ISSN 1676-9732

QUALIDADE DO COLOSTRO BOVINO E TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE AOS BEZERROS RECÉM- NASCIDOS NA REGIÃO DE LAGES, SC

THE QUALITY OF BOVINE COLOSTRUM AND THE TRANSFERENCE OF IMMUNITY TO NEWBORN CALVES IN LAGES, SC, BRAZIL

Adil K. Vaz[1], Adroaldo Cervi Furtado[2], André Marca[3], Marcos Roberto Paterno[4]

Recebido em: 19/11/2003; aprovado em: 25/05/2005.

RESUMO

Foram coletadas amostras de colostro de 74 vacas Holandesas e mestiças Holandesas de quatro propriedades, e amostras de soro de seus bezerros nas primeiras 72 horas de vida. A quantidade de imunoglobulinas (Igs) no colostro e no soro foi analisada pelo teste de Turbidez do Sulfato de Zinco (TSZ) e no colostro também pelo colostrômetro. A concentração de Igs no colostro variou de 2719,8 mg/100 mL a 8850,2 mg/100 mL (s= ±1325,7), e no soro dos bezerros de 281,94 mg/ml a 1163,4 mg/100 mL (s=±238,25). Não houve correlação entre a concentração de imunoglobulinas no colostro e no soro (p=0,2123). Ocorreram variações individuais entre soros de diferentes bezerros e os colostros de suas mães. Considerando-se um desvio padrão abaixo da média como o limite de normalidade, 18,92% dos bezerros apresentaram falha de transferência de imunidade passiva. Ocorreu uma diferença significativa na concentração média de Igs no soro dos bezerros (teste t, p=0,0156) entre duas propriedades. Esta diferença não ocorreu na concentração de Igs no colostro (t test, p=0,5587). Houve também diferença significativa na concentração de Igs no soro entre bezerros nascidos no inverno (média=576,26 ± 225,28 mg/100 mL) e no verão (média=776,4 ± 226,98 mg/100 mL) (t test, p=0,0121). Esta diferença não ocorreu no colostro. De acordo com a escala do colostrômetro, os colostros foram classificados como bons com densidade entre 1045 - 1090 (79,7% dos colostros analisados), regulares com densidade entre 1035 - 1045 (14,9% do total) e pobres com densidade entre 1000 - 1035 (5,4% do total).

PALAVRAS-CHAVE: bezerros, imunidade, transferência de imunidade passiva, imunoglobulinas.

SUMMARY

Colostrum samples were taken at the first milking from 74 cows in four farms. Serum samples were taken from their calves in the first 72 hours after birth. The levels of immunoglobulins in the colostrum and in the sera were analyzed by the Zinc Turbidity Test. In the colostrum a colostrometer (Schering-Plough Animal Health, United Kingdom) was also used to evaluate the immunoglobulin content. The results were statistically analyzed using InStat software (GraphPad Inc, USA). Immunoglobulin concentration in colostrum ranged from 2719.8 mg/100 mL to 8850.2 mg/100 mL (SD= ±1325.7), and in the sera of the calves from 281.94 mg/ml to 1163.4 mg/100 mL (SD=±238.25). There was no correlation among Ig concentration in the colostrum and serum (p=0.2123). The concentration varied widely among individual dam/calf pairs. Considering the limit of normality as one Standard Deviation below average, 18.92% of the calves had failure of passive transfer. A statistically significant (p=0.0156) difference was observed in the Ig concentration in the serum of calves from two farms, but not in the colostrum of the cows of these farms. There was also a difference (p=0.0121) between Ig concentration in the serum of calves born in winter (576.26 ± 225.28 mg/100 mL) and in summer (776.4 ± 226,98 mg/100 mL). This difference did not occur in colostrum. According to the colostrometer scale, colostrum samples were classified as good when they had a density between 1045 and 1090 (79.7% of the samples), regular when the density was between 1035 and 1045 (14.9% of the samples) and poor with densities below 1035 (5.4% of the samples).

[1] Médico Veterinário, Dr., Professor Titular, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública, CAV/UDESC, Lab. DOIC e Imunologia, Caixa Postal 281 88502-970 Lages, SC. E-mail: adilvaz@cav.udesc.br.
[2] Farmacêutico Bioquímico, Professor Titular, Departamento de Morfofisiologia, CAV/UDESC, Lages, SC.
[3] Bolsista PIBIC/CNPq;
[4] Participante discente

KEY WORDS: calves, immunity, transfer of passive immunity, immunoglobulins.

INTRODUÇÃO

Os filhotes dos animais domésticos são capazes de montar uma resposta imune após o nascimento. No entanto esta resposta imune é uma resposta primária com um período de estabelecimento prolongado e concentrações baixas de anticorpos. Desta maneira os recém-nascidos poderão ser mortos por microorganismos que representam pouca ameaça para um adulto. Para evitar isto é necessária uma assistência imunológica, proporcionada pelos anticorpos transferidos da mãe para seu descendente através do colostro (BESSER & GAY, 1994; MORAES et al., 1997).

A via através da qual os anticorpos maternos alcançam o feto é determinada pela estrutura da placenta. A placenta dos ruminantes é sindesmocorial; ou seja o epitélio coriônico fica em contato direto com os tecidos uterinos. Este tipo de placenta impossibilita totalmente a passagem transplacentária das moléculas de imunoglobulinas, e os recém-nascidos dessas espécies são desta forma dependentes dos anticorpos recebidos através do colostro (TIZARD, 1998).

Estudos sobre a saúde do gado leiteiro nos Estados Unidos mostraram uma mortalidade de bezerros chegando a 8,4%, sendo que 52% destas fatalidades estavam associadas a casos de diarréia (QUIGLEY et al., 1993). As diarréias ocorridas em bezerros jovens são devidas principalmente a falhas na ingestão e manejo colostrais (PERES, 2000).

Bezerros que ficam por mais de 72h com as respectivas mães são expostos a grandes números de organismos infecciosos, o que ocasiona uma diminuição do desenvolvimento e aumento dos riscos dos animais apresentarem diversas doenças (QUIGLEY et al., 1993). As proteínas do colostro são absorvidas intactas, conseguindo passar sem alterações estruturais do colostro para a corrente circulatória das crias durante as primeiras horas de vida. Se o colostro em função do tempo perde sua capacidade imunizante, o bezerro, também em função do tempo, em horas pós-parto, perde rapidamente a capacidade de absorver imunoglobulinas por meio de seu epitélio intestinal. A absorção inicial de IgG do colostro é necessário para a proteção de um animal jovem contra uma doença septicêmica (LUCCI, 1989; STOTT, 1979).

Existem três tipos de imunoglobulinas presentes no colostro: IgG (70-80%), IgM (10-15%) e IgA (10-15%). Cada uma tem uma função: a IgG tem a função principal de identificar e destruir possíveis patógenos. A IgM serve como primeira defesa nos casos de septicemia e a IgA protege as mucosas, como a parede do intestino, ligando-se à parede intestinal e evitando a adesão de possíveis patógenos à mucosa. Portanto, o feito da IgA perdura enquanto o bezerro estiver consumindo colostro, pois ela atua na parede externa do intestino (PERES, 2000; TIZARD, 1998).

A forma de fornecimento do colostro é de extrema importância. O colostro deve ser ordenhado da vaca e fornecido através de uma mamadeira, para que se tenha certeza de que o bezerro mamou a quantidade correta. A maioria das pesquisas indica que os bezerros têm por hábito mamar várias vezes, em pequenas quantidades, que somadas, não são suficientes para uma adequada transferência de imunidade. Estima-se que a porcentagem de bezerros que não consomem colostro em quantidades suficientes varia entre 25 e 40%, quando mamam diretamente na vaca (STOTT, 1979; LUCCI, 1989; PERES, 2000).Isto deixa uma parte muito grande dos bezerros desprotegidos.

