental Canine Ehrlichiosis Followed by Challenge Inoculation with two Ehrlichia canis strains. Antimicrob Agents Chemother. 1998; 42, 362:368.
35. Branger S. Rolaim JM. Raoult D. Evaluation of Antibiotic Susceptibilities of Ehrlichia canis,

Ehrlichia chaffeensis, and Anaplasma phagocytophilum by Real-Time PCR. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2004; Vol. 48, No. 12, 4822:4828.
36. Cohn LA. Ehrlichiosis and Related Infections. Vet. Clin. Small Anim. 2003; n. 33, 863:884.
37. Harrus S. Waner T. Aizenberg I. Bark H. Therapeutic Effect of Doxycycline in Experimental Subclinical Canine Monocytic Ehrlichiosis: Evaluation of a 6-Week Course. J. Clin. Microbiol. 1998; 36, 2140:2142. b
38. Labruna MB. Pereira MC. Carrapato em cães no Brasil. Clínica Veterinária. 2001; São Paulo ano 6, n. 30, 24:32.
39. Moreira SM. Estudo Retrospectivo (1998- 2001) da Erliquiose Canina em Belo Horizonte: Avaliação Clínica e Laboratorial de Infecções Experimentais. [Dissertação]. Universidade Federal de Minas Gerais; 2001.
40. Lima MA. Ocorrência de Ehrlichia spp. no Distrito Federal e suas Alterações Laboratoriais. [Monografia]. Universidade de Brasília - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária; 2013.
41. Salgado FP. Identificação de Hemoparasitos e Carrapatos de Cães Procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. [Dissertação]. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2006.

REVISTA CIÊNCIA & SAÚDE ANIMAL

VOL. 1, Nº 1, JULHO 2019

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA PARA DETECÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM QUEIJOS TIPO MUÇARELA

MICROBIOLOGICAL EVALUATION FOR DETECTION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN CHEESE MUZARELA TYPE

Paulo Henrique Gilio Gasparotto, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil.
Adeilson Cardoso Ferreira, Centro Educacional São Lucas, Ji Paraná, Rondônia, Brasil.
Renata Benício Neves Fuverki, Centro Educacional São Lucas, Ji Paraná, Rondônia, Brasil.
Jerônimo Vieira Dantas Filho, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil.*
Cíntia Daudt, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, Acre, Brasil.

* Autor correspondente: jeronimovdantas@gmail.com

Submetido:10/06/2019
Aceito:12/07/2019

Resumo

O queijo e o leite são implicados como os mais importantes causadores de doenças estafilocócicas em todo o mundo. O queijo tipo muçarela é dos alimentos mais produzidos e consumidos em Rondônia, porém, devido a sua composição físico-química, este produto oferece condições para o desenvolvimento de vários microrganismos, entre eles o *Staphylococcus aureus*, produtor de enterotoxinas termoestáveis. Desse modo, esses alimentos devem atender a requisitos de qualidade estipulados por legislações especificas. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de queijo tipo muçarela produzidos por laticínios em Rondônia. Foram avaliadas 156 amostras indicativas de queijo tipo muçarela, por meio da técnica *Petrifilm™ Staph Express*. Do total de amostras, 5 (3,2 %) estavam em desacordo com a RDC nº 12/2001, onde duas apresentaram contagens com potenciais para síntese de enterotoxinas ($7{,}2x10^3$ e $9{,}0x10^3$ UFC/g), constituindo risco a saúde dos consumidores. Foram 83 (53,2%) amostras apresentaram contagens de ≤1,0 x 101 UFC/g, 44 (28,2 %) delas ficaram entre concentrações de 1,1x10 e $1{,}0x10^2$ UFC/g, e 24 amostras (15,3 %) no intervalo de $1{,}1 \times 10^2$ – $1{,}0 \times 10^3$ UFC/g. Esses resultados apresentam a necessidade de fiscalização quanto às condições higiênico-sanitárias pré e pós-processamento de produtos derivados do leite bovino, para reduzir os riscos à saúde pública.

Palavras-chave: Doenças estafilocócicas; Enterotoxinas; Saúde pública.

Abstract

Cheese and milk are implicated as the major causes of staph disease worldwide. Mozzarella cheese is one of the most produced and consumed foods in Rondônia, however, due to its physicochemical composition, this product offers conditions for the development of several microorganisms, among them Staphylococcus aureus, producer of thermostable enterotoxins. Therefore, these foods must meet quality requirements stipulated by specific legislation. This study aimed to evaluate the microbiological quality of mozzarella cheese produced by dairy products in Rondônia. 156 indicative samples of mozzarella cheese were evaluated by the Petrifilm™ Staph Express technique. Of the total samples, 5 (3.2%) were in disagreement with the RDC nº. 12/2001, where two had counts with potential for enterotoxin synthesis ($7.2x10^3$ and $9.0x10^3$ CFU/g), constituting a health risk. of consumers. 83 (53.2%) samples had counts of ≤1.0 x 101 CFU / g, 44 (28.2%) of them were between 1.1x10 and $1.0x10^2$ CFU/g, and 24 samples (15.3%) in the range 1.1×10^2 - 1.0×10^3 CFU/g. These results present the need for inspection regarding the hygienic-sanitary conditions before and after processing of dairy products to reduce the risks to public health.

Keywords: Enterotoxins; Public health; Staphylococcal diseases.

CC BY

Introdução

Com o notável crescimento da população mundial foi necessário criar sistemas de produção de alimentos mais eficientes para suprir as demandas cada vez maiores e consumidores mais atentos à qualidade dos alimentos[1]. A globalização aumentou os problemas relativos à qualidade dos alimentos e a preocupação dos órgãos sanitários, e as doenças transmitidas por alimentos (DTA's) hodiernamente são um grande problema para a saúde pública em todo o mundo[2].

No tocante à saúde pública, os alimentos destinados ao consumo humano devem atender às características regidas por legislações pertinentes a sua qualidade. Devem estar em conformidade não somente no que diz respeito aos padrões nutricionais, mas também microbiológicos[3]. De acordo com os dados do Center of Diseases Control (CDC) de 2009[4], nos Estados Unidos foram quantificados aproximadamente cerca de 38,6 milhões de casos anuais de doenças gastrointestinais, das quais cerca de 13,6 milhões (36 %) são atribuídas às DTAs, e dentre os microrganismos associados a estes casos, o *Staphylococcus aureus* representa cerca de 4,5 % das infecções. Quanto às toxinfecções, o gênero *Staphylococcus* é responsável por aproximadamente 45 % dos casos em todo mundo, sendo um dos mais importantes microrganismos patogênicos implicados em toxinfecções alimentares[1].

As doenças estafilocócicas não são de notificação compulsória e assim é difícil mensurar de maneira precisa a sua real incidência, mas sabe-se que 100 % dos surtos de intoxicação estafilocócica (IE) em humanos, são de origem alimentar. Segundo pesquisas realizadas recentemente, amostras de *S. aureus* enterotoxigênicos foram isoladas em diversos produtos alimentícios como, leite pasteurizado, queijo artesanal e industrializado, iogurte caseiro, leite em pó, achocolatados, sorvetes e outros derivados lácteos. Nos Estados Unidos estima-se que o percentual de indivíduos hospitalizados por IE seja algo em torno de 18 e 0,02% de casos fatais[5].

O leite e seus derivados são, de longe, os alimentos mais implicados como principais veiculadores de doenças estafilocócicas em todo o mundo. O queijo tipo muçarela produzido a partir de leite pasteurizado é um dos queijos mais produzidos e consumidos no Brasil, portanto, deve-se atentar para sua qualidade assegurando a saúde dos seus consumidores. Partindo dessa ideia, o leite como matéria prima para o processo de fabricação de diversos tipos de queijos, está diretamente relacionado com a qualidade final desses produtos[1,3].

