

# Estudo de casos de aborto em caprinos e ovinos no estado de Pernambuco, Brasil

Márcia de Figueiredo PEREIRA<sup>1</sup>; Rinaldo Aparecido MOTA<sup>1</sup>, Rodolfo de Moraes PEIXOTO<sup>2</sup>; Rosa Maria PIATTI<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco. E-mail: marcia.pereira@dmv.ufrpe.br

<sup>2</sup> Médico Veterinário.

<sup>3</sup> Pesquisadora do Instituto Biológico de São Paulo

## RESUMO

Foram estudadas causas infecciosas de aborto em fetos caprinos e ovinos, em especial Aborto Enzoótico Ovino, *Toxoplasma gondii* e brucelose, no Estado de Pernambuco, Brasil. Utilizou-se 23 amostras de fetos, natimortos e neonatos procedentes de criatórios, a partir de 8 semanas de gestação, incluindo um neonato. Os fetos apresentavam-se em estado de autólise variável e 4 estavam em processo de mumificação. Os achados mais comuns foram: líquido serosanguinolento na cavidade torácica (17 - 73,91%), edema subcutâneo (10 - 43,48%), líquido serosanguinolento na cavidade abdominal (7 - 30,43%), no saco pericárdico (9 - 39,13%) e hemorragia subcutânea (8 - 34,78%). O achado histopatológico mais freqüente foi a reação do endotélio vascular, observada no pulmão (9/39,13%), além de coração, fígado, rim, baço e cérebro. Somente um feto (4,35%) apresentou lesões características de toxoplasmose. As amostras submetidas ao PCR foram negativas para *Chlamydophila* spp. No exame microbiológico das secreções vaginais foram identificadas *Streptococcus* spp. e *Escherichia coli* em uma matriz caprina e *Staphylococcus* spp. em outra. Não se isolou *Brucella* sp em nenhuma das amostras estudadas. A ausência da placenta na maior parte dos fetos examinados e o avançado estado de autólise dos fetos dificultaram o diagnóstico das causas de abortamento.

**PALAVRAS-CHAVE** Aborto, caprinos, ovinos, anatomia patológica, PCR.

## ABSTRACT

### Abortion in sheep and goats in Pernambuco State, Brazil - case study

Infectious causes of abortion associated to reproductive disorders in goat and sheep foetus were studied, in the State of Pernambuco, Brazil. Samples of 23 foetus, stillborn and newborn were procedent from goat and sheep raising flocks, from 8 of gestation, including a two weeks old newborn. Most foetus were autolized, and 4 (17.39%) were in mummifying process. The most frequent findings were the presence of serohaemorrhagic fluid in the thoracic cavity (17/73.91%), subcutaneous oedema (10/43.48%), presence of serohaemorrhagic fluid in the abdominal cavity (7/30.43%), in the pericardic sac (9/39.13%) and subcutaneous hemorrhageae (8/34.78%). Histopathologic findings included endothelium vascular reaction in the lungs (9/39.13%), but also in the heart, liver, kidney, spleen and brain. Only one embryo (4.35%) presented characteristic injuries of toxoplasmosis. All samples sent for PCR were negative for *Chlamydophila* spp. Microbiological examination of vaginal secretions identified *Streptococcus* spp. and *Escherichia coli* in a goat matrix. In another one, the isolation of *Staphylococcus* spp. was possible. *Brucella* sp was not isolated in any sample. Absence of placenta and advanced autolysis in most foetus made difficult diagnosing the causes of abortion.

**KEYWORDS** Abortion, goat, sheep, anatomopathology, PCR

## INTRODUÇÃO

A criação de ovinos e caprinos no Nordeste, apesar de representar uma importante atividade econômica, ainda apresenta um baixo desempenho produtivo e reprodutivo (Barros, 2004) em decorrência da falta de organização dos criadores, assistência técnica especializada e da precariedade do manejo higiênico-sanitário, acarretando sérios problemas sanitários (Vieira et al., 1998). O abortamento tem sido relacionado como uma importante falha reprodutiva, com uma taxa de 13,0 a 45,3%, capaz de causar grandes perdas econômicas (Silva e Silva, 1983; Leal et al., 1992; Poudevigne et al., 1988; Pinheiro et al., 2000). Contudo, ainda são escassos os trabalhos referentes às suas causas no Brasil.

As causas de aborto em ovinos e caprinos são numerosas e incluem agentes infecciosos como o *Toxoplasma gondii*, *Chlamydophila abortus*, *Brucella* spp., *Coxiella burnetii*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* sp., *Leptospira* sp. e vírus Border, entre outros (Nascimento e Santos, 2003; Pérez et al., 2003; Mo-bini et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi estudar as causas infecciosas de aborto associadas a distúrbios reprodutivos em fetos caprinos e ovinos do Estado de Pernambuco no Estado de Pernambuco, Brasil.

## MATERIAL E MÉTODO

As amostras utilizadas eram provenientes de propriedades do estado de Pernambuco. Foram utilizadas 23 amostras de fetos, natimortos e neonatos encaminhados ao DMV/UFRPE para diagnóstico. Os procedimentos de necropsia dos fetos e coleta de material foram executados de acordo com Perez et al. (2003).

Para estimar a idade dos fetos, natimortos e neonato, da espécie caprina, utilizou-se a fórmula CCC, onde  $28,8 + 0,37 \cdot X =$  idade em dias, sendo X a medida da base do crânio a base da

cauda (Souza, 2000). Para ovinos, a idade foi estimada, baseando-se em uma tabela descrita por Schwarze (1970). Também foram utilizadas as características de desenvolvimento cronológico descritas por Sivachelvan et al. (1996) para determinação da idade em semanas para ovinos e caprinos.