Existem três razões principais para a falha de uma transferência de imunidade adequada. Em primeiro lugar a mãe pode produzir um colostro insuficiente ou de má qualidade (falha de produção). Em segundo lugar, pode existir um colostro suficiente produzido, mas um consumo inadequado por parte do animal recém-nascido (falha de ingestão). Em terceiro lugar, pode existir uma falha de absorção intestinal apesar de um consumo adequado de colostro (falha de absorção) (TIZARD, 1998).

O presente trabalho teve por objetivo estimar os níveis de imunoglobulinas do colostro bovino em quatro propriedades no município de Lages, SC, bem como determinar a ocorrência de falhas de transferência de imunidade passiva nestas propriedades.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 74 amostras de colostro obtidas de vacas da raça Holandesa e mestiças Holandesas em quatro propriedades, e 76 amostras de soro sangüíneo dos respectivos bezerros.

O colostro foi coletado pelos proprietários ou funcionários logo após o parto e congelado. O parto era comunicado ao laboratório para que fosse processada a coleta de sangue dos bezerros em até 24h após o parto. À chegada ao laboratório era feita a separação do soro e armazenamento em tubos tipo "Eppendorf" a -20°C até a análise.

Foi estimada a densidade do colostro através do colostrômetro (SCHERING-PLOUGH ANIMAL HEALTH, Inglaterra). A densidade do colostro permite estimar a concentração de imunoglobulinas de forma fácil e rápida, sendo as imunoglobulinas responsáveis por 69,9% da variação observada entre amostras de colostro (FLEENOR & STOTT, 1979). Antes da avaliação pelo colostrômetro, o colostro era deixado em banho-maria até atingir a temperatura de 37°C. Isto foi feito para padronizar o método, visto que em temperaturas diferentes o mesmo colostro pode apresentar diferentes densidades.

Também foi avaliada a concentração de Igs no colostro através do método de turvação pelo sulfato de zinco (TSZ), também chamada de reação de KUNKEL (McEWAN, 1970; BÉRTOLI, 1973). A avaliação do grau de imunização passiva foi feita através da turbidez desenvolvida pela precipitação do soro sangüíneo com sulfato de zinco. A intensidade da turbidez permite determinar a concentração de imunoglobulinas séricas. Foi usado como controle positivo uma mistura de soros sangüíneos de bovinos adultos, e como controle negativo soro fetal bovino, que não contém imunoglobulinas (FLEENOR & STOTT, 1979).

Os níveis de Igs no colostro e soro foram analisados estatisticamente através da análise de regressão e ANOVA (InStat 3.0, GraphPad Software).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de Igs, determinada pelo teste de TSZ variou no colostro de 2719,8mg/100 mL a 8850,2mg/100 mL (s= ±1325,7), e no soro dos bezerros de 281,94 mg/ml a 1163,4mg/100 mL (s= ±238,25), utilizando-se a equação proposta por Bértoli (1973). Pela análise dos dados não houve correlação entre a concentração de imunoglobulinas no colostro e no soro das vacas (p=0,2123). Ocorreram diferenças individuais, com bezerros filhos de vacas com concentração elevada de imunoglobulinas no colostro apresentando baixos níveis dessas proteínas no soro e vice-versa (Fig. 1a, 1b, 1c e 1d).

A grande variabilidade nas concentrações de imunoglobulinas séricas encontrada dificulta a determinação do que se chama de falha da transferência da imunidade passiva (FTP). As quantidades mínimas de imunoglobulinas séricas que devem ser obtidas passivamente nas primeiras horas de vida de bezerros variam entre os autores (HANCOCK, 1985). O critério utilizado nessa pesquisa foi o mesmo utilizado por McGuire et al. (1976) que se baseia na média e desvio padrão da quantidade de imunoglobulinas séricas das amostras.

Considerando-se um desvio padrão abaixo da média como o limite de normalidade (MORAES et al., 1997), 18,92% dos bezerros apresentaram falha de transferência de imunidade passiva, por apresentarem uma concentração de imunoglobulinas menor que 428,84mg/100 mL (média menos desvio padrão). Esses dados foram semelhantes aos apresentados por McGuire et al. (1976) e Perino et al. (1995). Além disso, Hancock (1985) estudando 19 rebanhos relatou uma grande variação na taxa de animais com baixa imunidade passiva.

Houve também diferença significativa na concentração de Igs no soro entre bezerros nascidos no inverno (média=576,26 ± 225,28mg/100 mL) e no verão (média=776,4 ± 226,98mg/100 mL) (p=0,0121). Esta diferença não ocorreu no colostro. A diferença observada entre épocas do ano na concentração de Igs no soro dos bezerros não pode ser explicada por deficiências nutricionais das vacas, pois a diferença não ocorreu no colostro como seria esperado. Donovan et al. (1986), ao analisar 2103

Figura 1 - Concentração de Igs no colostro das vacas e no soro de seus bezerros

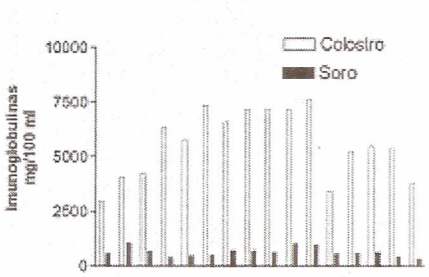

Figura 1a - Concentração de Igs no colostro de vacas e no soro de seus filhos - Prop. A

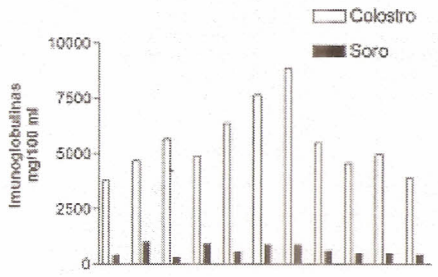

Figura 1b - Concentração de Igs no colostro de vacas e no soro de seus filhos - Prop. B

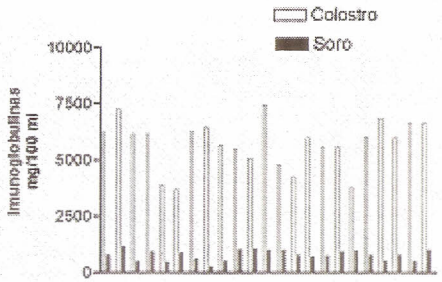

Figura 1c - Concentração de Igs no colostro de vacas e no soro de seus filhos - Prop. C

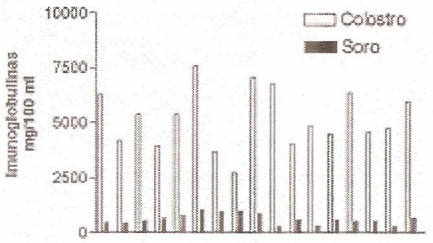

Figura 1d - Concentração de Igs no colostro de vacas e no soro de seus filhos - Prop. D

bezerros nascidos na Flórida no período de dois anos, observaram os efeitos sazonais na absorção do colostro e nos níveis séricos de imunoglobulinas dos recém-nascidos. Essas diferenças podem ser esclarecidas pelas observações de Stott (1979) que demonstraram influência direta da temperatura corporal e ambiental na absorção de imunoglobulinas. Pelos dados apresentados pode-se observar que há um melhor nível de imunoglobulinas nos bezerros nascidos no verão o que pode ser ocasionado pela maior temperatura da estação.

Ocorreu uma diferença significativa na concentração média de Igs no soro dos bezerros (p=0,0156) entre duas propriedades (B e C). Como esta diferença não ocorreu na concentração de Igs no colostro (p=0,5587) ela pode ser atribuída a falhas de manejo dos recém-nascidos que ocasionaram uma ingestão insuficiente de colostro, ou a fatores individuais dos bezerros que resultaram em uma deficiente absorção de imunoglobulinas (TIZARD 1998).

