

Apoio: Mapa/SDE/CNPq, Capes, Fapemig.

Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Biomédicas,
Laboratório de Imunoparasitologia "Mario Endsfeldz Camargo"
Av. Pará, 1720, CEP 38402-030, Uberlândia, MG, Brasil.
E-mail: jrmineo@ufu.br

Aumento da competência científica e tecnológica no controle da *Neospora caninum* em bovinos na defesa agropecuária nacional*

Increase of scientific and technology competence to control *Neospora caninum* in cattle for agricultural national defense

Pereira, G. R.¹; Bohrer, R. C.¹; Nóbrega Junior, J. E.¹; Andrade Neto, O. A. S.¹; Rigo, M.¹; Rissi, V. B.¹; Toscan, G.²; Vogel, F. S. F.²; Oliveira, J. F. C.¹; Gonçalves, P. B. D.¹

A neosporose é uma enfermidade parasitária considerada como uma das principais doenças reprodutivas em animais domésticos de produção em todo o mundo. Grande parte das infecções em bovinos é originária da transmissão vertical. Sendo assim, os principais objetivos deste estudo foram: determinar a patogenia da infecção transplacentária em fêmeas bovinas inoculadas com *N. caninum*; padronizar as técnicas de extração de DNA do *N. caninum* utilizando-se diferentes tecidos obtidos de modelos experimentais; e implementar a técnica de qPCR para diagnóstico de neosporose e determinar a presença de *N. caninum* nas diferentes áreas do sistema nervoso e nos diferentes órgãos de fetos bovinos. Camundongos foram submetidos à inoculação de *N. caninum* e sacrificados para coleta de segmentos do sistema nervoso central para padronização das técnicas de detecção por PCR convencional. Para a obtenção do antígeno, taquizoítos da cepa NC-1 do *N. caninum* foram inoculados em cultivo de células Vero para multiplicação até alcançar um título aproximado de 1×10^7 taquizoítos/mL. Trinta vacas soronegativas ao protozoário foram alocadas em diferentes grupos: G1 (n = 9) inoculação com *N. caninum* e após 60 dias foram submetidos ao protocolo de IATF (60d + IATF); G2 (n = 11) inoculação com *N. caninum* 60 dias após a IATF (IATF + 60d); e G3 (n = 9) soronegativas para *N. caninum* submetidos a IATF (controle). Os animais foram monitorados por ultrassonografia 35 dias após IATF até a interrupção da gestação por cesárea aos 170 dias para a realização das análises do tecido fetal. As amostras fetais foram submetidas à extração de DNA para avaliação quantitativa da presença do *N. caninum* por qPCR com a utilização de uma sonda TaqMan desenhada a partir da sequência do gene Nc5 (GenBank: X84238). Como controle, foi utilizada a detecção através de PCR convencional, amostras de taquizoítos cultivados *in vitro* e IPC para a reação de presença/ausência pela técnica de TaqMan. As taxas de prenhez aos 35 dias dos animais previamente inoculados 60d + IATF (4/9; 44,4%) foram maiores do que no grupo-controle (8/9; 88,8%) ($P < 0,05$). Aos 60 dias, o grupo 60d + IATF (0/4; 0%) mostrou-se diferente quando comparado aos grupos IATF + 60d (5/7; 71,4%) e controle (6/8; 75,0%) ($P < 0,05$). Com a TaqMan foi observada a presença do DNA de *N. caninum* no bulbo olfatório e córtex posterior direito de 3/5 fetos provenientes do grupo inoculado após a IATF. Com esses resultados ficou demonstrado que a técnica de qPCR mostrou-se capaz de detectar o DNA do protozoário no SNC fetal. Conclui-se que houve infecção transplacentária nos animais inoculados após a IATF e que o protozoário *N. caninum* interferiu negativamente na gestação dos animais inoculados.

*Capes, CNPq.

¹Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Clínica de Grandes Animais, Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal, Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.
E-mail: gabrielrp@biorep.ufsm.br

²Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Laboratório de Doenças Parasitárias, Santa Maria, RS, Brasil.