Durante a necropsia, foram coletados fragmentos de cérebro, cerebelo, pulmão, coração, baço, fígado, rim e placenta, quando disponível. As amostras foram fixadas em solução de formalina a 10% tamponada. Posteriormente, o material foi recortado e submetido à técnica rotineira de desidratação, diafanização e inclusão em parafina. Os blocos foram então cortados em micrótomo a 4 $\mu$ m, as lâminas foram coradas pela hematoxilina-eosina (Prophet et al., 1992).

Os achados histológicos foram classificados como ausentes, lesões não relacionadas, consistentes ou características para Toxoplasmose (Bueno et al., 2004) e clamidiose.

As amostras de cérebro, pulmão, coração, fígado, baço, rim e placenta foram colocadas em tubos de endorf, congeladas e encaminhadas ao Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo para detecção de *Chlamydophila abortus* pela técnica de Polimerase Chain Reaction (PCR) (OIE, 2000).

Algumas propriedades de onde os fetos haviam sido enviados foram visitadas e foram realizados exames clínicos, de acordo com Rosenberger (1993), em quatro ovelhas e 15 cabras com histórico de problemas reprodutivos. Também se coletou, em três cabras secreção vaginal purulenta, utilizando-se swabs estéreis que foram posteriormente encaminhados sob refrigeração ao Laboratório de Doenças Bacterianas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco para a realização de exames microbiológicos, para fins de diagnóstico diferencial.

As amostras para PCR (aproximadamente 2 gramas de cada fragmento de rim, coração, pulmão, fígado e baço) foram macerados conjuntamente no homogeneizador de forma a obter-se um “pool”. Este foi ressuspendido em tampão Tris-EDTA 0,1M pH 7.4 e armazenados a -20°C até o momento da extração do DNA. Placenta, carúncula, conteúdo torácico e conteúdo abdominal foram homogeneizados separadamente (OIE, 2000).

A extração do DNA foi realizada utilizando o reagente comercial DNAzol (Invitrogen) e o protocolo adaptado de Chomczynski (1993). Para diagnóstico da *Chlamydophila* spp., oligonucleotídeos iniciadores (primers) foram utilizados – região conservada do gene que codifica para a proteína omp-2 (Proteína de membrana externa – 60 KDa – rica em cisteínas), que corresponde a um fragmento de aproximadamente 587 pares de bases (Hartley et al., 2001).

CH1-5' ATGTCCAAA CTCATCAGA CGA G 3'

CH2-5' CCTTCTTTAAGA GGT TTT ACC CA 3'

Como controle positivo da reação foi utilizada a amostra de *Chlamydophila abortus* S26/3. Como controle negativo da reação foi utilizada a mistura da reação da PCR sem DNA, contendo 10µL de água ultra-pura (OIE, 2000).

O material proveniente da secreção vaginal foi cultivado em ágar base enriquecido com 8% de sangue ovino, ágar Levine e ágar Brucella. As placas foram incubadas a 37°C em aerobiose e microaerofilia, respectivamente por 24 a 72 horas. As colônias bacterianas isoladas foram estudadas quanto aos aspectos morfológicos e tintoriais pela técnica de coloração de Gram e identificadas utilizando-se provas bioquímicas (Carter, 1986).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram examinados 23 fetos, sendo 21 abor-

tos, um natimorto e um neonato. Destes, 18 (78,26%) eram caprinos e cinco (21,74%) ovinos. Onze (47,83%) eram machos e doze (52,17%) fêmeas. Os fetos mediam entre 50 e 435 mm, com média de 285,22 mm e idade estimada de 47 a 184 dias. Na espécie ovina, houve variação entre 405 e 435mm, correspondente às idades 126 e 133 dias, respectivamente. Todos os fetos examinados tinham acima de 8 semanas de gestação, sendo que 14 (60,9%) tinham entre 8 e 16 semanas, 8 (34,8%) tinham mais de 16 semanas e um neonato com duas semanas de nascido. Entre os fetos com mais de 16 semanas de gestação, um encontrava-se completamente formado e a termo (Tabela 1).

Estes achados estão de acordo com o que foi observado por Engeland et al. (1998) que relataram perdas fetais após os 90 dias de gestação em caprinos. No presente trabalho, de 21 abortos examinados, 20 (95,23%) tinham mais de 12 semanas de idade (Tabela 1).

No estado da Paraíba, as mortes perinatais foram estudadas e se observou que em cabritos e borregos, respectivamente, somente 1,69% e 4,44% ocorreram antes do parto e 16,94% e 10,0% ocorreram durante o parto. Acredita-se, no entanto, que os abortos sejam subestimados, pois são observados com frequência nas propriedades da região (Medeiros et al., 2005; Nóbrega Jr et al., 2005).

Ao exame macroscópico, a aparência dos animais foi classificada de acordo com o estado de conservação, sendo um (4,35%) considerado fresco, 4 (17,39%) parcialmente autolisados, 14 (60,87%) muito autolisados e 4 (17,39%) em processo de mumificação (Tabela 1). Estes números, embora a amostra não seja considerável, aproximam-se do que foi relatado por Engeland et al. (1998) que examinaram abortos em rebanhos caprinos na Noruega e relataram que 16% dos fetos apresentavam aparência fresca, 19% estavam mumificados em diferentes graus e 65% estavam decompostos.