Diante dessa preocupação, órgãos oficiais criaram diversos programas para a melhoria da qualidade do leite para consumo e como matéria prima. Assim, em 2001 foi publicada a Instrução Normativa (IN) nº 51, que regulamenta a identidade e qualidade dos diversos tipos de leite no Brasil, e no ano de 2011, a IN 62, que revogou alguns itens da instrução anterior e alterou os padrões limites para a qualidade microbiológica[6].

Assim como o leite fluido, os tipos de queijo, inclusive o tipo muçarela, são regidos por regulamentos técnicos de identidade e qualidade específicos, e com o intuito de regulamentar e dar suporte a cadeia deste produto, foi publicado através da portaria N° 364, de 4 de setembro de 1997, o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Tipo Muçarela. Da mesma forma, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da RDC N° de 2001, estabelece os padrões de qualidade microbiológicos para alimentos[7].

Com base nas legislações vigentes, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a qualidade microbiológica, com enfoque no gênero *Staphylococcus*, de queijos tipo muçarela produzidos em indústrias lácteas no Estado de Rondônia, que operam sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), Estadual (SIE) ou Municipal (SIM), por meio de levantamento de dados no Laboratório de Análise em Alimentos e Água Qualittá, situado em Ji-Paraná, Rondônia.

O objetivo como o trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de queijos tipo muçarela produzido em usinas de beneficiamento localizadas dentro do estado de Rondônia quanto à presença da bactéria *Staphylococcus aureus,* contribuindo com a formação do perfil microbiológico e epidemiológico destes produtos.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Análise em Alimentos e Água Qualittá, localizado no munícipio de Ji-Paraná-Rondônia, como estágio acadêmico sendo responsabilidade do Departamento de Medicina Veterinária do Centro Educacional São Lucas.

A empresa recebeu amostras indicativas de queijo tipo muçarela para análise microbiológica, encaminhadas por indústrias localizadas no estado de Rondônia, nas quais foram realizadas contagens de *Staphyloccocus aureus* coagulase-positiva para verificar a inocuidade do produto e avaliar o processo de produção e seus programas de

autocontrole. Para a contagem de *S. aureus* foi utilizado o método de contagem padrão em placa, com o meio de cultivo comercial Petrifilm™.Staph Express (Figura 1), para enumeração de *S. aureus* coagulase-positiva[8].

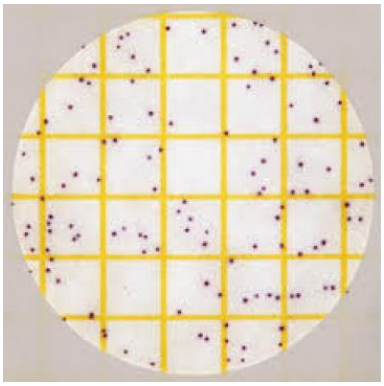

Figura 1 – Contagem padrão em placa Petrifilm™.Staph Express para enumeração de *S. aureus* coagulase-positiva. Fonte: Souza[5].

As amostras eram constituídas por produto acabado de queijo tipo muçarela, identificado e padronizado em peças de 4 kg, onde eram identificadas e especificadas, quanto à data, hora, temperatura no momento da colheita e transporte. De acordo com as informações do RDC nº 12 (7), realizou-se a colheita, bem como outros dados que pudessem auxiliar nas atividades analíticas.

No laboratório, as amostras ainda dentro de suas embalagens foram desinfetadas com álcool 70 % e, em ambiente de capela de fluxo laminar, foram abertas, pesadas, fatiadas e retiradas em porções de 25 g, as quais seguidamente, foram dispostas em embalagens estéreis (3M) próprias para o método e acrescidas de 225 mL de água peptonada tamponada 0,1 %, previamente preparadas, para obtenção da primeira diluição 10^1 (proporção 1:10)[9].

Após pesadas e diluídas, as amostras foram homogeneizadas durante 1 min no equipamento Stomacher, ver figura 2, para posterior realização das diluições seriadas seguintes concentrações, 10^2 e 10^3. Alíquotas de 1,0 mL de cada diluição seriada foram inoculadas por pipetagem em placas de *Petrifilm™ Staph Express* identificadas de acordo com cada diluição e posteriormente incubadas a 37°C nas estufas por 48 horas, assim como Souza[5] realizou.

Figura 2 – Homogeneizador Stomacher. Fonte: Arruda[20].

Em seguida a incubação, as placas de Petrifilm™ foram avaliadas em contador de colônias para identificação de colônias típicas de *S. aureus* coagulase-positivas e sua enumeração. Os cálculosde UFC/g foram obtidos por meio da multiplicação do número de unidades formadoras de colônias encontradas na placa pelo inverso da diluição utilizada, assim como Milián[1] executou.

Posteriormente, com os resultados obtidos, foram realizados os laudos analíticos, os quais foram encaminhados às indústrias requisitantes, com cópia arquivada no banco de dados de laudos do laboratório para futuras avaliações. A partir deste banco de dados, realizou-se o levantamento para identificar os laudos emitidos referentes à contagem de *Staphyloccocus aureus* coagulase-positiva nas amostras de interesse, da mesma maneira que Milián[1], Bandeira et al.[3] e Olivindo et al.[9].

Resultados e Discussão

Os resultados foram dispostos em intervalos de valores de contagens e comparados com a legislação RDC n°12 de 2001, para verificar se os produtos estavam em conformidade com as especificações da normativa. Das 156 amostras analisadas pelo laboratório, 5 (3,2 %) estavam em desacordo com os padrões mínimos requeridos pela normativa RDC n°12 (Tabela 1), que estabelece limite máximo de 10^3 UFC/g, que apresentaram valores de UFC bem acima do limite permitido, onde três demostraram contagens entre $1,1x10^3$ – $5,0x10^3$UFC/g e duas com valores acima de $5,1x10^3$ UFC/g (Tabela 2). Essa proporção indica a importância do controle microbiológico destes produtos de maneira sistemática, contribuindo assim, para a qualidade e evitando riscos à saúde pública[10].

Tabela 1 – Percentual de amostras analisadas de queijo tipo muçarela produzidas de acordo ou desacordo com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação.

Queijo	Amostras analisadas	Percentual (%)
De acordo	151	96,80
Em desacordo	5	3,2
Nº de amostras	156	100,00%

Os resultados apresentados na tabela 1 estão em desacordo com o encontrado por Marinheiro et al.[10] e por Reginato et al.[11], que ao analisarem amostras de queijo, mais 75 % estavam em desacordo com os limites estabelecidos pela RDC n°12. Segundo Buzi et al.[12], na cidade de Alfenas–MG, 100 % apresentaram contagens de *Staphylococcus* spp. acima do limite estabelecido pelo RDC n°12.

Uma das amostras desse trabalho destacou-se por apresentar 9,0 x 10^3 UFC/g, além de não atender aos limites mínimos da legislação, essa quantidade se torna potencialmente capaz de produzir enterotoxinas em concentração suficiente para desencadear surtos de intoxicação alimentar estafilocócica, conforme Santana et al.[2], Bandeira et al.[3] e Vieira[13].

Tabela 2 – Unidade Formadora de Colônia de *Staphylococcus aureus* nas amostras de queijo tipo produzidas.