Detecção de anticorpos anti *Neospora caninum* em amostras individuais e coletivas de leite de bovinos pela reação de imunofluorescência indireta*

Detection of antibodies against *Neospora caninum* in individual and bulk milk samples from cattle by the technique of indirect immunofluorescence assay

Camillo, G.¹; Pereira, G. R.²; Cezar, A. S.¹; Antonello, A. M.¹; Sangioni, L. A.¹; Flores, E. F.¹; Rosa, P. R. A.²; Muller, L.³; Gonçalves, P. B. D.²; Vogel, F. S. F.¹

Neospora caninum é um agente envolvido em perdas reprodutivas em bovinos. Essas manifestações induzidas pelo parasito causam relevantes prejuízos aos rebanhos de corte e leite. O diagnóstico dessa infecção é de grande importância, principalmente para programas de erradicação e controle. Sendo assim, os objetivos deste estudo foram: adaptar uma reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* no leite, a partir de uma RIFI padronizada para a detecção desses anticorpos no soro sanguíneo; analisar a concordância entre a detecção desses anticorpos pela RIFI no soro sanguíneo e no leite de fêmeas bovinas; e avaliar a viabilidade da RIFI para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em amostras coletivas de leite. Foram testadas amostras de soro sanguíneo e de leite, coletadas de 112 vacas em lactação, e seis amostras coletivas de leite, correspondentes a cada uma das propriedades avaliadas localizadas na região central do Rio Grande do Sul. As amostras de sangue foram coletadas por punção da veia coccígea e identificadas individualmente. As amostras de leite individuais foram coletadas de todos os animais em lactação, em tubos de ensaio estéreis. Em cada propriedade, foi coletada uma amostra coletiva de leite, 15 mL aproximadamente, do tanque refrigerado, o qual continha a totalidade do leite coletado das vacas avaliadas. A pesquisa de imunoglobulinas da classe G anti-*N. caninum* no soro sanguíneo e no leite foi efetuada pela RIFI. Encontrou-se 78% de concordância entre a detecção de anticorpos no soro sanguíneo (com título de anticorpos ≥ 50) e no leite, com sensibilidade de 90% e especificidade de 100% para a RIFI nas amostras de leite. Entretanto, para as vacas com títulos de anticorpos ≥ 100 no soro sanguíneo, tanto a concordância como os valores de sensibilidade e especificidade da RIFI no leite foram de 100%. Todas as amostras coletivas de leite foram positivas na RIFI. Isso demonstra que, conforme a propriedade, pode-se eleger com segurança qual a melhor abordagem diagnóstica a ser adotada em relação à coleta de soro sanguíneo ou de leite para a pesquisa de *N. caninum* pela RIFI. Além disso, a determinação da presença de anticorpos em amostras coletivas de leite pode servir para diagnóstico e triagem de rebanhos com animais infectados.

*Capes, CNPq.

¹Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Laboratório de Doenças Parasitárias Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

E-mail: giovanacamillo@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal, Departamento de Clínica de Grandes Animais, Santa Maria, RS, Brasil. ³Cosulati, Departamento Técnico, Pelotas, RS, Brasil.

O efeito da adubação com ureia em sistema rotacionado de pastagem no controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)

The effect of urea fertilization in rotational grazing system to control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini: 1888) (Acari: Ixodidae)

Wanderley, R.P.B.^{1**}; Ribeiro, A.C.C.L.²; Rodrigues, D.S.³; Cunha, A.P.¹; Bello, A.C.P.P.^{1*}; Barros, A.B.¹; Leite, L.B.¹; Resende, T.P.^{1***}; Leite, P.V.B.¹; Domingues, L.N.¹; Oliveira, P.R.¹; Leite, R.C.¹

O controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tem sido largamente realizado com carrapaticidas sintéticos e tem-se buscado alternativas de defensivos contra esse parasito. Neste estudo, foi avaliado o efeito da adubação de pastagens com ureia na infestação por *R. (B.) microplus* em bovinos leiteiros e na quantidade de tratamentos utilizados para seu controle. O estudo foi desenvolvido no período de abril/2009 a abril/2010, utilizando-se 20 vacas mestiças, mantidas em pastejo rotacionado, na Embrapa Gado de Leite, MG. Os animais foram divididos equitativamente em dois grupos experimentais e mantidos separados em duas áreas de piquetes adubados com e sem ureia. Utilizaram-se 25 piquetes de 400 m² para cada grupo e cada piquete foi pastejado por 24 horas. Os piquetes do grupo tratado, após a saída diária dos animais, recebiam 4,6 kg de ureia. O controle dos carrapatos foi realizado com carrapaticidas aplicados por aspersão, quando constatada a presença de partenóginas (fêmea ± 3 mm). As cargas parasitárias dos grupos foram avaliadas 14 e 21 dias após os tratamentos carrapaticidas. Os dados coletados foram divididos em quatro subgrupos para que fossem analisados por período: grupo 1 - animais dos piquetes tratados com ureia no período das águas (T1S1); grupo 2 - animais dos piquetes não adubados, no período das águas (ToS1); grupo 3 - animais dos piquetes tratados no período da seca (T1So); e grupo 4 - animais dos piquetes não adubados, no período da seca (ToSo). Os resultados da carga parasitária (mediana ± desvio-padrão) por grupo foram: T1S1: 120,00 ± 384,12 ToS1: 160,00 ± 989,40; T1So: 86,00 ± 673,57; ToSo: 148,00 ± 721,43. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as contagens medianas dos carrapatos dos grupos 1, 2 e 3. O resultado do grupo 4 foi igual ao dos grupos 1 e 2. Esses resultados indicaram que a maior umidade no período das águas atuou na redução da infestação, provavelmente devido ao aumento da hidrólise da ureia, portanto da ação tóxica da amônia (NH₃) sobre as teleóginas em vida livre. O número de tratamentos para o controle estratégico dos carrapatos foi igual nos dois grupos, porém o grupo controle recebeu três tratamentos táticos durante o período, quando a infestação foi superior a 20 teleóginas e/ou quando a infestação por ninfas foi muito alta. Foi possível inferir que o manejo adotado e a adubação com ureia reduziram a infestação e o número de tratamentos do grupo tratado. As observações continuam e são esperadas maiores diferenças nos ciclos seguintes.