TABELA 01 *Número dos fetos, natimortos e neonatos com respectiva espécie, sexo, tamanho, idade em dias e em semanas e aparência.*

Feto	Espécie	Sexo	Medida (mm) <sup>1</sup>	Idade (dias) <sup>2</sup>	Idade (semanas) <sup>3</sup>	Aparência
1	caprino	macho	235	116	12 a 13	Autolisado
2	caprino	fêmea	230	114	13 a 14	Autolisado
3	caprino	macho	265	127	13 a 14	pouco autolisado
4	caprino	macho	290	136	15 a 16	pouco autolisado
5	caprino	macho	350	158	17 a 20	Autolisado
6	caprino	fêmea	365	164	17 a 20	Autolisado
7	caprino	macho	275	130	15 a 16	Autolisado
8	caprino	fêmea	380	169	17 a 20	Autolisado
9	caprino	macho	370	166	16 a 17	Autolisado
10	caprino	macho	350	158	17 a 20	Autolisado
11	ovino	macho	435	133	17 a 20	pouco autolisado
12	ovino	fêmea	405	126	17 a 20	Autolisado
13	caprino	fêmea	400	-	02	fresco
14	caprino	fêmea	270	129	14 a 15	Autolisado
15	caprino	fêmea	250	121	14 a 15	Autolisado
16	caprino	fêmea	160	88	12 a 13	mumificado
17	caprino	ND	140	81	12 a 13	mumificado
18	caprino	fêmea	170	92	12 a 13	mumificado
19	caprino	macho	50	47	8 a 9	pouco autolisado
20	ovino	fêmea	215	108	13 a 15	mumificado
21	ovino	fêmea	270	129	14 a 15	Autolisado
22	ovino	macho	420	184	20 a 22	Autolisado
23	caprino	macho	265	127	13 a 14	Autolisado

<sup>1</sup> Medida entre a base da nuca e a base da cauda.

<sup>2</sup> Idade estimada pela fórmula  $CCC (28,8 + 0,37.X = \text{Idade em dias})$

<sup>3</sup> Idade estimada pelo desenvolvimento do feto, segundo Sivachelvan et al. (1996).

Os processos infecciosos septicêmicos, como os causados por *Salmonella* sp. ou *Listeria* sp., produzem degeneração, autólise e edemaciação dos fetos (Pérez et al., 2003). No entanto, a autólise observada na maioria dos animais examinados neste trabalho deve ser atribuída à demora na colheita e envio ao laboratório e má conservação dos fetos. Este é um fator limitante no diagnóstico das causas de aborto.

Na Tabela 2, estão resumidas as alterações macroscópicas observadas nos animais. O achado mais comum foi a presença de líquido sero-

sanguinolento na cavidade torácica, observado em 17 (73,91%) fetos, seguido do edema subcutâneo, verificado em 10 (43,48%) fetos. A presença de líquido serosanguinolento na cavidade abdominal e no saco pericárdico e a hemorragia subcutânea foram observadas em 7 (30,43%), 9 (39,13%) e 8 (34,78%) animais, respectivamente.

O fígado apresentou-se friável em 6 (35,29%) fetos caprinos como também em um (20,0%) ovino. De acordo com Riet-Correia & Mendez (2003), a presença de líquido sero-hemorrági-

**TABELA 02** *Achados de necropsia em fetos, natimortos e neonatos ovinos e caprinos, Recife, PE, 2006.*

N	ES <sup>1</sup>	LCT <sup>2</sup>	LCA <sup>3</sup>	LP <sup>4</sup>	HS <sup>5</sup>	HC <sup>6</sup>	HP <sup>7</sup>	Con <sup>8</sup>	Pne <sup>9</sup>	LH <sup>10</sup>	Mum <sup>11</sup>	S/A <sup>12</sup>
1	x	x										
2	x	x		x								
3												x
4				x	x	x						
5	x	x	x	x	x							
6		x										
7	x	x			x							
8	x	x			x							
9	x	x		x	x			x				
10	x	x	x		x							
11	x	x	x	x								
12							x			x		
13		x						x	x			
14	x	x	x	x	x				x			
15		x	x									
16											x	
17											x	
18		x									x	
19												x
20		x		x							x	
21	x	x	x		x							
22		x	x	x								
23		x		x								
	10 43,48%	17 73,91%	7 30,43%	9 39,13%	8 34,78%	1 4,35%	1 4,35%	2 8,70%	2 8,70%	1 4,35%	4 17,39%	2 8,70%

<sup>1</sup>ES = Edema subcutâneo; <sup>2</sup>LCT = Líquido na cavidade torácica; <sup>3</sup>LCA = Líquido na cavidade abdominal; <sup>4</sup>LP = Líquido pericárdico;

<sup>5</sup>HS = Hemorragia subcutânea; <sup>6</sup>HC = Hemorragia no coração; <sup>7</sup>HP = Hemorragia pulmonar; <sup>8</sup>Con = congestão de órgãos; <sup>9</sup>Pne = pneumonia;

<sup>10</sup>LH = lesão hepática; <sup>11</sup>Mum = mumificação; <sup>12</sup>S/A = sem alterações.

co nas cavidades torácica e abdominal e a autólise, principalmente no fígado e rim, além de ausência de sinais de viabilidade fetal, indicam que a morte ocorreu antes do parto. Portanto, a presença de líquido subcutâneo, nas cavidades e no pericárdio, pode ser uma alteração pós-morte no feto. Um fluido gelatinoso sanguinolento pode ser evidenciado no tecido subcutâneo após 96 horas. O hidrotórax é observado entre 24 horas até 144 horas após a morte do feto. A ascite inicia-se após 16 horas, adquirindo uma

coloração hemorrágica por volta das 72 horas e desaparece após 144 horas (Pérez et al., 2003). Portanto, estes achados podem estar relacionados a causas infecciosas de abortamento, como clamidiose, brucelose e campilobacteriose (Jones et al., 2000). Contudo, não são específicos para o diagnóstico da causa de aborto nos pequenos ruminantes.

Ao exame macroscópico, dois (8,7%) cabritos apresentaram pneumonia (Tabela 2). À histopatologia, foi observado infiltrado inflamatório no

**TABELA 03** Achados histopatológicos em pulmão, coração, fígado, rim e baço de fetos, natimortos e neonatos de caprinos e ovinos, Recife, PE, 2006.