De acordo com a escala do colostrômetro, os colostros foram classificados como bons quando apresentavam uma densidade de 1046 a 1090 (79,73% das amostras), regulares com densidade de 1036 a 1045 (14,86%), e pobres com densidades de 1000 a 1035 (5,41%). Esta classificação correspondeu a concentrações médias de Igs de respectivamente de 5847,21mg/100 mL , 4707,9mg/ 100 mL e 3591,57mg/100 mL quando medidos pela TSZ.

A falta de correlação entre a concentração de Igs no colostro e no soro mostra que a variação não é devida à qualidade do colostro e sim a fatores individuais. A diferença observada entre propriedades pode ser devida a falhas de manejo dos animais que levem a falhas de absorção. A concentração de imunoglobulinas no colostro foi considerada satisfatória, estando dentro do limite considerado normal para vacas (2800 a 10000mg/100ml) (LUCCI,1989). Ainda segundo Lucci (1989), a determinação da gravidade específica do colostro através do colostrômetro é rápida e precisa e tem uma boa correlação com a concentração de imunoglobulinas do mesmo. O método da TSZ, apesar de ser um método indireto menos específico

que os métodos diretos, é uma prova rápida, com baixo custo (WHITE, 1986) e simples (McEWANN, 1970). Além disso, Pfeiffer et al. (1977) demonstraram que este método foi o que apresentou menos distorções em relação à concentração real de imunoglobulinas em amostras de soro e colostro bovino, comparado com imunodifusão radial simples, eletroforese e refratometria.

CONCLUSÕES

Não foi detectada correlação estatística entre a quantidade de Igs no colostro das vacas e no soro dos respectivos bezerros. Com isso parece mais provável que a concentração de Igs no soro dos bezerros seja mais dependente de fatores individuais (falhas de absorção) ou mau manejo no fornecimento do colostro do que da qualidade do colostro. As diferenças estatísticas observadas entre as médias de duas das propriedades apóiam esta conclusão. Existe uma influência da época de nascimento sobre a absorção de imunoglobulinas, que pode estar relacionada ao stress térmico que ocorre no inverno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BÉRTOLI, L.V. **Bioquímica clínica**, Florianópolis, EDEME, 1973, 78 p.

BESSER, T. E.; GAY, C.C. The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice,** v. 10, n.1, p. 107-117, 1994.

DONOVAN, G. A. et al. Factors influencing passive transfer in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 3, p. 754-759, 1986.

FLEENOR, W. A. & STOTT, G. H. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science,** v. 63n. 6 p. 973-7, 1980.

HANCOCK, D. D. Assessing efficiency of passive immune transfer in dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 1, p. 163-183, 1985.

LUCCI, C. **Bovinos leiteiros jovens**. São Paulo: Nobel/Edusp, 1989, p. 110-145.

McEWANN, A. D. et al. A turbidity test for the estimation of immunoglobulin levels in neonatal calf serum. **Clinical Chimica Acta,** v. 27. p. 155-163, 1970.

McGUIRE, T.C. et al. Failure of colostral immunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 169,n. 7, p. 713-718, 1976.

MORAES, M. P. et al. Evolução da imunidade passiva em fêmeas bovinas da raça Holandesa. **Ciência Rural,** v. 27, n. 3, p. 435-440, 1997.

PERES, J. R. **Importância do fornecimento do colostro (06/04/2000); Colostro - quando fornecer? (13/04/2000); Colostro – quanto fornecer? (20/04/2000); Como avaliar a qualidade do colostro? (27/04/2000).** Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/mn/radarestecnicos/default.asp>. Acesso em: 05 set. 2001.

PERINO, L. J., T. E. WITTUM et al. Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. **American Journal of Veterinary Research** v. 56 n.9, p. 1144-1148, 1995.

PFEIFFER, N.E. et al. Quantitation of bovine immunoglobulins: comparison of single radial immunodiffusion, zinc sulfate turbidity, serum electrophoresis, and refractometer methods. **American Journal Veterinary Research**, v. 38, n. 5, p. 693-689, 1977.

QUIGLEY, J.D. et al. Effects of housing and colostrum feeding on the prevalence of selected infectious organisms in feces of Jersey calves. **Journal of Dairy Science,** v. 77, n.15, p. 3124-3131, 1994.

STOTT, G.H. et al. Colostral immunoglobulin transfer in calves. III. Amount of absorption. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 12, p. 1902-1907, 1979.

STOTT, G.H., Immunoglobulin absorption in calf neonates with special considerations of stress. **Journal of the Arizona Agricultural Experiment Station,** v. 3018, n. 3, p. 681-688, 1979.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária.** 3 ed. São Paulo, Roca, 1998.

WHITE, D. G., ANDREWS, A.H. Adequate concentrations of circulating colostral proteins for market calves. **Veterinary Research,** v. 119, n. 8. p. 112-113, 1986.

ISSN 1676-9732

INQUERITO SOROLÓGICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS DE *Toxoplasma gondii* EM CAPRINOS (*Capra hircus*) CRIADOS NOS MUNICÍPIOS DE GRAVATAÍ E VIAMÃO, REGIÃO DA GRANDE PORTO ALEGRE, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

SOROLOGICAL INQUIRY FOR DETECTION OF Toxoplama gondii ANTIBODIES IN GOATS (Capra hircus) RAISED IN GRAVATAÍ AND VIAMÃO COUNTIES, RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

Karen Praetzel Maciel[1], Flavio Antonio Pacheco de Araujo[2]

Recebido em 03/08/2004; aprovado em: 25/05/2005.

RESUMO

A toxoplasmose é uma das enfermidades parasitárias mais difundidas entre as transmissíveis. O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o papel da espécie caprina na transmissão do *Toxoplama gondii*. As amostras foram estratificadas por idade e gênero. Foram analisadas 360 amostras de soros de caprinos através das técnicas da Hemaglutinação Indireta (HAI) e Imunofluorescência Indireta (IFI). Através da HAI verificou-se uma freqüência de 19,4% de soropositividade (70 animais) e pela IFI, de 30% (108), indicando índices elevados. Em relação a HAI, na variável gênero, foi observada uma freqüência de 9,44% (34) de soropositividade para os machos e 10,0% (36) para as fêmeas, enquanto que na variável idade, os resultados demonstraram freqüências de 8,05% (29) para os jovens e 11,38% (41) para os adultos. No que tange à Imunofluorescência Indireta, pela variável gênero apresentou uma freqüência de 14,44% (52) de soropositivos para os machos e 15,56% (56) para as fêmeas. Observou-se uma freqüência de soropositividade de 13,06% (47) para jovens e de 16,94% (61) para adultos. Verificou-se uma associação significativa entre as técnicas, com um índice de co-positividade para HAI de 78,6% e de co-negatividade de 81,7%. O índice Kappa, utilizado para medir o grau de concordância entre as duas técnicas, foi igual a 0,5% que evidenciou um grau de concordância moderado entre elas, recomendando, desta forma, o uso cauteloso da HAI na espécie caprina.

PALAVRAS-CHAVE: *Toxoplasma gondii*, caprinos, IFI, HAI, inquérito sorológico.

SUMMARY

Toxoplasmosis is one of the most widespread transmissible parasite infection diseases. The aim of this work was to evaluate the role of the goats in *Toxoplasma gondii* transmission. The sampling was stratified by age and gender. Three hundred and sixty (360) goat sera samples were tested by Indirect Hemagglutination technique (IHA) and Indirect Immunofluorescence test (IIF). The results showed that 19,4% (70 animals) of the sera samples were positive to IHA and 30,0% (108) were positive to IIF, representing a high level of sera positivity. Results of IHA associated to the variable gender showed 9,44% (34) sera positive for male goats and 10,0% (36) for female, whereas the results associated to the variable age showed frequencies of 3,05% (29) for young goats and 11,38% (41) for adults. The IIF results for to the variable gender showed a frequenct of 14,44% (52) positivity for males and 15,56% (56) for females. Using the same technique to evaluate the variable age, a soropositivity frequency of 13,06% (47) for young goats and 16,94% (61) for adults was recorded. The two techniques used were compared and the data obtained showed a significant association between them, with a co-positivity rate with IHA of 78,6% and co-negativity of 81,7%. The Kappa index used to measure the real agreement among the two techniques was 0,5%, indicating a moderate agreement level. Therefore, the results recommend caution for the use of IHA in goats.