UFC/g	Nº de amostras	Percentual (%)
≤1,0 x 10^1	83	53,20
1,1 x 10^1 – 1,0 x 10^2	44	28,20
1,1 x 10^2 – 1,0 x 10^3	24	15,30
1,1 x 10^3 – 5,0 x 10^3	03	1,90
> 5,1 x 10^3	02	1,20
Total	156	100,00

Conforme observado na tabela 2, resultados semelhantes foram observados por Souza[5], no município de Caldas-MG, que ao analisar 80 amostras de queijo Minas Frescal, descreveram a presença de *S. aureus* em 50 % delas, com valores médios em torno e 10^5 UFC/g. No presente trabalho foram 83 das amostras (53,2 %) analisadas apresentaram contagens igual ou inferior a 1,0x10^1 UFC/g, sendo 44 amostras (28,2 %) com contagens entre 1,1x10^1 - 1,0x10^2 UFC/g e 24 amostras dentro do intervalo de 1,2x10^2 - 1,0x10^3 UFC/g, todas dentro dos limites estabelecidos pela normativa RDC n°12 de 2001. Esses resultados se mostraram conforme os encontrados por Mendonça[16] que ao analisar amostras de queijo elaborados com leite, encontraram-se em

conformidade com a legislação. Avaliações realizadas por Quintana e Carneiro[17] em 60 amostras de queijo tipo muçarela provenientes de um laticínio localizado no município de Morrinhos-GO, também demostraram contagem de *S. aureus* coagulase-positiva dentro dos padrões estabelecidos pela legislação.

Esta pesquisa apresentou em um das amostras contagem de $7,2x10^3$ UFC/g, valor preocupante, porque vale ressaltar que amostras indicativas foram encaminhadas ao laboratório para avaliar a qualidade microbiológica de todo um lote. Esses valores mostraram-se bem acima dos resultados obtidos por Bandeira et al.[3], que ao analisarem queijos tipo muçarela, observaram que uma das amostras (25 %) mostrou valor na ordem de 1,47 x 10^3 UFC/g, acima do limite máximo estabelecido pela RDC n°12, e muito próximo do valor requerido para a produção de enterotoxinas, e três (75 %) apresentaram valores satisfatórios, onde uma não apresentou crescimento, uma com valor $1,2x10^1$UFC/g e outra com valor na ordem de $1,34x10^1$ UFC/g.

Resultados similares também foram encontrados por Vieira et al.[14], ao analisar presença de *S. aureus* em queijos coalhos não maturados no município de Sobral-CE, onde obteve crescimento em todas as amostras, sendo 80 % delas identificadas como coagulase-positiva. As contagens variaram de $2,9x10^3$UFC/g a $9,0x10^4$ UFC/g, valores extremamente preocupantes.

No entanto, Santana et al.[2] averiguou contaminação por *S. aureus* inferior em queijos coalho comercializados na cidade de Aracajú-SE, onde havia presença de 47 %, porém com ausência de enterotoxinas. Algumas amostras desta pesquisa apresentaram resultados na ordem de $1,2x10^3$ UFC/g, $2,0x10^3$ UFC/g e $1,9x10^3$ UFC/g, respectivamente. Tais valores são semelhantes aos averiguados por Bandeira et al.[3]. Esses resultados podem ser explicados pela contaminação após o processo de produção do queijo, sugestivo de uma condição higiênico-sanitária ineficiente do processo ou contaminação na manipulação dos envolvidos no processo de produção[7].

Segundo Apolinário et al.[15], durante o processamento de queijo, os manipuladores podem ser responsáveis pela contaminação, uma vez que a bactéria *S. aureus* pode estar presente nos braços, antebraços e mãos desses manipuladores e o contato do queijo com estes ocorre em etapas posteriores a pasteurização. Com o objetivo de identificar falhas de higienização, Oliveira[18] avaliou os níveis de contaminação das mãos dos manipuladores de laticínios em três momentos distintos; antes dos trabalhos na indústria, após higienização das mãos e durante as rotinas de tarefa. Assim, observou

aumento significativo nos percentuais de contaminação nas três etapas do processamento da muçarela.

O mesmo foi observado por Apolinário et al.[15], onde avaliou o processo de fabricação de queijo prato em um laticínio de Lavras-MG, para identificar as principais fontes de contaminação por *S. aureus* e *Staphylococcus* produtores de coagulase, onde foram observados contagens elevadas nas mãos ou antebraços dos manipuladores. Apesar da eficácia do tratamento térmico ter eliminado a população de *Staphylococcus* spp. as etapas posteriores à pasteurização comprometeram a qualidade do produto final.

Com o intuito de avaliar a provável linhagem (humana ou bovina) de *S. aureus* e sua correlação com o perfil higiênico-sanitário[19,20], os pesquisadores colheram e avaliaram duzentas e dezoito (218) amostras de queijo tipo em diferentes etapas do processamento de três indústrias de laticínios na cidade de Goiana-GO. Das 218 amostras avaliadas 58,2 % (127) apresentaram presença de *S. aureus* das quais foram isoladas quatrocentos e dezenove (419) linhagens e a partir dessas 92,6 % (388) foram avaliadas quanto a sua provável origem bovina ou humana. Das 388 linhagens 62,1 % (241) foram de provável origem humana e 3,9 % com tendência humana. Outros 23,4 % (91) foram de provável de origem bovina, 5,7 % com tendência bovina e 4,9 % indefinida, resultados relativamente concomitantes de Arruda[20] e Israel et al.[21].

Considerações finais

Diante dos resultados obtidos e apesar da grande maioria das amostras se mostrarem dentro dos limites estabelecidos pela RDC 12, pode-se concluir que os problemas com a contaminação dos produtos durante e após o processo de produção ainda são constantes e existem falhas nas condições higiênico-sanitárias durante o processamento. Assim, medidas de autocontrole como BPF, PPHO e APPCC devem ser mais efetivas durante a produção, assim como a assistência continuada aos produtores da matéria-prima com o intuito de contribuir para a produção de um leite com menor contaminação, tendo em vista que a carga bacteriana inicial influencia diretamente na qualidade o produto final. Este fato é preocupante, pois a presença de patógenos, como o *Staphylococcus aureus*, pode levar a quadros de intoxicação alimentar.

Amostras que apresentaram altas cargas bacterianas constituem um risco a saúde dos consumidores, seja pela ação dos microrganismos ou pela ação das enterotoxinas

passíveis de serem produzidas. É importante que os órgãos de fiscalização adotem medidas mais rigorosas nos estabelecimentos para garantir um produto inócuo para os consumidores.

Muitos trabalhos têm demostrado a capacidade de produção de enterotoxinas pelo gênero *Staphylococcus* spp., tanto em espécies coagulase-positivas quanto negativas, inclusive na ocorrência decontagens bacterianas inferiores ao limite estabelecido pela legislação. Dessa forma, torna-se necessária uma reavaliação dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira para *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos, uma vez que tais padrões correlacionam a produção da enzima coagulase com a capacidade de produção de enterotoxinas.

Portanto, apesar dos esforços técnicos e legais para o controle microbiológico em queijos, o risco de contaminação pré e pós- processamento existente, põe em risco a saúde pública.