N	Pulmão		Coração	Fígado					Rim			Baço		
	EV	In	EV	EV	Hi	De	In	NM	EV	Ci	De	EV	In	Dp
01		X	X						X	X			X	X
02	X		X		X	X								X
03	X	X			X	X	X		X			X	X	
04	X				X	X	X		X			X		
05	X	X												
06	X	X												
07								X						
08	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
09	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
10		X												
11				X		X	X							
12	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
13	X	X												
14	X	X				X								
15	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
16	X	X												
17	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
18	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
19	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
20	X													
21	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
22	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
23											X			

EV = endotélio vascular reativo; Hi = hiperemia; De = alterações degenerativas; In = infiltrado inflamatório; NM = áreas de necrose e mineralização; Ci = alterações circulatórias; Dp = depleção de células linfóides; A = autólise.

pulmão de oito (34,78%) fetos (Tabela 3). O infiltrado inflamatório é sugestivo de etiologia infecciosa, mas isoladamente é insuficiente para determinar o diagnóstico etiológico (Okana et al., 2003). Em pequenos ruminantes, a pneumonia é relatada em fetos abortados em consequência de infecção por *Campylobacter* ou *Leptospira* sp (Jones et al., 2003; Campero et al., 2005; Szeredi et al., 2006). A presença de problemas pulmonares não é rara como causa de morte em ovinos e caprinos. Medeiros et al. (2005), examinando 59 cabritos com infecção neonatal necropsiados na Paraíba, relataram que 12 apresentaram afec-

ções respiratórias (pleurite e broncopneumonia).

Ao exame microscópico, todos os fetos apresentaram algum grau de autólise em pelo menos uma das amostras colhidas. Em nove (39,13%) fetos, a autólise foi a única observação possível à histologia (Tabela 3). Isso acontece nesse tipo de material devido à morte ocorrer algum tempo antes do abortamento, como também ao longo período de tempo que o tratador leva até encontrar os fetos abortados nas pastagens (Okano et al., 2003).

Com relação aos achados do pulmão foram

**TABELA 04** Achados histopatológicos no cérebro de fetos, natimortos e neonatos de caprinos e ovinos, Recife, PE, 2006.

N	Cérebro				
	ES <sup>1</sup>	LCT <sup>2</sup>	LCA <sup>3</sup>	LP <sup>4</sup>	HS <sup>5</sup>
3	x	x	x	x	
4	x		x		
6	x		x		
7			x		x
8					
9					
12					
13		x	x		
22					
Total	3	2	5	1	1

<sup>1</sup> Ci = alterações circulatórias;

<sup>2</sup> EV = endotélio vascular reativo;

<sup>3</sup> Mg = reação de células microgliais;

<sup>4</sup> Tr = Presença de trombos;

<sup>5</sup> NM = áreas de necrose e mineralização.

\*As amostras de encéfalo dos fetos 1, 2, 5, 10, 11, 14 a 21 e 23 não pode ser processado devido ao avançado estado de autólise.

observadas reação do endotélio vascular, migração leucocitária, edema, hiperemia, pneumonia intersticial e degeneração da parede vascular, respectivamente em 9/23 (39,13%), 4/23 (17,39%), 1/23 (4,34%), 3/23 (13,04%), 3/23 (13,04%), 5/23 (21,74%). Esta última lesão também foi encontrada no coração de um caprino. No coração de 3/23 animais foi observada reação do endotélio vascular. No fígado, observou-se hiperemia, dilatação dos sinusóides, degeneração de hepatócitos e necrose seguida de calcificação em 2/23 (8,70%), 2/23 (8,70%), 4/23 (17,39%), 1/23 (4,34%), dos caprinos, respectivamente. Focos de hematopoese, considerados normais no feto, também foram vistos no fígado. No baço, foi visualizado depleção linfóide 2/23 (8,70%), reação do endotélio vascular 2/23 (8,70%) e infiltrado inflamatório em 2/23 (8,70%). Nos rins

foram encontradas áreas de hemorragia na cortical em 1/23 (4,34%), reação do endotélio vascular em 3/23 (13,04%) e degeneração de epitélio tubular em 1/23 (4,34%).

O achado histopatológico mais comum foi uma reação do endotélio vascular, observada no pulmão de nove (39,13%) fetos, mas também no coração, fígado, rim, baço (Tabela 3) e cérebro (Tabela 4). Onze (47,83%) fetos apresentaram alguma alteração histológica no pulmão, 6 (26,09%) no fígado, 3 (13,04%) no rim, 4 (17,39%) no baço (Tabela 3) e 4 (17,39%) no cérebro (Tabela 4).

A reação do endotélio vascular e a congestão encontrada em alguns dos órgãos, não têm muito significado para diagnóstico devido a sua inespecificidade (Jones et al, 2000). Porém, são eventos encontrados em processos inflamatórios, sendo, então, sugestivos de algum tipo de infecção.

Lesões hepáticas foram observadas em seis (26,08%) amostras, incluindo hiperemia em três (13,04%), alterações degenerativas em cinco (21,74%), infiltrado de células inflamatórias em três (13,04%) e focos de necrose e mineralização em um (4,34%). Em nove amostras (39,13%), o fígado já apresentava autólise avançada, impossibilitando a avaliação histológica.

A presença de alterações degenerativas caracterizadas por vacuolização citoplasmática dos hepatócitos e do epitélio tubular renal foi relatada em fetos normais e foi associada a acúmulo de glicogênio. Este achado é fisiológico e está relacionado ao desenvolvimento fetal. Por outro lado, necrose de hepatócitos e de túbulos renais também é relatada em abortos infecciosos (Okano et al., 2003).

A hepatite necrótica multifocal é uma lesão específica também do aborto por *Campylobacter* sp, mas não é uma lesão patognomônica. Alterações semelhantes ocorrem no aborto por *Listeria* sp (Kennedy e Miller, 1992).

No rim, além da reação do endotélio vascular

observada em três animais, alterações circulatórias foram identificadas em um animal. Outras nove amostras estavam muito autolisadas para exame histológico.