KEY WORDS: *Toxoplasma gondii*, goats, IIF, IHA, sorological inquiry.

[1] Médica Veterinária, Msc. Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da UFRGS, RS. Av. Bento Gonçalves, 9090, CEP 91540-000 E-mail: kpraeztel@terra.com.br

[2] Médico Veterinário, Prof. Dr. Chefe do Setor de Protozoologia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, RS. Av. Bento Gonçalves, 8904, CEP 90540-000 E-mail: faraujo@vortex.ufrgs.br.

INTRODUÇÃO

Mais de 50% da população humana mundial acha-se infectada pelo *T. gondii*, com variações de acordo com as regiões e os costumes (PIZZI, 1997). Segundo alguns autores (CORCUERA; LOZANO e LOPEZ, 1981), do ponto de vista epidemiológico, a toxoplasmose é uma enfermidade cosmopolita sendo sua distribuição influenciada por vários fatores tais como climáticos, sócio-econômicos, tipo de contato com animais domésticos, costumes alimentares em relação ao consumo de carne.

O Rio Grande do Sul é um Estado com tradição agropecuária, sendo que grande parte de sua estrutura fundiária é baseada em minifúndios, inclusive na região da Grande Porto Alegre (Gravataí e Viamão). A caprinocultura tem sido bastante exercida na região, sendo que representa 0,4% da atividade pecuária total do Estado com cerca de 72.000 cabeças, destas 1.006 encontram-se em Viamão e 720 em Gravataí (IBGE – CENSO 2000).

Os últimos dados referentes a toxoplasmose caprina no Estado datam da década de 80 (ARAUJO et al., 1984). Este trabalho foi realizado com o objetivo de atualizar os dados sobre a prevalência da infecção em caprinos e analisar a influência de alguns fatores na epidemiologia do *T. gondii*.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem foi do tipo randômica e estratificada por idade e gênero dos animais (THRUSFIELD, 1986), para uma expectativa de prevalência de 10%, com uma precisão absoluta de 5%, com um nível de confiança de 95%. Foram constituídos dois grupos experimentais de caprinos, sendo o primeiro composto por animais jovens, ou com menos de seis meses de idade (168); e um segundo grupo, com animais adultos ou com mais de seis meses de idade (192). Posteriormente, classificaram-se os animais de acordo com o gênero em dois subgrupos (173 machos e 187 fêmeas).

O processo de coleta de sangue foi por punção direta na jugular. Após a separação do soro, as amostras foram mantidas a –20 C° até o processamento das amostras nas dependências do Laboratório de Protozoologia da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e no Instituto de pesquisas Biológicas do Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul (IPB – LACEN).

Para a técnica da HAI foi utilizado o Kit Imuno-HAI TOXO da WAMA diagnóstica. Para a técnica da IFI, foi utilizado um antígeno constituído de taquizoítos íntegros de *T. gondii*, cepa congênita (isolada de um caso humano) cedida pelo Laboratório de Imunidade Humoral e Celular em Protozooses da FIOCRUZ – RJ e o conjugado fluorescente anti-IgG caprina da Southern Biothech®. As leituras foram efetuadas ao microscópio óptico de imunofluorescência Nikon – Labophot-2, objetiva com aumento de 40 vezes e ocular CFWE 10X A/18. Para o inquérito epidemiológico, foi aplicado um questionário aos proprietários participantes do experimento, sobre as práticas de manejo, presença de gatos na propriedade, métodos de controle de roedores, tamanho da propriedade e conhecimento de casos de toxoplasmose na propriedade ou região.

Para as análises estatísticas foram usados o Teste Exato de Fisher (á = 0,05) nas análises comparativas, o Teste de McNemar nos estudos pareados; a porcentagem de concordância para verificar o relacionamento entre HAI e IFI (COUTINHO, 1970 e ARAUJO, 1999) e o índice Kappa para medir o nível real de concordância entre as duas técnicas empregadas no experimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da HAI foram encontrados anticorpos para *T. gondii* em 70 (19,44%) do total de 360 amostras de soros de caprinos da região da Grande Porto Alegre. Este valor corresponde à estimativa em ponto da freqüência de positividade, sendo que dentro do intervalo de confiança de 95% ele pode variar de 15,3% a 23,5%.

Pelo Teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 1 não ouve diferença significativa na freqüência de anticorpos para o *T. gondii* entre machos e fêmeas (p = 1.000).

Os resultados encontrados através da sorologia por HAI, em função da faixa etária dos animais en-

Tabela 1- Resultados sorológicos (HAI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da grande Porto Alegre, de acordo com a variável gênero.

	Positivos	Negativos	Total
Machos	34 9,44%	139 38,61%	173 48,00%
Fêmeas	36 10,00%	151 41,94%	187 51,94%
Total	70 19,44%	290 80,55%	360 100%

Tabela 2- Resultados sorológicos (HAI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da grande Porto Alegre, de acordo com a variável idade.

	Positivos	Negativos	Total
Jovens	29 3,05%	139 38,61%	168 46,66%
Adultos	41 11,38%	151 41,94%	192 53,33%
Total	70 19,44%	290 30,55%	360 100%

contram-se na Tabela 2.

Pelo Teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 2 não houve diferença significativa na freqüência de anticorpos para o *T. gondii* entre jovens e adultos (p = 0,3523).

Através da IFI foram encontrados anticorpos de *T. gondii* em 108 (30,0%) do total de 360 amostras de soros de caprinos. A variação dentro do intervalo de confiança de 95% vai de 25,3% a 34,7%.

Na Tabela 3 constam os resultados encontrados agrupados de acordo com a variável gênero.

Pelo Teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 3 não houve diferença significativa na freqüência de anticorpos para o *T. gondii* entre machos e fêmeas (p = 1.000).

Pelo Teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 4 não houve diferença significativa na freqüência de anticorpos para o *T. gondii* entre jovens e adultos (p = 0,4894).

Tabela 3- Resultados sorológicos (IFI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da grande Porto Alegre, de acordo com a variável gênero.

	Positivos	Negativos	Total
Machos	52 14,44%	121 33,61%	173 48,05%
Fêmeas	56 15,56%	131 36,39%	187 51,94%
Total	108 30,00%	252 70,00%	360 100%

Tabela 4- Resultados sorológicos (IFI) para toxoplasmose em caprinos criados na região da grande Porto Alegre, de acordo com a variável idade.

	Positivos	Negativos	Total
Jovens	47 13,00%	121 33,61%	168 46,67%
Adultos	61 16,94%	131 36,39%	192 53,33%
Total	108 30,00%	252 70,00%	360 100%

Tabela 5-Resultados detectados pela HAI e IFI em soros de caprinos, de acordo com a concordância de resultados.

	HAI Positivos	HAI Negativos	Total
IFI Positivos	55 15,27%	53 14,72%	108 30,00%
IFI Negativos	15 4,16%	237 65,84%	252 70,00%
Total	70 19,44%	290 80,56%	360 100%

Os resultados pareados podem ser observados na Tabela 5.

Pelo Teste de McNemar aplicado aos dados da Tabela 5 detectou-se uma associação significativa entre as duas técnicas ($p < 0,0001$). Ainda, de acordo com os dados encontrados, 123 soros (55+15+53) dos 360 examinados, reagiram em ambas ou apenas uma das reações. Do total de 360 soros, 292 foram concordantes em seus resultados perfazendo um total de 81,1% de concordância, assim como 68 soros (15+53) apresentaram resultados diferentes (18,9%).

O índice de co-positividade para a técnica da Hemaglutinação Indireta foi de 78,6% (55/70) e de co-negatividade de 81,7% (237/290).