Referências

1. Milián DAC. Verificación del método para la enumeración y confirmación de *Staphylococcus aureus* en Petrifilm™ , en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano [Dissertação]. Zamorano (Honduras): Escuela Agrícola Panamericana; 2015.
2. Santana EHW, Beloti V, Aragon-Alegro LC, Mendonça MBOC. Estafilococos em Alimentos: uma revisão. Arquivos do Instituto de Biologia. 2010; 77(3):545-554. https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/292603/mod_resource/content/1/Stapgylo.pdf. Acesso: 13/12/2018.
3. Bandeira FS, Picoli T, Zani JL, Silva WP, Fischer G. Frequência de Staphylococcus aureus em casos de matitite bovine subclínica na região Sul do Rio Grande do Sul. Arquivos do Instituto de Biologia; 2013. 80:1-6. http://www.scielo.br/pdf/aib/v80n1/a01v80n1.pdf. Acesso: 01/07/2018.
4. CDC. Center of Diseases Control. Health, United States: with special feature on medical technology. Washingyon: CDC, 2009.https://www.cdc.gov/nchs/data/hus/hus09.pdf. Acesso: 29/12/2019.
5. Souza LMJ. Avaliação do sistema Petrifilm™ na enumeração de micro-organismos indicadores da qualidade higiênico-sanitária e patogênicos no leite de origem ovina [Dissertação]. Brasília (DF): Universidade de Brasília; 2013.
6. Coelho KO, Mesquita AJ, Machado PF, Lage ME, Meyer PM, Reis AP. Efeito da contagem de células somáticas sobre o rendimento e a composição físico-química do queijo muçarela. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2014; 66(4):1260-1268.http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v66n4/0102-0935-abmvz-66-04-01260.pdf. Acesso: 04/01/2019.
7. BRASIL. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso: 01/07/2018.
8. Carneiro DMV. Detecção microbiológica e molecular de *Staphylococcus aureus* em amostras

de leite bovino obtidas de tanques de expansão: correlação com a presença de resíduos de antibióticos [Tese]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 2009.

9. Olivindo CS, Chapaval L, Villarroel ABS, Alves FSF, Sousa FGC, Fernandes FEP. Detection of *Staphylococcus aureus* using the REP-PCR technique to monitor goat milk quality. Revista Brasileira de Zootecnia. 2009; 38(7):1317-1321. http://www.scielo.br/pdf/rbz/v38n7/v38n7a22.pdf. Acesso: 20 jun. 2019.
10. Marinheiro MF, Ghizzi LG, Cereser ND, Lima HGL, Timm CD. Qualidade microbiológica de queijo mussarela em peça e fatiado Microbiological quality of sliced and block mozzarella cheese. Semina: Ciências Agrárias. 2015; 36(3):1329-1334. Acesso: 03/04/2019.
11. Reginato AM, Valiatti TB, Sobral FOS, Romão NF. Avaliação microbiológica de queijo tipo mussarela fatiado comercializado em supermercados do município de Ji Paraná – Rondônia. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal. 2019; 13(1). http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/504. Acesso: 15/09/2019.
12. Buzi KA, Pinto JPAN, Ramos PRR, Bioni GF. Microbiological analysis and electrophoretic characterization of mozzarella cheese made from buffalo milk. Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2009; 29:7-11. http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n1/v29n1a02.pdf. Acesso: 21 jun. 2019.
13. Batistela VMC, Fernandes KAJ, Oliveira AP, Brod FCA. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos tipo minas frescal em Barra do Bugres-MT. Agrarian Academy. 2019; 6(11):400-409. http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2019A/avaliacao%20da%20qualidade.pdf. Acesso: 30/08/2019.
14. Vieira ADS. Determinação de *Staphylococcus aureus* em queijos tipo coalho não maturados comercializados na cidade de Sobral, CE [Dissertação]. Fortaleza (CE): Universidade Estadual do Ceará; 2009.
15. Apolinário TCC, Santos GS, Lavorato JAA. Evaluation of the microbiological quality of Minas Cheese produced by dairies in the state of Minas Gerais. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes. 2014; 69(6):433-442. https://rilct.emnuvens.com.br/rilct/article/view/290/345. Acesso: 01/02/2019.
16. Mendonça JFM. Detecção de células viáveis de Salmonella spp. e Staphylococcus aureus em queijo de coalho pela técnica de PCR em tempo real [Dissertação]. Juiz de Fora (MG): Universidade Federal de Juiz de Fora; 2016.
17. Quintana RC, Carneiro LC. Evaluation of hygienic-sanitary conditions of the minas frescal and mozzarella cheese produced in Morrinhos city-GO. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. 2007; 8(3):205-211. http://www.rbspa.ufba.br/index.php/rbspa/article/download/756/489. Acesso: 16/06/2019.
18. Oliveira J. Uso de critérios para avaliação da qualidade microbiológica de um Laticínio [Monografia]. Laranjeiras do Sul (PR): Universidade Federal da Fronteira do Sul; 2016.
19. Nicolau ES. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de indústrias de laticínios produtoras de queijo tipo mussarela na Região de Goiânia-GO, com ênfase para o *Staphylococcus aureus* [Tese]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 2000.
20. Arruda MLT. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* coagulase-positiva em queijos minas frescal e padrão de feiras-livres de Goiânia e detecção de genes produtores de enterotoxinas A e B por meio da técnica de Duplex PCR [Dissertação]. Goiânia (GO): Universidade Federal de Goiás; 2006.
21. Israel LFS, Rabello RF, Domingos SCB, Medeiros LS. Produção de biofilme por *Staphylococcus chromogenes* isolados de amostras de leite provenientes de rebanhos bovinos com mastite. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2018;

70(6):1943-1949.http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v70n6/0102-0935-abmvz-70-06-01943.pdf. Acesso: 12/08/2019.

REVISTA CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

VOL. 1, Nº 1, JULHO 2019

ONFALOPATIA EM BEZERRO - RELATO DE CASO

ONPHALOPATHY IN CALF - CASE REPORT

Kariny Melo de Meireles, Discente Centro Universitário ICESP, Brasília, Brasil.
Mariana de Oliveira Bonow, Residente HVET-UnB, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.
Arthur Martins da Serra Vilela Pinto, Residente HVET-UnB, Universidade de Brasília, Brasil.
Verônica Lourença de Souza Argenta, Residente HVET-UnB Universidade de Brasília, Brasil.
Vitor Dalmazo Melotti, Docente Centro Universitário ICESP, Brasília, Brasil.*

*Autor correspondente: vitor.dalmazo@icesp.edu.br

Submetido:18/05/209
Aceito: 20/06/2019

Resumo
Nesse trabalho apresentam-se referências teóricas sobre onfalopatias em bezerros e relata-se o caso de uma bezerra da raça nelore com 43 dias de vida produto de Fertilização *in vitro.* A bezerra apresentou inicialmente um quadro diarreico aos 14 dias após nascimento que foi tratado, porém não houve efetividade, o quadro evoluiu apresentando instabilidade de temperatura, desidratação, aumento de volume na região umbilical e sinais neurológicos levando-a a prostração e ser encaminhada ao HVET com 42 dias de nascida, onde, após a anamnese identificou-se aumento de volume na região umbilical com dor a palpação e sem estímulos aos testes neurológicos. Após resultados dos exames complementares a terapia foi iniciada, porém 6 horas após o animal veio a óbito. Na necropsia identificou-se uma onfaloflebite levando a um quadro septicêmico, sendo a causa morte. Objetivou-se relatar o caso clínico de onfaloflebite em bezerra nelore com 43 dias de vida. Acredita-se que o quadro desenvolvido pela bezerra em questão foi motivado, pela falha de transferência de imunidade passiva.
Palavras-chave: Onfaloflebite, septicemia, umbigo**.**

Abstract
In this work we present theoretical references about omphalopathies in calves and report the case of a 43-day-old Nelore heifer derived from in vitro Fertilization. Heifer initially had a diarrheal condition 14 days after birth that was treated, but it was not effective, the condition evolved with temperature instability, dehydration, increased volume in the umbilical region and neurological signs leading to prostration and being referred to HVET at 42 days of birth, where, after anamnesis, an increase in volume in the umbilical region with pain on palpation and without stimulation to neurological tests was identified. After results of the complementary exams, therapy was started, but 6 hours later, the animal died. At necropsy an omphalophlebitis was identified leading to a septicemic condition, the cause of death. The aim of this study was to report the clinical case of 43-day-old heifers in nephore heifer. It is believed that the framework developed by the heifer in question was motivated by the failure of passive immunity transfer.
Keywords: Omphalophlebitis, septicemia, navel.