O rim e o fígado são órgãos que entram em autólise muito rapidamente, e, portanto, seu exame histológico é geralmente difícil ou impossível. Apesar disso, é importante realizar o exame destes órgãos, pois alguns agentes causadores de abortamento podem ser identificados neles, como a *Leptospira* sp. e outras bactérias (Acland, 1998).

A depleção linfóide com reação fagocitária é um sinal de processo inflamatório, sendo, além disso, identificada a degeneração de células linfóides e migração e marginação no baço, todos característicos de inflamação (Jones et al, 2000).

Os centros germinais esplênicos podem apresentar-se hipocelulares em estados hiperimunes, associados a processos infecciosos. Infecções maciças causam linfólise das células do centro folicular, com produção de debris nucleares e exposição das células reticulares dendríticas. Os fragmentos nucleares são rapidamente removidos e o centro folicular aparece vazio (Valli, 1992).

Em fetos bovinos normais, a ausência de folículos linfóides foi considerada como imaturidade do tecido linfóide, relacionada à idade do feto (Okano et al., 2003).

Em 14 (60,87%) animais, não foi possível realizar o processamento histopatológico do sistema nervoso central devido ao avançado estado de autólise, tornando o cérebro liquefeito (Tabela 4). Nos nove fetos onde o material estava viável para exame histológico foram observadas alterações circulatórias e reação do endotélio vascular em 3 (33,33%) e 2 (22,22%) fetos, respectivamente. Em cinco (55,55%) amostras foi observada reação de células microgliais. Em um feto que apresentava necrose com calcificação no cérebro também foi observada a mesma lesão

na placenta obtida juntamente com este feto. A microgliose, principalmente quando associada à necrose e mineralização, é relatada pelos autores em abortos por *T. gondii* e *Neospora caninum* (Dubey et al., 1990; Jenkins et al., 2002).

No cerebelo (3/17), além da congestão observada em um dos animais, também foram observadas áreas de hemorragia em dois animais e reação do endotélio vascular em um outro animal.

Em um feto, foi observado a presença de trombo intravascular no cérebro e no fígado, um achado também associado à infecção pelo *T. gondii* (Dubey et al., 1990).

Somente quatro fetos vieram acompanhados da placenta. Destes, dois apresentaram espessamento, áreas de necrose e mineralização, confirmado pelo exame histopatológico. Uma das placentas apresentou somente infiltrado inflamatório mononuclear (Tabela 5). A ausência da placenta para exames e diagnóstico tem sido incriminado por reduzir as possibilidades de diagnóstico das causas de abortamento (Plant et al., 1972; Pérez et al., 2003). Acredita-se que todos os agentes infecciosos causadores de aborto multiplicam-se e passam pela placenta em seu trajeto para o feto (Pérez et al., 2003). Muitos agentes infecciosos ocasionam alterações macroscópicas e microscópicas exclusivamente na placenta, como pode ocorrer nos casos de infecção por *Campylobacter jejuni* e *Coxiella burnetii* (Szeredi et al., 2006). A *Chlamydophila abortus*, *Coxiella burnetii* e *Brucella* sp ocasionam as lesões mais significativas na placenta (Molello et al., 1963; Pérez et al., 2003). Para o diagnóstico do *T. gondii*, a placenta é um dos materiais preferidos para o exame histopatológico (Bueno et al., 2004). Por isso, a ausência da placenta na maioria dos casos de abortamento estudados prejudicou o diagnóstico de suas causas.

Nos rebanhos acometidos pela toxoplasmose, observa-se o adiantamento da data prevista dos partos em um grupo de matrizes (partos prematuros) e o nascimento de animais debilitados e



pouco viáveis intercalados com partos normais e expulsão de fetos mumificados. Estes achados foram observados neste estudo, inclusive a mumificação fetal que é freqüente na espécie caprina (Barberan e Marco, 1997) e foi observada em dois fetos caprinos de gestação gemelar e procedentes de uma propriedade estudada, além de um outro caprino de gestação simples e um ovino. A mumificação do feto morto pode ser conseqüência de doenças genéticas, infecções virais e protozoários e insuficiências placentárias (Kennedy e Miller, 1992). Segundo Pérez et al. (2003), em pequenos ruminantes, a mumificação é observada principalmente em casos de abortamento por *Toxoplasma gondii* e pestivírus, mas deve-se fazer o diagnóstico diferencial com clamídia, Febre Q e vírus de Border (Mobini et al., 2004). Até o momento, a *Coxiella burnetii* e o vírus de Border não foram relatados no Brasil. A Clamídia, por outro lado, já foi isolada em búfalos (Freitas e Machado, 1988) e touros (Gomes et al., 2001) e há estudos sorológicos demonstrando a presença da infecção em ovinos e caprinos (Piatti et al., 2006).

As lesões anátomo e histopatológicas foram classificadas de acordo com descrições prévias dos achados na Toxoplasmose (Bueno et al., 2004; Pérez et al., 2003), em inespecífica ou ausente, compatível ou característica de toxoplasmose fetal. Somente um feto (4,35%) apresentou lesões características de toxoplasmose, caracterizada por áreas focais de necrose e mineralização com infiltrado inflamatório circunjacente no encéfalo, placenta e fígado (Feto no. 7). Cinco (21,74%) fetos apresentaram alterações consideradas compatíveis com toxoplasmose, sendo 4 mumificados e um com foco de necrose e mineralização na placenta e no encéfalo, embora não tenha sido realizado outros testes laboratoriais para confirmar a presença de formas parasitárias nos tecidos examinados. Por outro lado, foram encontrados 26,4% de sororeagentes para *T. gondii* nos rebanhos de onde alguns fetos eram

provenientes. Este achado associado às lesões histopatológicas compatíveis com este protozoário, faz suspeitar da participação deste agente como causa de aborto em caprinos e ovinos na região estudada.