O índice Kappa utilizado para medir o grau de concordância real, acusou um valor igual a 0,5 que evidenciou uma concordância moderada entre as duas técnicas utilizadas.

Nas amostras submetidas à técnica da HAI e da IFI, no que diz respeito à variável gênero, ao aplicar-se o Teste Exato de Fisher, observou-se que não houve uma associação significativa entre o grupo de machos e o de fêmeas. Resultados semelhantes foram observados em trabalhos realizados com caprinos em Londrina, Paraná (SELLA, 1994) e em Belo Horizonte, Mina Gerais (MACHADO & LIMA, 1987) que também reportam ser o percentual de caprinos reagentes, maior nos adultos que nos jovens. Araujo et al. (1984) coletaram 118 amostras de soros de caprinos criados na região da Grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul, objetivando avaliar a prevalência de anticorpos para *T. gondii* nestes animais. Através da HAI foi constatado 16,1% de soropositividade. Segundo os autores, estes resultados apresentam percentuais superiores aos registrados por Amaral et al.(1978) na Bahia, 10,0%. Os autores citaram o fato da espécie caprina ter apresentado maior prevalência que outras espécies já estudadas no Rio Grande do Sul como bovinos, ovinos e suínos.

Quanto ao perfil das propriedades, observou-se que 100% delas desenvolvem exclusivamente a caprinocultura, com um ciclo contínuo de criação e utilizando o sistema de confinamento parcial (arraçoamento e pastejo). Quanto aos métodos de controle de roedores, 75% usam métodos ativos, 12,5% usam métodos passivos e 12,5% usam uma combinação dos dois métodos. Em 87,5% das propriedades os felinos não têm acesso aos caprinos. Em 25,5% das propriedades existe produção de laticínios e destes, 12,5% utilizam os laticínios para consumo próprio e/ou venda direta. Em 87,5% das propriedades as pessoas desconhecem casos de toxoplasmose na região.

CONCLUSÕES

As técnicas da HAI e da IFI apresentam uma concordância moderada para detecção de anticorpos para *T. gondii* em soros de caprinos. A HAI deve ser utilizada com cautela na espécie caprina e, sempre que for possivel, associada com a IFI.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos à estimada Profª Drª Silvia Maria Spalding que propiciou meu acesso ao IPB-LACEN com a tecnologia imprescindível a elaboração deste trabalho. Também à bióloga Msc. Fátima Maria Tiecher e sua equipe pela orientação e cortesia ao disponibilizar-me o laboratório de Parasitologia do IPB-LACEN, onde é diretora e responsável técnica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, V.; SANTOS, S.M.; REBOUÇAS, M.M. Sobre a prevalência de anticorpos antitoxoplasma em caprinos e ovinos procedentes, respectivamente, dos Estados da Bahia e do Rio Grande do Sul, Brasil. **O Biológico**, São Paulo, v. 44, p. 331 – 340, 1978.

ARAUJO, F.A.P.; SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de caprinos da região da Grande Porto Porto Alegre/ RS. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, Porto Alegre, n. 12, p. 35 – 40, 1984.

ARAUJO, F.A.P. **Avaliação soroepidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da região da Grande Erechim, RS – Brasil, detectado através das técnicas de**

Imunofluorescencia Indireta e Imunoenzimática. Rio de Janeiro – RL. 125 p. Tese (doutorado). Instituto Oswaldo Cruz, 1999.

CORCUERA, M.T.; LOZANO, J.; LOPEZ, R.F. Estudio comparativo de las distinctas técnicas serologicas utilizadas para el diagnostico de la toxoplasmosis. **Rev. San. Hig. Plub**. n. 55, p. 1045 – 1059, 1981.

COUTINHO, M.T.; ANDRADE, C.M.; MALVAR, G.S.; FERREIRA, L.F. Análise comparativa entre as sensibilidades da reação Indireta de Anticorpos Fluorescentes e da Reação de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos séricos para toxoplasmose. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Rio de Janeiro, v. IV, n. 5, p. 315 – 325, 1970.

IBGE – Censo 2000. Disponível em: <http://ibge.gov.cidadesat/default.php>. Acesso em 30 de jul. de 2003.

MACHADO, T.M.M. & LIMA, J.D. Freqüência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em caprinos criados sob diferentes formas de exploração no Estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, Belo Horizonte, v. 39, n.2, p. 255 – 264, 1987.

PIZZI, H.L. Toxoplasmosis. 1ª. Ed., Argentina: Rhône Poulenc Rorer Argentina, 1997, 91p.

SELLA, M.Z.et al. Epidemiologia da toxoplasmose caprina: levantamento sorológico do *Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros na região de Londrina, Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, São Paulo, v. 3, n.1, p. 13 – 16, 1994.

THRUSFIELD, M. Veterinary Epidemiology. London, Butterworth & Co, 1986.

ISSN 1676-9732

TRATAMENTO DA ERLIQUIOSE CANINA DE OCORRÊNCIA NATURAL COM DOXICICLINA, PRECEDIDA OU NÃO PELO DIPROPIONATO DE IMIDOCARB

TREATMENT OF NATURALLY OCCURRING CANINE EHRLICHIOSIS WITH DOXYCYCLINE, PRECEDED OR NOT BY IMIDOCARB DIPROPIONATE

Marlos Gonçalves Sousa[1], Andrea Cristina Higa[2], Daniel Guimarães Gerardi[2], Mirela Tinucci-Costa[3], Rosângela Zacarias Machado[4]

Recebido em 11/03/2004; aprovado em: 25/05/2005

RESUMO

A erliquiose tem despontado como uma das mais importantes enfermidades infecciosas, devido ao aumento da sua prevalência entre os cães. Diversos tratamentos já foram propostos para a doença, sendo que a associação de imidocarb e doxiciclina é rotineiramente empregada, apresentando adequada resposta terapêutica. Entretando, em alguns pacientes, o imidocarb não pode ser utilizado devido aos seus efeitos hepatotóxicos, representando um paradoxo para muitos clínicos. Com o objetivo de avaliar a resposta clínica da doxiciclina, precedida ou não do imidocarb, em casos de erliquiose canina, constituiu-se dois grupos de nove cães, sendo um deles tratado com doxiciclina e o outro com doxiciclina e imidocarb. Observou-se que ambos os tratamentos resultaram em melhora clínica. Assim, concluiu-se que neste estudo, a resposta terapêutica foi indiferente quanto ao uso ou não do imidocarb nos casos de erliquiose canina.

PALAVRAS-CHAVE: erliquiose, cão, doxiciclina, imidocarb, terapia.

SUMMARY

Canine ehrliquiosis has become one of most important infectious diseases, especially due to its increasingly prevalence amongst dogs. Many treatment protocols have been proposed, but the association of imidocarb and doxycycline is frequently used because it shows an adequate therapeutic response. However, imidocarb can not be prescribed to some patients, which represents a paradox for many clinicians. The aim of this study was to evaluate the clinical response of doxycycline, preceded or not by imidocarb, for treating canine ehrlichiosis. Two groups of nine dogs were composed: the first was treated with doxycycline, whereas the second was treated with doxycycline and imidocarb. Results showed that both treatments were satisfactory, demonstrating that the clinical response did not depend on the use of imidocarb in the experiment.

KEY WORDS: ehrlichiosis, dog, doxycycline, imidocarb, therapy.