CC BY

Introdução

A união entre a fêmea bovina e seu feto é dada através do funículo umbilical, pelo período que durar a gestação. As onfalopatias são doenças do umbigo, consideradas uma das mais importantes dentre as que acometem os neonatos bovinos[1].

O feto bovino apresenta quatro vasos umbilicais, sendo duas artérias e duas veias, além disso, um ducto alantoide - úraco - as duas veias presentes no funículo umbilical atravessam separadamente o anel, mas se fundem de 1cm a 2cm à chegada no fígado e por se dirigirem a esse e a outros órgãos importantes do corpo[2], essa estrutura pode representar uma porta de entrada aos agentes infecciosos[3].

Fatores predisponentes às onfalopatias variam desde o ambiente em que o bezerro nasce e permanece, até a falha de ingestão de colostro[1], o tipo de produto e o tempo escolhido para realizar a cura do umbigo, a falta de cuidados no manejo do material utilizado e a frequência em que é realizado a imersão do fármaco[4].

A ingestão de colostro adequada é de extrema importância durante a fase inicial da vida do bezerro, ela determina o quanto o animal será sensível às enfermidades, tais como: diarreias, onfalopatias, broncopneumonias e septicemias. Quando ocorrem problemas de produção, ingestão ou absorção do colostro é indicativo de falha na transferência de imunidade passiva (FTIP)[1].

A falha na imunidade passiva dos bezerros causa diversos problemas, dentre elas podemos citar as infecções umbilicais que podem acarretar em septicemias, bacteremias e morte. Nos animais afetados é comum o isolamento de microrganismos causadores de onfalites, isso comprova que as estruturas que compõe o umbigo são uma porta de entrada para os patógenos causadores dessa enfermidade[4].

As infecções umbilicais ocorrem logo após o nascimento acometendo entre 5 e 10% dos bezerros recém-nascidos[5], estudos realizados em alguns estados brasileiros mostram que essa ocorrência varia de 28% em rebanho leiteiro da região de Lavras em Minas Gerais[6], 36,4% em rebanho mestiço no Estado do Rio de Janeiro[7] e 42,2% no Estado do Pará[8].

A classificação das onfalopatias se dá por duas formas: as infecciosas que são subdivididas em extra-abdominais (onfalites) e intra-abdominais (onfaloflebite, onfaloarterite, uraquite, onfaloarterioflebite, onfalouracoflebite, onfalouracoarterite ou panvasculite umbilical); e não infecciosas (hérnias, persistência de úraco, fibromas, neoplasias, defeitos congênitos)[3].

As infecções umbilicais podem ser diagnosticadas através de exame físico e exames complementares: ultrassonografia, hemogramas, cultura e em casos mais graves, laparotomia exploratória[3]. Além disso, deve-se basear também no histórico do animal, desde o ambiente em que vive até o tipo de solução utilizada na antissepsia do umbigo[1]. A palpação realizada durante o exame clínico visa inspecionar os componentes extra e intra-abdominal, a fim de identificar inflamações, sendo necessário o uso de diagnósticos mais complexos quando intracavitários[4].

Os agentes mais comuns nas infecções umbilicais são *E. coli*, *Proteus* sp, *Staphylococcus* sp, *Actinotmyces pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Pasteurella* sp, *Salmonella* typhimurium[4].

Bezerros que são acometidos por doenças de umbigo, causam prejuízos financeiros aos produtores devido aos custos com tratamento, manejo especializado, morbidades e mortalidades, além do desenvolvimento do animal, o qual fica prejudicado, diminuindo seu desempenho, seja ele para corte ou leite. Esse desenvolvimento está relacionado com o manejo adequado tornando-o importante para o futuro do animal e da propriedade[9].

Objetiva-se relatar o caso clínico de onfaloflebite em bezerra nelore com 43 dias de vida.

Relato de caso

A bezerra de raça nelore nasceu no dia 05 de fevereiro de 2019, concebido por fertilização *in vitro* (FIV), o parto ocorreu de forma eutócica a campo, a receptora era primípara, a bezerra teve livre acesso ao colostro, permaneceu no pasto desde o dia do nascimento e foi realizada a cura do umbigo com iodo 10% em imersão por 10 segundos durante 5 dias, no dia do nascimento foi administrado doramectina por via subcutânea.

De acordo com relato da proprietária, no dia 19 de fevereiro de 2019, 14 dias após o nascimento, a bezerra apresentou diarreia, com isso iniciou-se o tratamento com doxiciclina por três dias, sem efetividade terapêutica, então iniciou-se um novo tratamento com enrofloxacina por mais três dias, juntamente com fluidoterapia enteral e parental, contudo sem efeito, administrou-se ceftiofur por cinco dias, porém não houve resposta.

Por conseguinte, a bezerra foi retirada da mãe permanecendo por sete dias sem leite, melhorando o quadro da diarreia, nesse período, a proprietária relatou um aumento de volume na região umbilical e iniciou com ceftiofur por sete dias. Conforme melhora, o

animal foi remanejado para o piquete e retornando a livre ingestão do leite materno, que ocasionou novo quadro de diarreia.

No dia 17 de março de 2019, aos 40 dias de vida, o animal foi visto apresentando quadro neurológico – andar em círculos, cabeça abaixada, “head pressing”, olhar para as estrelas e cegueira total, foi iniciado o tratamento com tiamina e dexametasona (0,2 mg/kg SID) e fluidoterapia com dimetilsulfóxido (DMSO) (100ml + 05 ml, respectivamente), nesse mesmo dia o quadro neurológico se agravou, a bezerra permaneceu em decúbito esternal, rigidez em todos os membros, anorexia, temperatura de 35,8°C, sinais que motivaram a proprietária encaminhar o animal para o Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília - UnB (HVET – UnB).

No hospital, o animal apresentava-se em decúbito lateral (figura 1-A), ao ser colocado em estação, mostrou sinais neurológicos como: “head pressing” (figura 1-B), cabeça baixa, andar em círculos. No exame físico geral, as mucosas oculares estavam-se pálidas, os vasos episclerais anêmicos, desidratação de 10%, frequência cardíaca de 54 batimento por minuto, frequência respiratória de 20 movimentos por minuto, temperatura retal de 40,8ºC, quadro de diarreia amarelada, liquefeita e fétida (figura 1-C). O animal tinha alopecia em membros pélvicos, orelhas, focinho e barbela, escore corporal de 2,5, além do aumento de volume na região umbilical (figura 1-D).

Figura 01: A- O animal apresentava-se em decúbito lateral; B- Quadro neurológico "head pressing"; C- Diarreia amarelada, liquefeita e fétida; D- Aumento de volume na região umbilical.

Exames neurológicos foram realizados, dentre eles: teste de abdução (o qual foi positivo para os membros anteriores e negativos para os posteriores), teste de cruzar (nos quais os membros torácicos apresentaram-se normais e os pélvicos diminuídos), reflexo espinhal (apresentou hipoestesia), reflexo anal e perineal estavam fisiológicos, teste com a pinça dolorosa (somente o membro posterior esquerdo apresentou-se fisiológico, os outros membros apresentaram resposta diminuída), no teste de panículo (todos os membros com resposta diminuída). Nos testes ópticos as respostas foram: negativo para ameaça, miose, estrabismo unilateral dorsal além de nistagmo horizontal em olho direito.

Foram realizados dois exames hematológicos, um no dia 01/03/2019 a pedido da proprietária e outro no dia 18/03/2019 quando o animal chegou ao hospital. (Tabela 1).