As lesões típicas observadas em placentas infectadas pelo *T. gondii* são focos de inflamação e necrose localizados exclusivamente nos cotilédones, enquanto que as áreas intercotiledonárias geralmente não estão afetadas. Esses focos são brancos, calcários e geralmente múltiplos e encontrados somente na metade das placentas afetadas (Barberan e Marco, 1997). Neste trabalho, encontrou-se lesão de necrose e calcificação em cérebro e placenta de um feto caprino abortado (Figuras 3 e 4). Estes achados, nestas duas estruturas, são sugestivos da infecção pelo *T. gondii*, no entanto, para o diagnóstico desta enfermidade, outros exames laboratoriais seriam necessários, tais como, isolamento do parasita através de inoculação intraperitoneal em camundongo, imunohistoquímica e PCR.

Dois fetos (4 e 12) apresentaram lesões macroscópicas compatíveis com a infecção por clamídia, caracterizadas por hemorragias no miocárdio e no pulmão (Jones et al, 2000; Szeredi et al., 2006). No aborto por clamídia, os principais achados macroscópicos na placenta são focos de necrose nos cotilédones, espessamento do córion com formação de pseudomembranas amarelo acinzentadas e no feto ascite, edema subcutâneo, líquido avermelhado nas cavidades, petéquias no coração e pulmões e manchas amareladas no fígado. À histopatologia, as áreas de necrose dos cotilédones estão cercadas por infiltrado focal e difuso de neutrófilos e plasmócitos, degeneração vascular hialina na placenta e infartos esplênicos, dilatação dos capilares e extravasamento de sangue (Caro et al., 2003), necrose de coagulação no fígado, com infiltrado mononuclear, no feto (Kennedy e Miller, 1992). As lesões histológicas encontradas no material estudado não foram, portanto, suficientes para associar os abor-

tamentos a este agente.

Neste estudo, 10,3% das amostras de caprinos e ovinos examinadas para a pesquisa de anticorpos anti-*Chlamydomphila* sp. foram sororeagentes. Contudo, apesar da infecção estar presente em alguns dos rebanhos de onde foram colhidos os fetos, não se pode atribuir os casos de aborto a esse agente, uma vez que 100% das amostras foram negativas na pesquisa do DNA da bactéria. Considerando que apenas duas amostras de placenta foram incluídas neste teste e que, na maioria dos casos, a infecção por clamídia está restrita à placenta, permanecendo o feto livre de infecção (Szeredi et al., 2006), a clamidiose não pode ser completamente descartada como uma das possíveis causas de abortamento entre os animais estudados.

Os fetos 5 e 6 eram procedentes de uma propriedade do município de Vicência, onde foram realizados exames clínicos, microbiológicos e sorológicos em cabras que haviam abortado. Uma cabra que havia parido dois cabritos natimortos e um vivo dois dias antes do exame, apresentava corrimento vulvar sanguinolento. O exame bacteriológico do material isolou *Streptococcus* sp e *Escherichia coli*. Esta cabra apresentou sorologia negativa para clamídia e brucela e positiva para *Toxoplasma gondii*, porém com título baixo (1:64).

O animal 13, um neonato de 2 semanas de vida, era proveniente de uma propriedade onde havia animais sorologicamente positivos para clamídia e toxoplasma. Em visita à propriedade, foi examinada uma cabra com corrimento vulvar catarral, de onde foi isolado *Staphylococcus* sp. Esta mesma cabra apresentou sorologia positiva para clamídia (1:32) e para toxoplasma (1:256). Não se isolou *Brucella* sp em nenhuma das amostras estudadas.

Os agentes infecciosos foram considerados uma causa menos importante de aborto em alguns trabalhos. Engeland et al. (1998) relatou não haver conseguido isolar agente infeccioso

em 95% de abortos examinados. Nos demais fetos, isolou-se *Listeria monocytogenes*, inclusive de descargas vaginais de uma cabra. Os autores também relacionaram casos de aborto a sorologia positiva para *T. gondii*, mas não encontraram evidência de infecção por *Neospora caninum* ou *Chlamydomphila abortus*.

Algumas bactérias como *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas* sp, *Staphylococcus* spp. e *Arcanobacterium pyogenes*, podem estar eventualmente envolvidos em casos esporádicos de abortos nestas espécies. Contudo, estas bactérias são muito ubíquas no meio ambiente e geralmente não se associam a surtos de abortos. Considerando os resultados obtidos neste estudo quanto ao isolamento de bactérias como *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp. da mucosa vaginal de matrizes da espécie caprina que apresentavam histórico de aborto, não é possível confirmar o envolvimento destas bactérias, uma vez que segundo Kirkbride (1990), para confirmar a participação destas bactérias em casos de abortos nestas espécies é necessário que seu isolamento ocorra em cultivo puro e que este esteja associado a lesões purulentas na placenta ou tecidos fetais. As bactérias foram isoladas em culturas puras, contudo não foi possível o estudo das lesões nos fetos e placenta para confirmar tal etiologia uma vez que quando da visita às propriedades, os fetos e placentas já não existiam mais. Esse fato é muito freqüente no campo, dificultando na grande maioria das vezes a obtenção de amostras adequadas para o estudo etiológico dos casos de abortos.

Quanto ao aborto por *Brucella* sp, os resultados deste estudo descartam a participação desta bactéria nas falhas reprodutivas nas propriedades estudadas, uma vez que todos os animais testados independente de terem abortado ou não, foram negativos aos testes sorológicos utilizados no diagnóstico da infecção. Outro achado clínico freqüentemente relatado na brucelose ovina, além dos abortos, retenção de placenta e endo-

metrite nas fêmeas, é a epididimite nos machos que pode ser detectada pela palpação da cabeça, corpo e cauda do epidídimo (Blasco e Barberan, 1990). Contudo, este sinal clínico não foi observado ao exame clínico dos testículos dos reprodutores das propriedades visitadas, confirmando os achados dos exames sorológicos que excluem a doença nos rebanhos.