INTRODUÇÃO

A erliquiose canina é uma doença infecciosa, causada pelas bactérias cocóides gram-negativas pertencentes aos gêneros *Ehrlichia* sp.e *Anaplasma* sp. (MYLONAKIS et al., 2001; DAGNONE, 2002; COHN, 2003; DAGNONE et al., 2003). Trata-se de um parasito intracelular obrigatório, organizado em agrupamentos denominados mórulas (HIBLE et al., 1986; STILES, 2000). A transmissão da enfermidade ocorre pela picada do carrapato marrom do cão, *Rhipicephalus sanguineus*, que ao realizar o repasto sanguíneo, inocula secreções salivares contaminadas pelo parasito (TROY & FORRESTER, 1990). Também é possível que os cães com ehrlichiose estejam infectados concomitantemente por *Babesia* spp. e

[1] MV, MSc, Doutorando em Clínica Médica – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) – Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Jaboticabal – Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, S/N – Jaboticabal – SP – E-mail: marlos98@yahoo.com ***(Autor para Correspondência)***
[2] MV, MSc, Doutorandos em Clínica Médica – FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal
[3] MV, MSc, PhD, Professora do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária – FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal
[4] MV, MSc, PhD, Professora do Departamento de Patologia Veterinária – FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal

Hepatozoon spp., uma vez que este mesmo carrapato poder transmitir tais organismos (VAN HEERDEN et al., 1983; GOSSETT et al., 1985)

Dentre os sinais clínicos da enfermidade destacam-se, na fase aguda, febre, anorexia, apatia, linfadenopatia e alterações oculares (KUEHN & GAUNT, 1985; ENG & GILLES, 1989) e na fase crônica, perda de peso, palidez de mucosas, tendência a hemorragias (WADDLE & LITTMAN, 1988). As alterações laboratoriais freqüentemente envolvidas incluem trombocitopenia, anemia arregenerativa, hiperglobulinemia, dentre outras (ANDEREG & PASSOS, 1999; TARELLO, 2003).

Diversos tratamentos são descritos para erliquiose canina (HARRUS et al., 1997), sendo as tetraciclinas as que apresentam os melhores resultados (AMYX et al., 1971). Cita-se também o uso do cloranfenicol (MADIGAN, 1987) e da enrofloxacina (KONTOS & ATHANASIOU, 1998). O uso do dipropionato de imidocarb é eficaz no tratamento desta enfermidade (ADEYANJU & ALIU, 1982; BARR, 1997), sendo bastante difundido entre os clínicos, assim como sua associação com as tetraciclinas (SAINZ et al., 2000; MYLONAKIS et al., 2001; TARELLO, 2003).

Dentre as tetraciclinas, a doxiciclina, um derivado semi-sintético, é o fármaco de escolha para o tratamento da erliquiose canina (BARR, 1997; HARRUS et al., 1998), pois alcança uma elevada concentração sanguínea e tecidual, penetrando rapidamente na maioria das células (TROY & FORRESTER, 1990). Além disso, quando utilizada por via oral, a doxiciclina resulta em menor taxa de recidiva comparativamente às outras tetraciclinas (CODNER & FARRIS-SMITH, 1986).

O imidocarb, por sua vez, é uma carbanilida, cuja ação baseia-se na alteração morfológica e funcional do núcleo e do citoplasma do parasito (ANDRADE & SANTARÉM, 2002). Seu emprego no tratamento desta enfermidade é recomendado por alguns autores (ADEYANJU & ALIU, 1982; BARR, 1997; TROY & FORRESTER, 1990) e é desaconselhado por outros (ANDRADE & SANTARÉM, 2002). Os resíduos metabólicos deste fármaco são depositados no fígado e rim por período longo, o que pode resultar em necrose nesses órgãos. Além disso, eventualmente também podem ocorrer efeitos colinérgicos indesejáveis (ANDRADE & SANTARÉM, 2002). Adicionalmente, alguns autores contra-indicam o uso do imidocarb nessa enfermidade, por acreditarem que seu uso não resulta em cura clínica (VAN HEERDEN & VAN HEERDER, 1981), opostamente ao que é amplamente preconizado na literatura. Entretanto, para outros autores, a resposta terapêutica após o uso do imidocarb não difere daquela apresentada após o uso da doxiciclina, ou mesmo daquela apresentada após o uso de ambos os fármacos em associação (PRICE & DOLAN, 1980; MATTHEWMAN et al., 1994; SAINZ et al., 2000; SANCHEZ-CARMONA, 2001).

Uma vez que o imidocarb e a doxiciclina, em associação ou isoladamente, são considerados a melhor estratégia terapêutica para esta enfermidade (MYLONAKIS et al., 2001), objetivou-se com este trabalho avaliar a resposta terapêutica de cães com erliquiose de ocorrência natural, quando tratados exclusivamente com a doxiciclina, e quando esta é precedida por dipropionato de imidocarb.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a avaliação de dois protocolos de tratamento para erliquiose canina de ocorrência natural, foram constituídos dois grupos experimentais, de cães selecionados da casuística do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, da Universidade Estadual Paulista-UNESP, Campus de Jaboticabal, no período de Agosto a Dezembro de 2001.

A seleção dos animais do estudo baseou-se na presença de sinais clínicos freqüentemente verificados em cães com erliquiose, como apatia, hiporexia, epistaxe, fraqueza, hematoquesia, melena, uveíte, febre, secreção ocular, apresentados em conjunto ou isolados, além de presença de carrapatos e do achado hematológico de trombocitopenia. Adicionalmente, todos foram testados sorologicamente, através de teste imunológico dot-blot ELISA (Immunocomb® - Biogal Laboratories – Israel). Além disso, todos os animais apresentaram-se negativos à pesquisa de formas compatíveis com *Babesia* sp. e *Ehlichia* sp. no esfregaço de sangue periférico. Em quatro cães do

grupo G1 e em 5 cães do grupo G2, também foi feita dosagem de alanina amino-transferase, fosfatase alcalina e cretinina séricas antes do início do experimento.

Foram constituídos dois grupos experimentais, contendo nove animais cada. Em G1, foram incluídos animais com idades entre 10 meses e sete anos, pesando entre 13,6 a 50,0 kg, sendo cinco machos. Em G2, foram incluídos animais com idades entre nove meses a 18 anos e pesos de 8,0 a 44,3 kg, sendo seis machos. Em ambos os grupos foram incluídos animais de diferentes raças, assim como mestiços. Os animais foram aleatoriamente alocados em cada grupo Os animais de G1 foram tratados com doxiciclina , fornecida na dose de 5 mg/kg, por via oral, a cada 12 horas, por 21 dias. Os animais de G2 receberam doxiciclina na dose de 5 mg/kg, por via oral, a cada 12 horas, por 21 dias, além de dipropionato de imidocarb, em dose única de 5 mg/kg, por via sub-cutânea.

Antes da aplicação do dipropionato de imidocarb, todos os animais incluídos em G2 receberam sulfato de atropina, na dose de 0,044 mg/kg, também por via subcutânea, visando abolir ou minimizar possíveis efeitos colaterais colinérgicos da droga.

Após o período de 21 dias, todos os animais tiveram o quadro hematológico reavaliado, a fim de se observar variação nos valores de eritrócitos, leucócitos e trombócitos.

Cada um destes parâmetros foi submetido à análise estatística pelo teste de T, para determinar se houve diferença significativa quando se compara o valor pré e pós-tratamento de cada parâmetro individualmente. Adicionalmente, também se procedeu a mesma análise estatística comparando-se os valores individuais pós-tratamento entre ambos os grupos, para determinar se as diferenças ocorriam entre G1 e G2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dosagem de alanina amino-transferase, fosfatase alcalina e cretinina séricas realizada antes do início do experimento em quatro cães do grupo G1 e em cinco cães do grupo G2 mostrou que tais parâmetros bioquímicos encontravam-se dentro da faixa de normalidade para a espécie canina.

Após os 21 dias de tratamento, todos os animais de G1, tratados exclusivamente com doxiciclina, apresentaram melhora clínica, fato este que corrobora Barr (1997) e Harrus et al. (1998), que indicam tal fármaco como a tetraciclina de escolha para o tratamento da erliquiose canina. De forma similar, os animais de G2, que foram tratados com a doxiciclina, precedida do dipropionato de imidocarb, também apresentaram excelente melhora clínica, confirmando achados de Price & Dolan (1980) e Sanchez-Carmona (2001). Por outro lado, em estudo realizado por Van Heerden & Van Heerden (1981), a utilização do imidocarb isoladamente resultou em ineficácia do tratamento.