Tabela 1- Resultado do Exame Hematológico

Valores	01/03/19 (28 dias)	19/03/19 (43 dias)	Valores de referências[10]
VG	23%	23%	24 - 46
Proteína Total	3,9	5,5	6,74 - 7,46
Leucócitos	3,7%	40,9%	4000 - 12000
Segmentados	1110	29857	600 - 4000
Linfócitos	1813	6544	2500 - 7500
Plaquetas	Fibrina	1441000	1 - 8
Fibrinogênio	Fibrina	1200	300 - 700
Albumina	2,5	1,6	2,6 – 3,7
Globulina	1,4	3,9	3 – 3,48
GGT	20	137	70

Conforme o quadro clínico instituiu-se o tratamento com flunixin meglumine na dose de 2.2mg/kg IV (SID), sulfa + trimetropin na dose de 20mg/kg IV (SID), vitamina B1 na dose de 10 mg/kg IV (QID), e levamisol.

Foi realizada uma ultrassonografia da estrutura umbilical, na qual foi visto aumento de ecogenicidade na veia umbilical, sugerindo onfaloflebite, contudo o animal foi a óbito no dia 19 de março de 2019 e encaminhado à necropsia.

O laudo de necropsia revelou onfaloflebite abscedativa crônica (figura 2-A), colangeohepatite mista discreta associada a trombo, pneumonia intersticial neutrofilica e histiocítica multifocal discreta, linfadenite com histiocitose sinusoidal, trombos multifocais em rete mirable, encefalite necrossupurativa multifocal aleatória com esferoides axonais e trombos, na microbiologia feita da estrutura umbilical foram isoladas as bactérias *Escherichia coli* e *Streptococus,* sugerindo o diagnóstico de septicemia. Foi visualizado nos rins, nefrite supurativa necrotizante acentuada disseminada associada à fibrose e trombos multifocais (Figura 2- B).

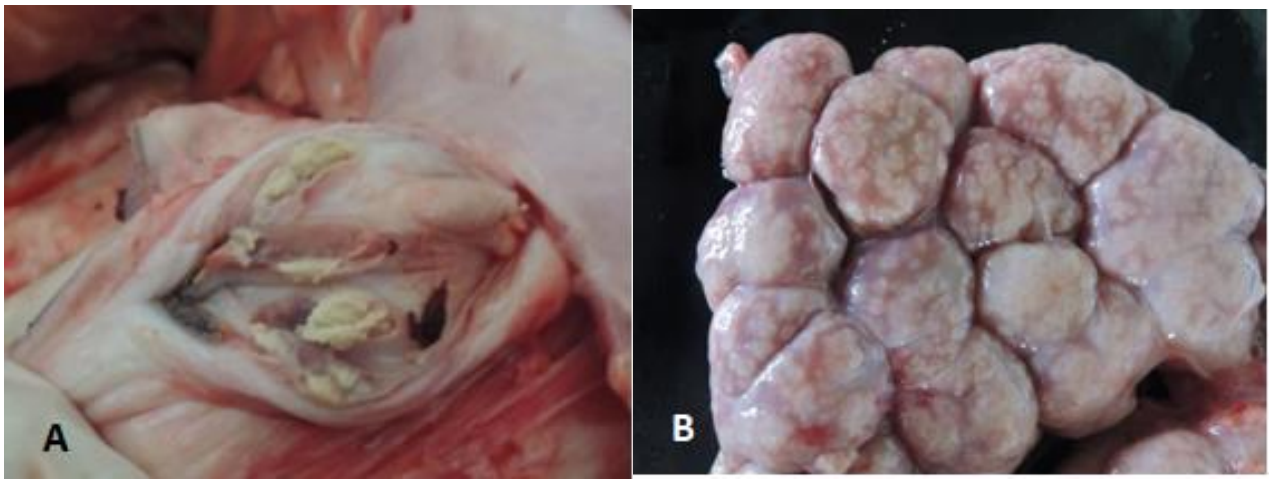

Figura 2 – A - Onfaloflebite abscedativa crônica. B - Nefrite supurativa necrotizante acentuada disseminada associada à fibrose e trombos multifocais.

Resultados e Discussão

Durante o momento do parto, pela distensão, ocorre o rompimento do cordão umbilical, do úraco e os vasos sanguíneos se retraem ficando próximo à parede abdominal, porém a pele envolta dessas estruturas não retrai formando o coto umbilical, representando importante porta de entrada para os microrganismos que causam as doenças dos neonatos[11]. Sendo assim, a cura inadequada do umbigo pode causar infecção, provocando inicialmente onfalite, podendo evoluir, quando ocorre a ascendência de microrganismos, atingindo as estruturas intra-abdominais, o que ocasiona processos mais graves[12], como ocorreu no presente caso, que teve comprometimento das estruturas intra-abdominais ocasionando onfaloflebite e posteriormente septicemia.

Animais jovens de um a três meses de idade são mais propensos as onfalopatias, elas não diferem quanto ao sexo, são cosmopolitas e não possuem vetores específicos que as transmitam[13]. A onfaloflebite é a inflamação da parte externa do umbigo e veias umbilicais, acometendo ou não toda a extensão do vaso chegando ao fígado, o qual surge abscessos que podem comprometer até metade desse órgão[4].

A qual foi observada no relato de caso, que apresentava a idade de risco além da flebite umbilical abscedativa crônica. O quadro clínico dessa doença apresenta apatia, febre e diarreia; a leucocitose está presente. O umbigo pode apresentar leve aumento de volume e apresentar secreção purulenta. Quando ocorre bacteremia podem ocorrer artrites, broncopneumonias e comprometimentos hepáticos[3]. Consoante a isso, a

bezerra começou com sinais clínicos, aproximadamente, com sete dias de vida, conforme o relato da proprietária, sendo o principal sinal a diarreia, além de apatia, febre e aumento de volume umbilical.

A raça da mãe influencia na qualidade do colostro, já que os animais que têm alta produção, possuem colostro com quantidade maior em imunoglobulinas do que os animais de menor produção, entende-se que os anticorpos passam para o úbere de acordo com o controle hormonal, favorecendo a permeabilidade capilar[14].

Os neonatos com FTIP são mais comumentes afetados com infecções das estruturas umbilicais e essas são mais graves podendo causar bacteremia, septicemia e morte como ocorreu no relato de caso[15,16]. Em relação à transferência de imunidade passiva (TIP), os anticorpos transferidos através do colostro são de extrema importância para a sobrevivência e proteção do neonato visto que ele necessita de maior tempo para responder aos desafios externos através de seus anticorpos endógenos[17].

Conforme o histórico, a receptora era primípara da raça zebuína, isso possivelmente influenciou na má qualidade e quantidade do colostro, pois o colostro de vacas primíparas possui menor quantidade em imunoglobulinas do que vacas pluríparas, devido ao menor tempo de exposição dessas aos agentes patogênicos que gera uma resposta às infecções com um menor número de antígenos[17], contudo estudos relatam que não há diferença na TIP em relação a vacas primíparas ou pluríparas[18], porém no caso da bezerra relatada possivelmente ocorreu a FTIP devido ao seu nível de gamaglutamiltransferase (GGT) avaliado no hemograma realizado com 28 dias de vida. (Tabela 1).

A GGT é uma enzima hepática que está presente em concentração elevada no colostro dos bovinos, sendo absorvida em grande quantidade pelas células intestinais dos bezerros recém-nascidos. Dessa forma, pode-se considerar a atividade sérica da GGT como um indicador indireto da capacidade do neonato de absorver imunoglobulinas[10]. A atividade dessa enzima é um dos métodos de avaliação indireta da transferência passiva de anticorpos para os bezerros. A atividade da GGT é elevada no colostro de vacas e sua atividade sérica no soro sanguíneo de bezerros que mamaram ou foram alimentados com colostro é 60 a 160 vezes maior do que aquela verificada nos animais adultos, havendo correlação significativa com a concentração sérica de imunoglobulina G [4].