Outros fatores associados a ocorrência de aborto e não avaliados neste estudo, podem estar presentes e serem causa dos mesmos. Condições ambientais, como iluminação nos alojamentos dos animais e presença de concentrações altas de animais são relacionadas a ocorrência de aborto (Engeland et al., 1998). Segundo Medeiros et al. (2005) a maioria dos casos de morte perinatal está associada a falhas de manejo.

As causas nutricionais, metabólicas e tóxicas também podem estar implicadas na etiologia dos abortos (Mobini et al., 2004). Grande parte das criações de caprinos e ovinos em alguns estados da região Nordeste não possuem um manejo nutricional diferenciado para as fêmeas em final de gestação e lactação (Medeiros et al., 2005). Um alto percentual de aborto tem sido observado na época seca (Silva e Silva, 1983). Há, ainda, numerosas plantas na região que têm efeito abortivo, como *Aspidosperma pyrifolium* (“pereiro”) (Nóbrega Jr. et al., 2005).

Este é o primeiro estudo de casos de aborto em Pernambuco incluindo a tentativa de diagnóstico etiológico por métodos histológicos e PCR para *C. abortus*. A falta da placenta entre o material enviado e avançado estado de autólise das amostras contribuíram significativamente para que não fosse possível determinar o agente etiológico da maioria dos casos. Porém, pelo menos um feto enviado com a placenta apresentava características histopatológicas de aborto por *T. gondii*, o que alerta para a possível importância deste agente nos abortamentos em caprinos e ovinos, uma vez que o mesmo encontra-se disseminado nos rebanhos estudados nas Regiões da

Zona da Mata e Agreste Pernambucano.

## CONCLUSÃO

O *Toxoplasma gondii* está presente nos rebanhos de caprinos e ovinos e é um agente potencial do abortamento destas espécies. A participação da *Chlamydophila abortus* na ocorrência de abortos em ovinos e caprinos não deve ser descartada, apesar do agente não ter sido identificado nas amostras estudadas. O diagnóstico das causas de abortamento em caprinos e ovinos é limitado pela má conservação do material e porque ainda não há um hábito dos proprietários encaminharem a placenta junto com o feto ao laboratório. Os programas sanitários devem incluir a educação de criadores e trabalhadores que atuam em caprino e ovinocultura para que estes saibam qual o material adequado a ser enviado para diagnóstico, além de não deixar que restos de abortos contaminem o ambiente, perpetuando possíveis agentes infecciosos no rebanho.

## REFERÊNCIAS

- ACLAND, H.M. Sistema Reprodutor da Fêmea. In: Carlton, W.W.; McGavin, M.D. *PATOLOGIA VETERINÁRIA ESPECIAL DE THOMSON*, 2a. ed., p.541-572, 1998.
- BARBERAN, M.; MARCO, J.C. Patogenia, cuadro clínico y lesional-Toxoplasmosis. *Revista Ovis: Tratado de Patología y Produccion Ovina*, Madrid, n. 52, p. 35-49, septiembre 1997.
- BARROS, E.E.L. Considerações sobre a produção de caprinos e ovinos no Brasil. Disponível na Internet: <http://www.cico.rj.gov.br>, capturado em 25/05/2004.
- BLASCO, J.M.; BARBERAN, M. Epidemiologia, patogenia y cuadro clínico - Brucelosis. *Revista Ovis: Tratado de Patología y Producción Ovina*, Madrid, n. 8, p.25-32, mayo 1990.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Programa Nacional de Controle e erradicação da Brucelose e Tuberculose. Disponível na Internet: <http://www.agricultura.gov.br>, capturado em 10/07/2006, On line.
- BUENO, J.P.; GOZALO, A.Q.; PÉREZ, V.P.; GARCIA, G.A.; FERNÁNDEZ, E.C.; MORA, L.M.O. Evaluation of ovine abortion associated with *Toxoplasma gondii* in Spain by different diagnostic techniques. *Veterinary*