Verificou-se melhora dos parâmetros hematológicos analisados em todos os animais, com destaque especial para o número de trombócitos (Tabela 1), confirmando os achados anteriores de Sainz et al. (2000).

Tabela 1 – Médias e desvios padrão dos eritrócitos (x10^6 células/μL), leucócitos (x10^3 células/μL) e plaquetas (x10^3 /μL), antes e depois dos tratamentos empregados nos grupos tratados com doxiciclina (G1) e doxiciclina e imidocarb (G2).

Grupos	Eritrócitos Antes	Eritrócitos Depois	Leucócitos Antes	Leucócitos Depois	Trombócitos Antes	Trombócitos Depois
G1	5,511±1,462	5,717±0,710	8,029±1,819	9,586±2,308	55,857±20,522	253,140±62,574
G2	4,753±1,578	5,248±1,512	10,100±6,165	13,100±3,884	43,250±28,903	246,880±59,266

Os dados foram submetidos a análise estatística pelo teste T, e observou-se significativa ($P<0,0001$) somente a variação da médias dos valores pré e pós-tratamento dos trombócitos, tanto em G1 quanto em G2. Tal variação é condizente com estudo de Matthewman et al. (1994) e Sainz et al. (2000), que observaram um incremento na contagem dos

trombócitos após tratamentos similares. Ao se comparar os resultados pós-tratamento deste parâmetro entre os grupos, observou-se que as médias não diferiram entre si (P=0,8303). Sendo assim, a adequada resposta terapêutica, com aumento significativo da contagem de trombócitos, ocorreu independe do tratamento empregado nos grupos G1 e G2, similarmente ao verificado por Sainz et al. (2000).

Assim, em cães onde a administração deste fármaco torna-se inadequada, como em hepatopatas, a terapia desta enfermidade poderá ser conduzida exclusivamente com a doxiciclina, uma vez que os resultados são similares àqueles observados quando o imidocarb é utilizado conjuntamente. Por outro lado, vale ressaltar que dada a possibilidade de transmissão de outras hemoparasitoses, como a babesiose canina, poder ser feita pelo repasto sanguíneo do mesmo vetor, é importante excluir esta e outras enfermidades, uma vez que a não utilização do imidocarb em tais situações, poderia comprometer a eficácia do tratamento empregado.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados, é possível inferir que a melhora dos animais incluídos neste estudo ocorreu independentemente do tratamento empregado, tornando-se desnecessário utilizar doxiciclina e imidocarb em conjunto para o tratamento da erliquiose canina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEYANJU, B.J.; ALIU, Y.O. Chemotherapy of canine ehrlichiosis and babesiosis with imidocarb dipropionate. **Journal of the American Animal Hospital Association,** v.18, p.827-830, 1982.

AMYX, H.L. et al. Therapeutic and prophylactic value of tetracycline in dogs infected with the agent of tropical canine pancytopenia. **Journal of the American Veterinary Medical Association,** v.159, n.11, p.1428-1432, 1971.

ANDEREG, P.I.; PASSOS, L. M. F. Erliquiose canina – revisão. **Clínica Veterinária,** v.4, n.18, p. 31-38, 1999.

ANDRADE, S.F.; SANTARÉM, V.A.. Endoparasiticidas e ectoparasiticidas. In: ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2.ed.: Roca: São Paulo, 2002. cap.18. p.437-476.

BARR, S.C. Ehlichiosis. In: TILLEY, L.P.; SMITH JR.; F.W.K. **The 5 minute veterinary consult**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1997. p.538-539.

CODNER, E.C.; FARRIS-SMITH, L.L. Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.189, p.47-50, 1986

COHN, L.A. Ehrlichiosis and related infections. **The Veterinary Clinics Small Animal Practice,** v.33, p.863-884, 2003.

DAGNONE, A.S. **Soroepidemiologia e avaliação citológica e molecular da infecção por Ehrlichia sp. em cães de uma população hospitalar.** Londrina, 2002. 114p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, 2002.

DAGNONE, A.S. et al. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in South Brazil. **Veterinary Parasitology,** v.117, p.285-290, 2003.

ENG, T.R.; GILLES, R. Zoonosis update: ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association,** v.194, n.4, p.497-500, 1989.

GOSSET, K.A.; GAUNT, S.D.; AJA, D.S. Hepatozoonosis and ehrlichiosis in a dog. **Journal of American Animal Hospital Association,** v.21, p.265-267, 1985.

HARRUS, S.; BARK, H.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: an update. **Compendium of Continuing Education Practice Veterinary**, v.19, n.4, p.431-444, 1997.

HARRUS, S. et al. Therapeutic effect of doxycycline in experimental subclinical canine monocytic ehrlichiosis: evaluation of a 6-week course. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 36, n. 7, p. 2140-2142, 1998.

HIBLE, S.C.; HOSKINS, J.D.; GREENE, C.E. Rickettsial infections in dogs. Part II. Ehrlichiosis and infectious cyclic trombocytopenia. **Compendium of Continuing Education in Practice Veterinary,** v.8, n.2. p.106-115, 1986.

KONTOS, V.I.; ATHANASIOU, L.V. Use of enrofloxacin in the treatment of acute canine

ehrlichiosis. **Canine Practice,** v.23, n.3, p.10-14, 1998.

KUEHN, N.F.; GAUNT, S.D. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, n. 4, p.355-358, 1985.

MADIGAN, J.E. Questions diagnosis of ehrlichiosis (letter). **Journal of the American Veterinary Medical Association,** v.190, p.244-245, 1987.

MATTHEWMAN, L.A. et al. Further evidence for the efficacy of imidocarb in the treatment of Ehrlichia canis infection. **Journal of South African Veterinary Association,** v.65, n.3, p.104-107, 1994.

MYLONAKIS, M.E.; BILLINIS, C.; KOUTINAS, A.F. An update on canine ehrlichiosis. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society,** v.52, n.3, p.176-186, 2001.

PRICE J.E.; DOLAN, T.T. A comparison of the efficacy of imidocarb dipropionate and tetracycline hydrochloride in the treatment of canine ehrlichiosis. **Veterinary Record,** v.107, n.12, p.275-277, 1980.

SAINZ, A. et al. Prospective comparative study of 3 treatment protocols using doxycycline or imidocarb dipropionate in dogs with naturally occurring ehrlichiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine,** v.14, n.2, p.134-139, 2000.

SANCHEZ-CARMONA, A. Tratamiento de la ehrlichiosis. **Canis et Felis,** n.51, p.57-63, 2001.

STILES, J. Canine rickettsial infections. **Veterinary Clinics of North America**, v.30, n.5, p. 1135-1149, 2000.

TARELLO, W. Canine granulocytic ehrlichiosis. **Acta Veterinaria Hungarica,** v.51, n.1, p.73-90, 2003.

TROY, G.C.; FORRESTER, S.D. Canine ehrlichiosis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat.** Philadelphia: Saunders, 1990, p.404-414.

VAN HEERDEN, J.; VAN HEERDEN, A. Attempted treatment of canine ehrlichiosis with imidocarb dipropionate. **Journal of South African Veterinary Association,** v.52, n.3, p.173-175, 1981.

VAN HEERDEN, J.; REYERS, F.; STEWART, C.G. Treatment and thrombocyte leves in experimentally induced canine ehrlichiosis and canine babesiosis. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research,** v.50, p.267-270, 1983.

WADDLE, T.R.; LITTMAN, M.P. A restrospective study of 27 cases of naturally occurring ehrlichiosis. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.24, p.615-620, 1988.