Por meio do hemograma, avaliou-se a quantidade de GGT de animais até 28 dias

de idade, a qual obteve-se o resultado de 165,4 (UI/L), comprovando que esses animais tiveram a TIP correta, posto que os bezerros incluídos no estudo permaneceram saudáveis durante todo o período de duração do mesmo[19], no caso da bezerra do relato, aos 28 dias ela apresentou o valor de 20 (UI/L) comprovando que ocorreu a FITP.

A GGT é um indicador confiável de sucesso da TIP, estando concentrada no colostro que é absorvido pelo neonato provocando uma atividade sérica muito elevado no início da vida, mais que sofre degradação relativamente rápida e essa atividade sérica diminui até atingir os valores fisiológicos (entre 6 e 17 UI/L) mantidos por toda a vida do animal[18].

Os bezerros que receberam adequada TIP obtêm picos de proteína total em menos tempo, quando comparados a bezerros com a FTIP. Além disso, o tempo de atividade anabólica e catabólica das imunoglobulinas, para atingir níveis normais, mostram-se dependente dos valores iniciais, sendo que animais com melhores níveis de imunidade passiva apresentam queda mais prolongada de proteína sérica total, refletindo o início mais tardio da produção endógena de imunoglobulinas[20].

Em estudos com proteína plasmática total (PPT) (g/dL) de bezerros, os menores valores foram observados ao nascimento (6,19 g/dL) até os 15 dias de idade (6,27 g/dL), houve uma estabilização aos 60 e 90 dias (7,08; 6,78 g/dL) respectivamente, voltando a subir nos 120 e 150 dias (7,34; 7,37 g/dL), respectivamente[21], no caso observado a PPT avaliada no hemograma aos 28 dias estava abaixo desses valores relacionados (3,9 g/dL), subindo para 5,5 g/dL aos 48 dias de vida.

Outro estudo mostra a influência da ingestão do colostro e posteriormente, da atividade catabólica e síntese endógena de imunoglubilinas nas concentrações proteicas[20]. Considerando os valores individuais obtidos para proteína total nos bezerros após a ingestão do colostro, aqueles que possuem proteína inferior a 5 g/dL têm falha da transferência de imunidade passiva[22]. Os valores observados no relato foram bem inferiores aos limites mínimos admitidos por[17, 20], pois segundo eles, valores abaixo de 5 g/dL são indicativos de FTIP.

A hipoimunoglobulinemia não é a única explicação para a incidência elevada de onfalopatias nos animais concebidos pela FIV (Fertilização *in vitro*), já que algumas afecções são observadas com frequência nesses animais, que incluem as alterações nos parâmetros bioquímicos, alguns vasos sanguíneos apresentam falha de desenvolvimento, o contato materno fetal também é afetado por causa das alterações

pela falha no padrão de impressão e expressão de genes que regulam esses mecanismos. Existem hipóteses sobre a falha dos mecanismos fisiológicos genéticos que são essenciais para o desenvolvimento fetal e no pós-natal à técnica de FIV o que motiva estudos para identificar precisamente alterações indesejáveis onde após serem avaliadas darão possibilidade de observar se essa falha de transferência ocorre, ou se a biotécnica de FIV induz a alguma deficiência no sistema imune do neonato[23].

Sendo assim, a ocorrência de onfalopatias pode ser de origem multifatorial nesses animais concebidos pela FIV em virtude de defeitos congênitos, retração do cordão umbilical, impressão e expressão gênica, motivando a investigação da falha na transferência de imunidade passiva desde o nascimento comparando com animais sadios e acometidos. Mas essa hipótese necessita ser comprovada cientificamente[24].

Corroborando com isso, os métodos de concepção em bovinos podem influenciar no aparecimento de onfalopatias. A bezerra em questão foi proveniente de FIV, conforme o relato desses autores, 61,4% dos animais estudados era proveniente de FIV, os quais apresentaram alguma onfalopatia, sendo que desses 7,4% tiveram onfalite e 18,5% onfaloflebite[15].

A desinfecção do umbigo é um dos principais cuidados que se deve ter com o neonato bovino, sendo uma medida profilática para doenças umbilicais, a utilização da substância adequada, a forma correta de realizar a cura e pelo período específico é uma medida significativa para redução da mortalidade nos primeiros dias de vida[24], também é importante que o local de nascimento esteja limpo e seco, para que não ocorra a contaminação pelo ambiente. A presença de matéria orgânica no coto umbilical diminui a eficiência da ação do iodo, o que aumenta o risco de infecção[11]. A cura do umbigo da bezerra em questão foi realizada com solução de iodo a 10% em imersão por 10 segundos, uma vez ao dia, e após utilizou-se o spray com sulfadiazina de prata 0,1% até a completa queda do coto umbilical, que ocorreu aos sete dias de vida, e o animal permaneceu no pasto desde o dia do nascimento, conforme relato da proprietária.

A recomendação é o mergulho do coto umbilical no álcool iodado a 10%, antes do corte por 20 segundos e logo após o corte por um minuto, repetindo esse procedimento duas vezes ao dia por três dias, e até o oitavo dia[3]. A cura do umbigo deve ser feita logo após o nascimento, utilizando tintura de iodo de 7 a 10%, repetindo esse processo por pelo menos três vezes[25]. Outros autores recomendam o mergulho do umbigo em álcool iodado a 5% por 30 segundos e repetindo esse procedimento por até quatro dias[12].

Outro produto utilizado e indicado é o spray com sulfadiazina de prata 0,1% que possui efeito repelente, impedindo assim que moscas causadoras de miíases pousem e depositem seus ovos[26].

Exames complementares como hemograma e imagem são formas de avaliar e identificar a inflamação, através do isolamento dos agentes infecciosos e definir com melhor precisão a extensão da afecção podendo mostrar se ouve ou não comprometimento de outros órgãos que estão ligados a essa estrutura[3]. O exame ultrassonográfico permite que seja identificado com mais exatidão a presença de onfalopatias e estruturas envolvidas, auxiliando no tratamento e firmando um prognóstico mais preciso[27], no caso da bezerra do relato, o exame foi realizado, porém não ouve tempo hábil para iniciar o tratamento, visto que ela foi a óbito poucas horas após a realização do exame, no entanto foi visualizado o aumento da estrutura da veia umbilical confirmando o quadro de onfaloflebite.

A bezerra relatada demonstrou possíveis sinais de septicemia, pois, muitas vezes, na septicemia os sinais clínicos são inespecíficos, provavelmente atribuídos para outra doença, a alteração no estado mental que varia de uma leve depressão ao coma, temperatura retal anormal (febre ou hipotermia), taquicardia, taquipneia e desidratação, além de alterações nos neutrófilos, presença de uma infecção focal, diarreia, taquipnéia, poliartrite, uveíte, onfalite e meningite[16]. Obteve a confirmação por meio da cultura, a qual foi realizada durante a necropsia da secreção presente na estrutura umbilical, que isolou *Escherichia coli* e *Streptococus.* Pois o diagnóstico definitivo de septicemia só pode ser baseado em uma cultura de sangue e outros fluidos corporais[16].

Colaborando com esse assunto, todos os animais com bacteremia confirmada apresentaram manifestações de enfermidade focal ou sistêmica. O sinal clínico, que mais frequentemente esteve relacionado com cultura de amostra de sangue venoso positiva, foi o espessamento das estruturas umbilicais. Onfalite foi diagnosticada em oito (72,7%) dos onze animais dos quais se obteve cultura de amostras de sangue positivas, o que significa que em 61,53% dos animais que tiveram onfalite, foi possível o isolamento de agentes bacterianos a partir de amostras de sangue[28]. Bactérias dos gêneros *Staphylococcus* spp, *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp foram os microrganismos isolados nestes casos. Estudos mostram que estudos de hemocultura de bezerros debilitados indicam que as bactérias gram-negativas são responsáveis por aproximadamente 80% dos isolados bacterianos; *E. coli* é a bactéria mais comumente

isolada[16].