*Bolsista DTI-3

**Bolsista DTI-3

***Bolsista ITI-A

Auxílio financeiro: CNPq.

Apoio: CNPq; INCT Informação Genético-Sanitária da Pecuária Brasileira.

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva

Av. Antônio Carlos, 6.627, CEP 31270-010, Belo Horizonte, MG, Brasil.

E-mail: rebyvet@gmail.com

²Embrapa Gado de Leite, Campo Experimental de Coronel Pacheco, Coronel

Pacheco, MG, Brasil. ³Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais,

Unidade Regional do Centro-Oeste de Minas Gerais, Fazenda Experimental

Santa Rita, Prudente de Moraes, MG, Brasil.

Efeito da adubação com ureia no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Effect of urea on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Cunha, A. P.¹; Bello, A. C. P. P.^{1**}; Domingues, L. N.¹; Leite, P. V. B.¹; Rodrigues, D. S.³; Wanderley, R. P. B.^{1*}; Barros, A. B.¹; Resende, T. P.^{1***}; Leite, L. B.¹; Ribeiro, A. C. C. L.²; Oliveira, P. R.¹; Leite, R. C.

Objetivou-se verificar o efeito da adubação com ureia sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, em sistema intensivo de produção de leite a pasto, com capim elefante (*Pennisetum purpureum* cv. Cameroon). O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Escola de Veterinária da UFMG, Igarapé, MG, de janeiro de 2010 a junho de 2011. As vacas em lactação, média de 80 animais de raça holandesa e mestiços holando/zebu, foram divididas em dois grupos: controle, mantido em sistema convencional de pastejo, e grupo tratado mantido em sistema intensivo com ocupação de um dia e adubação de cobertura com ureia. A área destinada ao grupo tratado era de 4 ha e dividida em 32 piquetes de 1.250 m². A lotação foi regulada de acordo com a oferta de forragem e do resíduo pós-pastejo. Procedeu-se a análise e correção do solo em ambas as áreas e a adubação com ureia foi realizada diariamente após a saída dos animais, nos períodos de janeiro a abril de 2010 e de outubro de 2010 a maio de 2011, na dosagem de 20 kg de ureia/piquete/dia. Para todas as categorias de bovinos da propriedade esquematizou-se controle estratégico contra *R. (B.) microplus*, de abril a julho de cada ano, com intervalo entre tratamentos determinado pela presença de fêmea semi-ingurgitada do carrapato de tamanho ≥ a 3 mm parasitando os animais. Mediante teste de suscetibilidade empregou-se a associação cipermetrina + clorpirifós + butóxido de piperonila na forma de banhos carrapaticidas. As contagens foram realizadas mensalmente, considerando-se as fêmeas ≥ a 3 mm parasitando o antímero direito dos animais, multiplicado por 2. Os resultados globais das contagens definiram uma média de 28, 14 fêmeas de *R. (B.) microplus* ≥ a 3 mm nas vacas do grupo controle e 6,66 nas vacas mantidas nas pastagens adubadas com ureia ($P < 0,001$). A lotação no grupo tratado atingiu o pico de 15 vacas/ha em fevereiro de 2011. Os animais do grupo controle receberam 19 tratamentos carrapaticidas ao longo do ano de 2010 e os animais do grupo tratado, 14 banhos. Nos seis primeiros meses de 2011 o grupo controle recebeu oito tratamentos carrapaticidas e o grupo tratado, sete aplicações. A lotação no grupo tratado atingiu o pico de 15 vacas/ha em fevereiro de 2011. Os resultados obtidos indicaram o efeito da ureia sobre a população de *R. (B.) microplus* e também demonstraram que a estratégia de tratamento mediante a presença de fêmea ≥ a 3 mm reduz a necessidade de banhos, racionalizando o uso de carrapaticidas e, conseqüentemente, o risco de resíduos no leite e a pressão de seleção de carrapatos resistentes.