ISSN 1676-9732

COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA DE CARRAPATICIDAS EM TESTES A CAMPO COM O TEMPO DE IMERSÃO "IN VITRO"

EFFICACY COMPARISON OF ACARICIDES ON FIELD TESTS WITH THE IMMERSION TIME "IN VITRO"

Antonio Pereira de Souza[1], Valdomiro Bellato[1], Amélia Aparecida Sartor[1], Alexandro Kolling[2]

Recebido em: 23/02/2005; aprovado em: 25/05/2005.

RESUMO

Neste trabalho procurou-se verificar o tempo de imersão de teleóginas em testes "*in vitro*", que apresentava melhor correlação com a eficácia dos carrapaticidas a campo. Foram utilizados os carrapaticidas: amitraz a 0,025%, cipermetrina a 0,01%, alfametrina a 0,005% e deltametrina a 0,0025% em diferentes tempos de imersão (2,5, 5 e 10 minutos). Para o teste a campo, foram utilizadas teleóginas coletadas de bovinos uma hora após o banho com os carrapaticidas (exceto amitraz que foi de 30 minutos). Os dados foram analisados estatisticamente através do teste de Kruskal-Wallis a 0,05% de significância. As percentagens médias de eficácia foram: do amitraz, 99,47%, 98,86%, 99,95% e 95,34%; da cipermetrina, 67,70%, 82,64%, 84,95%, e 70,16%; da alfametrina, 97,24%, 100%, 99,98% e 92,68% da deltametrina, 99,89%, 100%, 99,73% e 70,10%, respectivamente para os tempos de imersão de 2,5, 5, 10 minutos e no teste a campo. Não se evidenciou diferença estatística entre os tempos de imersão de 5 e 10 minutos nos quatro carrapaticidas. Houve diferença entre 2,5 e 10 minutos para a cipermetrina. Na comparação da eficácia do teste de campo com os tempos do teste de imersão "in vitro" verificou-se diferença em pelo menos um deles, em todos os carrapaticidas.

PALAVRAS-CHAVE: *Boophilus microplus*, eficácia de carrapaticidas.

SUMMARY

The aim of this study was to verify by tests "in vitro" the immersion time of engorged female that showed better correlation with the efficacy of the acaricides on field tests. The following acaricides were used: 0,025% amitraz, 0,01% cypermethrin, 0,005% alfamethrin, and 0,0025% deltamethrin in different immersion times (2,5; 5; 10 minutes). For the field test, engorged female collected from bovine one hour after dipping them with the acaricides were used (except amitraz, that was 30 minutes). The data were analyzed statistically using the Kruskal- Wallis test at 0.05% of significance. The average percentage of efficiency was: amitraz 99.47%, 98.86%, and 99.34%; cypermethrin 67.70%, 82.64%, 84.95%, and 70.16%; alfamethrin 97.24%, 100%, 99.98%, and 92.68%, deltamethrin 99.89%, 100%, 99.73%, and 70.10%; respectively, to the immersion time of 2.5, 5, 10 minutes and the field test. There was no statistic difference between the immersion times of 5 and 10 minutes in all the four acaricides. There was difference between 2.5 and 10 minutes for cypermethrin. The comparison between field test efficiency and "in vitro" immersion time test" showed differences in at least one of them, for all the acaricides.

KEY WORDS: *Boophilus microplus*, acaricides efficiency.

INTRODUÇÃO

A resistência do *B. microplus* aos carrapaticidas é usualmente reconhecida pela constatação após tratamentos, de ínstares sobre os animais tratados, ocorrendo, muitas vezes por falhas nas instalações, preparação ou aplicação do

[1] Professor, Méd. Vet, PhD – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Tecnologia. Curso de Medicina Veterinária. Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV. Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC. Av Luiz de Camões 2090, CEP. 88520-000. E-mail a2aps@cav.udesc.br

[2] Aluno do Curso de Medicina Veterinária - CAV/UDESC - Bolsista de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq

carrapaticida. Wharton (1967) afirmou que cepas resistentes a acaricidas aparecem por seleção e recombinação de genes resistentes em população de carrapatos expostas a pressão de seleção por um inseticida. O comportamento das estirpes frente aos diferentes produtos, pode ser aferido usando-se os testes "in vivo" através do banho no animal parasitado, ou "in vitro" usando principalmente teleóginas, todavia, sem uma padronização do tempo de imersão.

Ault (1948) realizou ensaios duplicados e independentes com imersão de *B. microplus,* nos tempos de 15, 30, e 45 segundos, 1, 2 e 5 minutos utilizando cinco teleóginas por placa e verificou que os resultados favoreceram ligeiramente os tempos maiores. Carvalho (1974) estudou a influência do tempo de imersão em ethion sobre teleóginas de *B. microplus*. Utilizou os tempos de 1, 2, 4, 8 e 16 minutos para cada concentração (0,00625%; 0,0125%; 0,025%; 0,05%; 0,1% e 0,2%) do carrapaticida. Constatou que o tempo de imersão influi no fenômeno de postura de teleóginas especialmente quando usadas concentrações menores do que 0,05%. Observou ainda que a medida que aumentou o tempo de imersão, diminuiu o valor da dose mínima eficaz. Gonzales et al. (1975) trabalhando com teleóginas, concluíram que a dose mínima eficaz de ethion, no tempo de imersão de 1 minuto, coincide com a dose comercial indicada.

Palmer (1976), em testes de imersão com ethion, concluiu que o tempo de imersão foi o único fator significativo, quando comparado com o tamanho e a idade dos carrapatos, temperatura do acaricida, temperatura do período de incubação, pré-tratamento e tempo de incubação. Amaral (1993) comentou sobre as técnicas para avaliar a eficácia de acaricidas. Entre as técnicas "in vitro" citou o teste com teleóginas, onde é mais utilizado o tempo de imersão de 2 a 5 minutos. Levantou várias questões, quanto a padronização das técnicas, entre as quais o melhor tempo de imersão e exposição a cada produto.

Mendes (1997), determinou o tempo mínimo de imersão para a concentração eficaz 50, (CE_{50}) utilizando a cepa "Mozo", em diferentes carapaticidas e verificou que flumethrin e cifluthrin apresentaram a partir de 5 minutos de imersão uma CE_{50} de 0,0054 ppm e 0,1043 ppm respectivamente. Deltamethrin e cipermethrin mostraram após 10 minutos de imersão uma CE_{50} de 0,6148 e 1,0605 ppm, respectivamente.

A necessidade de se conhecer melhor a correlação entre o tempo de imersão de teleóginas em carrapaticidas com a eficácia "in vivo" motivou o presente trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas cerca de 200 teleóginas, de bovinos naturalmente infestados, provenientes de uma propriedade de criação de bovinos para produção de carne, sem histórico de resistência à carrapaticidas. As teleóginas foram transportadas para o Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do Centro de Ciências Agroveterinárias, onde foram examinadas e selecionadas as de melhor vitalidade para formar 15 grupos com 10 espécimes, os quais foram pesados, identificados segundo o carrapaticida e tempo de imersão. Na propriedade foram formados quatro grupos de cinco bovinos para tratamento por aspersão.

Tratamento A: teste "in vitro" - cada grupo de teleóginas foi imerso em amitraz a 0,025%, cipermetrina a 0,01%, alfametrina a 0,05%, deltametrina a 0,0025% nos tempos de 2,5, 5 e 10 minutos, respectivamente. Após a imersão foram secas em papel absorvente, acondicionadas em placas de Petri, identificadas e mantidas em câmara climatizada na temperatura de 27±1°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Para cada tempo de imersão foi utilizado um grupo testemunha, imerso em água.

Tratamento B: teste a campo: cada grupo de bovinos foi banhado com cinco litros por animal, de solução de carrapaticida, nas mesmas diluições utilizadas no tratamento A. Após uma hora (exceto o amitraz 30 minutos) foram coletadas 10 teleóginas que também foram acondicionadas e mantidas nas mesmas condições descritas no tratamento A.

Para o teste a campo utilizou-se como testemunha o grupo imerso em água por cinco minutos.

Após 18 dias mensurou-se a massa de ovos de cada grupo em balança de precisão de 0,001g e