Conclusão

Com base no que foi apresentado, ressaltamos a importância da transferência de imunidade passiva juntamente com a higiene do ambiente e manejo adequado com o neonato, visto que são os fatores predisponentes ao desenvolvimento de onfalopatias, o que pode acarretar em morte do animal e prejuízos ao produtor.

Agradecimentos

Ao Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília - UnB, em especial ao Professor José Renato Junqueira Borges.

Referências

1. SMITH, B. P. Medicina interna de grandes animais. 3ed. São Paulo: Manole, 2006.1728p.
2. RIBEIRO. A. A. C. M. Pesquisa anatômica sobre o funículo umbilical em bovinos azebuados. São Paulo, v. 34, n. 6, p. 321-326, 1997.
3. FIGUEIRÊDO, L.J.C. Onfalopatias de bezerro. Salvador: EDUFBA, 1999. 73p.
4. RADOSTITS, O.M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. Clínica veterinária, 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 2162p.
5. CORREA, F. R. Doenças de ruminantes e equinos. 2. ed. São Paulo: Varela. p. 327-329. 2001.
6. PAULA, L. N. B. et al. Diagnóstico e controle das doenças de bezerros em sistemas de produção de bovinos de leite da região de Lavras/MG. In: CONGRESSO DE EXTENSÃO DA UFLA (CONEX), 3. 2008. Anais… Lavras: UFLA, 2008.
7. MIESSA, L.C.; AMARAL, A.; BOTTEON, R.C.C.M. et al. Morbidade e mortalidade de bezerros leiteiros devido a processos inflamatórios do cordão umbilical. Hora Veterinária v.23, n.134, p. 16-18, 2002.
8. REIS, A. S. B.; Pinheiro, C. P.; Lopes, C. T. A.; Cerqueira, V. D.; Oliveira, C. M. C.; Duarte, M. D; Barbosa, J. D. Onfalopatias em bezerros de rebanhos leiteiros no nordeste do estado do Pará. Ciência Animal Brasileira, supl. 1, Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, p. 20-34, 2009.
9. COELHO, S. G.; LIMA, J. A. M.; SILPER, B. F.; LEÃO. J. M. Cuidados com vacas e bezerros ao parto. InteRural, p.38-40, 2012.
10. JAIN. N.C. Essentials of Veterinary Hematology. Lea and Febiger, Philadelphia. 417p. 1993.
11. REHAGRO; Cuidado com vacas e bezerros ao parto. Artigos, 2018. Disponível em: <https://rehagro.com.br/blog/cuidados-com-vacas-e-bezerros/>. Acesso em: 29 de maio de 2019.
12. SILVA, L.A.F. et al. Sanidade dos bezerros leiteiros: da concepção ao desmame. Editora: Talento. 2001. 86p.
13. CORRÊA, W.M., CORREA, C.N.M. Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos. 2a ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p. 139-269.
14. OLIVEIRA, A. A.; AZEVEDO, C. H.; MELO, C. B. Criação de bezerras em sistemas de produção de leite. Aracaju: Embrapa/Tabuleiros Costeiros, 2005. 8 P. (Circular Técnica, 38).
15. RODRIGUES, C.A.; SANTOS, P.S.P.; PERRI, S.H.V.; TEODORO, P.H.M.; ANHESINI, C.R.;

ARAÚJO, M.A.; FILHO, M.N.V. Correlação entre os métodos de concepção, ocorrência e formas de tratamento das onfalopatias em bovinos: estudo retrospectivo. Pesq. Vet. Bras., v.30, p.618-622, 2010.

16. HOUSE, J. K.; SMITH, G. W.; MCGUIRK, S. M.; GUNN, A. A.; IZZO, M. Manifestations and Management of Disease in Neonatal Ruminants. In: Smith, B. P. Large Animal Internal Medicine. Elsevier. Ed. 5, Cap. 20, pag. 302- 340, 2015.*FEITOSA, F. L. F.; MENDES, L. C. N.; PEIRÓ, J. R.; CIARLINI, P. C.; MARQUES, F. J.; TAKADA, L.; PERRI, S. H. V.* Comparação do proteinograma e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de bezerros e de cabritos após ingestão de colostro. ARS Veterinária, v.22, n. 1, p. 16-21, 2006.
17. FEITOSA F.L.F., Camargo D.G., Yanaka R., Mendes L.C.N., Peiró J.R., Bovino F., Lisbôa J.A.N., Perri S.H.V. & Gasparelli E.R.F.. Índices de falha de transferência de imunidade passiva (FTIP) em bezerros holandeses e nelores, as 24 e 48 horas de vida: valores de proteína total, de gamaglobulina, de imunoglobulina G e da atividade sérica de gamaglutamiltransferase para o diagnóstico de FTIP. Pesquisa Veterinária Brasileira. 30(8): 696-704. 2010.
18. COSTA M.C., Flaiban K.K.M.C., Coneglian M.M., Feitosa F.L.F., Balarin M.R.S. & Lisbôa J.A.N. 2008. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. Pesquisa Veterinária Brasileira. 28(9): 410-416.
19. LISBÔA, J. A. N.; STURION T. T.; ANJOS, M. C.; FLAIBAN K. K. M. C. Transferência de imunidade passiva e proteinograma sérico até os 35 dias de vida em bezerros da raça Nelore concebidos naturalmente ou produtos da fecundação in vitro. Acta Scientiae Veterinariae, 2016. 44: 1420.
20. BESSI, R.; PAULETTI, P.; D'ARCE, R. D.; NETO, R. M. Absorção de anticorpos do colostro em bezerros. I. Estudo no intestine Delgado proximal. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 31, n. 6, p. 2314-2324, 2002.
21. COSTA M.C., Flaiban K.K.M.C., Coneglian M.M., Feitosa F.L.F., Balarin M.R.S. & Lisbôa J.A.N. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. Pesquisa Veterinária Brasileira. 28(9): 410-416. 2007.
22. SELIM, S.A.; SMITH, B.P.; CULLOR, J.S.; BLANCHARD, P.; DILLING, G.; RODEN, L.; WILGENBURG, B. Serum immunoglobulins in calves: Their effects and two easy, realiable means of measurement. Veterinary Medicine, v. 90, p. 387-404, 1995.
23. FARIN P.W., Piedrahita J.A. & Farin C.E.. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. Theriogenology 65:178-191. 2006.
24. BOMBARDELLI, J. A. Avaliação ultrassonográfica da involução dos componentes do cordão umbilical de bezerros holandeses no primeiro mês de vida: influência da concentração da tintura de iodo utilizada para a desinfecção do umbigo. 2015. 119f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootcnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
25. COELHO, S.G. Criação de Bezerros. In: II Simpósio Mineiro de Buiatria, Belo Horizonte-Minas Gerais, 2005. This manuscript is reproduced in the IVIS website with the permission of Associação de Buiatria de Minas Gerais (ABMG). p. 1-15
26. OLIVEIRA, A. M. Avaliação de protocolos utilizados na cicatrização umbilical de bezerros. Areia, 2017. 39p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2017.
27. STEINER, A.; LEJEUNE, B. Ultrasonographic assessment of umbilical disorder. Veterinary Clinics of North America**:** food animal practice, v. 25, p. 78-794, 2009.
28. RENGIFO, S. A.; SILVA, R., A.; PEREIRA, I., A.; ZEGARRA, J., Q., SOUZA, M., M., BOTTEON, R., C., C., M. Isolamento de agentes microbianos a partir de amostras de sangue e umbigo de bezerros mestiços neonatos. Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v. 43, n. 4, p. 442-447, 2006.