- Parasitology, v.121, n.1-2, p.33-43, 2004.
- CAMPERO, C.M.; ANDERSON, M.L.; WALKER, R.L.; BLANCHARD, P.C.; BARBANO, L.; CHIU, P.; et al. Immunohistochemical identification of *Campylobacter fetus* in natural cases of bovine and ovine abortion. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, v.52, n.3, p.138-141, 2005.
- CARO, M.R.; BUENDIA, A.J.; GALLEGU, M.C.; SALINAS, J. Patogenia y cuadros clínicos. *Ovis Aula Veterinaria (Clamidirosis)*, Madrid, n.37, p.23-39, 1995.
- CARTER, G. R. Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária. 1ª Ed. São Paulo: Roca, 1986. 249p.
- CHOMCZYNSKI, P. A reagent for the single step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cells and tissue samples. *Biotechniques*, v.15, p.532-537, 1993.
- DUBEY, J.P.; SONN, R.J.; HEDSTROM, O.; SNYDER, S.P.; LASSEN, E.D. Sorologic and histologic diagnosis of toxoplasmic abortion in sheep in Oregon. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.196, n.2, p.291-294, 1990.
- ENGELAND, I.V.; WALDELAND, H.; ANDRESEN, O.; LOKEN, T.; BJÖRKMAN, C.; BJERKAS, I. Foetal loss in dairy goats: an epidemiological study in 22 herds. *Small Ruminant Research*, v.30, n.1, p.37-48, 1998.
- FREITAS, J.A.; MACHADO, R.D. Isolamento de *Chlamydia psittaci* em búfalos abatidos para consumo em Belém, Pará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.8, n.3/4, p.43-50, 1988.
- GOMES, M.J.P.; WALD, V.B.; MACHADO, R.D.; SILVEIRA, M.C. Isolamento de *Chlamydia psittaci* em touros com vesiculite seminal, no Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*, v., n.119, p.43-46, 2001.
- HARTLEY, J.C.; KAYE, S.; STEVENSON, S.; et al. PCR detection and molecular identification of *Chlamydiaceae* species. *Journal of Clinical Microbiology*, v.39, p.3072-3079, 2001.
- IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Disponível na Internet: <http://www.sidra.ibge.gov.br>, capturado em 10/07/2006, On line.
- INNES, E.A. & REDONDO, M.I.R. Diagnostico. *Ovis Aula Veterinaria (Toxoplasmosis)*, Madrid, n. 52, p. 51-56, 1997.
- JENKINS, M.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C.; et al. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *International Journal for Parasitology*, v.32, n.5; p.631-636, 2002.
- JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. *Patologia Veterinária*, 6ª ed., São Paulo: Manole, 2000, 1415p.
- KENNEDY e MILLER, 1992. The Reproductive System. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. *Pathology of Domestic Animals*. 3a. ed., v.3, p. - . 1992.
- KIRKBRIDE, C.A. Laboratory diagnosis of livestock abortion. 3ª ed. Iowa State University Press 1990; 260 p. Ames.
- LEAL, T.M.; QUIRIN, R.; GUIMARÃES FILHO, C. Estudo do aborto caprino sob condições extensivas de criação no semi-árido baiano. *Pesquisa em Andamento CPATSA, Petrolina*, n.69, 3p. 1992.
- MEDEIROS, J.M.; TABOSA, I.M.; SIMÕES, S.V.D.; et al. Mortalidade perinatal em cabritos no semi-árido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.25, n.4, p., 2005.
- MOBINI, S.; HEATH, A.M.; PUGH, D.G. Teriogenologia de Ovinos e Caprinos. In: PUGH, D.G. *Clínica de Ovinos e Caprinos*. Ed. Roca. p.145-208. 2004.
- MOLELLO, J.A.; JENSEN, R.; COLLIER, J.R. et al. Placental pathology. III. Placental lesions of sheep experimentally infected with *Brucella abortus*. *American Journal of Veterinary Research*, v.24, n.102, p.915-922, 1963.
- NÓBREGA JR, J.E.; RIET-CORREA, F.; NÓBREGA, R.S. et al. Mortalidade perinatal em cordeiros no semi-árido da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.25, n.3, 2005.
- OKANO, W.; BRACARENSE, A.P.R.F.L.; REIS, A.C.F.; ALFIERI, A.A. Achados histológicos em fetos bovinos abortados e não abortados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootécnica*, Belo Horizonte, v. 55, n. 2, p. 223-225, 2003.
- PÉREZ, A. L.; MORENO, B.; ADURIZ, G. Necropsia y toma de muestras de abortos ovinos. *Revista Ovis: Tratado de Patología y Produccion Ovina*, Madrid, n. 86, p. 65-76, mayo 2003.
- PIATTI, R.M.; SCARCELLI, E.P.; GENOVEZ, M.E. Pesquisa de anticorpos anti-*Chlamydia* em caprinos e ovinos. *O Biológico*, v.68, sup.2 (19o. RAIB), p.138-140, 2006.
- PINHEIRO, R. R. et al., Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte – MG, v. 52, n. 5, p 534-543, 2000.
- PLANT, J.W.; BEH, K.J.; ACLAND, H.M. Laboratory findings from ovine abortion and perinatal mortality. *Australian Veterinary Journal*, v.48, p.558-561, 1972.
- POUDEVIGNE, F.; INÁCIO NETO, A.; CHARLES, T. P. Observações sobre epidemiologia dos abortos em caprinos do distrito de Massaroca, Juazeiro – BA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 21, 1988, Salvador – BA. Programa e anais... Salvador – BA: SBMV, 1988.
- PROPHET, E. B. ; MILLS, B. ; ARRINGTON, J. B. ; SOBIN, L. H. *Laboratory Methods in Histotechnology*. Washington, American Registry of Pathology, 1992.
- RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C. Mortalidade perinatal em ovinos In: RIET-CORREA, F. et al. *Doenças de ruminantes e eqüinos*. 2ª ed., v.2, São Paulo: Varela, 2001, cap. 6, p. 417-425.

- ROSENBERGER, G. Exame Clínico dos Bovinos. 3<sup>o</sup>ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, 419p.
- SCHWARZE, G.M. W. Embriologia veterinaria. Ed. Acribia, Zaragoza, 1970.
- SILVA, A.V.; CUNHA, E.L.P.; MEIRELES, L.R. et al. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soropidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.33, n.1, p.115-119, 2003.
- SILVA, M.U.D.; SILVA, E.D.F. Possíveis causas de aborto em caprinos. Diagnóstico, tratamento, Profilaxia. Comunicado Técnico EMBRAPA, Sobral, n.12, 11p. 1988.
- SIVACHELVAN, M.N.; ALI, M.G.; CHIBUZO, G.A. Foetal age estimation in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, v.19, p.69-76, 1996.
- SOUZA, D. M. B. Avaliação ultra-sonográfica do crescimento fetal em caprinos. Recife, 2000. 54p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária, Área de concentração: Reprodução Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- SZEREDI, L.; JÁNOSI, S., TENKE, M.; TEKES, L.; BOZSÓ, M.; DEIM, Z.; MÓLNÁR, T. Epidemiological and pathological study on the causes of abortion in sheep and goats in Hungary (1998-2005). *Acta Veterinaria Hungarica*, v.54, n.4, p. 503-515, 2006.
- VALLI, 1992. The Hemocitopoietic System. In: Jubb, KVF; Kennedy, P.C.; Palmer, N. *Pathology of Domestic Animals*, 3a.ed, v.3, p., 1992.
- VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R. ; XIMENES, L. F. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi-áridas do Nordeste. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 50p, 1998.