



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
Departamento de Medicina Veterinária
Campus Regional de Umuarama

PROF. DR. RODRIGO GARCIA MOTTA

ENTEROPATÓGENOS NAS ONFALOPATIAS DOS RUMINANTES

PROJETO DE PESQUISA

Umuarama
2025

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura é uma das principais atividades econômicas desenvolvidas no Brasil. O país possui um dos maiores rebanhos comerciais do mundo, com 213,5 milhões de bovinos (CPEA, 2019). Os dados oficiais remetem exclusivamente à pecuária a movimentação de R\$ 186,35 bilhões em 2018 e R\$ 192,24 bilhões em 2019 (MAPA, 2019). O potencial crescimento dessa atividade é balizado pelo número de bezerros nascidos, bem como, pela qualidade dos animais no momento da desmama, já que esta categoria será responsável pela futura manutenção da cadeia produtiva de carne ou leite, neste contexto, é oportuno enaltecer que são desmamados em média de 44,6 milhões de bezerros por ano no país (IBGE, 2019).

2.1 Aspectos gerais da bovinocultura e criação de bezerros

A bovinocultura é uma das principais atividades econômicas desenvolvidas no Brasil. O país possui um dos maiores rebanhos comerciais do mundo, com 213,5 milhões de bovinos (CPEA, 2019). Os dados oficiais remetem exclusivamente à pecuária a movimentação de R\$ 186,35 bilhões em 2018 e R\$ 192,24 bilhões em 2019 (MAPA, 2019). O potencial crescimento dessa atividade é balizado pelo número de bezerros nascidos, bem como, pela qualidade dos animais no momento da desmama, já que esta categoria será responsável pela futura manutenção da cadeia produtiva de carne ou leite, neste contexto, é oportuno enaltecer que são desmamados em média de 44,6 milhões de bezerros por ano no país (IBGE, 2019).

Assim, a fase de cria, popularmente chamada de criação de bezerros, ocupa posição de destaque, e a maneira como se realiza o manejo neonatal dos animais impacta diretamente sobre sua toda a sua vida produtiva e reprodutiva, seja para carne ou leite (BEAN et al., 2009, SCHECAIRA et al., 2018). Dessa forma, as enfermidades que acometem os bezerros recém-nascidos são de grande impacto, ocasionam prejuízos econômicos de grande ordem, pela elevada morbimortalidade, custos com tratamentos, assistência veterinária e menores desempenho zootécnico (BENESI et al., 2012).

As doenças neonatais em bovinos são multifatoriais e dependem da interação entre patógenos de origem infecciosa, deficiências higiênico-sanitárias na maternidade, falhas na colostragem e especialmente ineficácia na cura e desinfecção do umbigo (RENGIFO et al., 2006; MEGID et al., 2016; SHECAIRA et al., 2018).

O fornecimento de colostro de qualidade, em quantidade e nas primeiras 6 horas de vida, é ponto chave, para o estabelecimento da imunidade em bezerros e tem relação direta com a taxa de mortalidade até o momento da desmame, pois compete ao colostro suprir a

demanda energética, além de ser o responsável pela transferência toda a imunidade passiva (imunoglobulinas, leucócitos e citocinas) necessários para o bom desenvolvimento do recém-nascido (SHECAIRA et al., 2018). No presente cenário, a falha na transferência da imunidade passiva em bovinos, ainda é agravada por déficits na produção, pouca ingestão ou absorção insuficientes, que corroboram para elevar a incidência das enfermidades neonatais, como: onfalopatias, diarreias, broncopneumonias e septicemias (BENESI et al., 2012, CONSTABLE et al., 2016).

Conjuntamente a cura e a desinfecção umbilical são pontos chaves, quando se estabelece as boas práticas na maternidade em rebanhos, assim a elevada prevalência das afecções umbilicais em bezerros no Brasil. Vários estudos demonstraram que as onfalopatias respondem entre 28% até 42,2% dos diagnósticos clínicos em animais com até 30 dias de idade, seja para bezerros de corte e/ou leite, e representam 10% de todas as mortes de bezerros até os 8 meses de idade (LOPES et al., 2008; REIS et al., 2009, CONSTABLE et al., 2016). Assim as onfalopatias ou onfaloflebites causam muitas perdas econômicas nos sistemas de produção, aumentam a taxa de mortalidade dos bezerros e ainda retardam o crescimento de novilhas de reposição (SHECAIRA et al., 2018).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos anatomopatológicos do umbigo

O cordão umbilical ou o umbigo é uma estrutura complexa, responsável pela comunicação materno-fetal durante a vida intrauterina, é constituído prioritariamente por 4 estruturas, a saber: 2 artérias, projetadas na porção caudal, que se comunicam diretamente com as artérias ilíacas, que após o parto se tornaram os ligamentos redondos da bexiga; 1 veia localizada na região cranial, que se comunica diretamente com o fígado, que pós parto se tornará o ligamento o ligamento redondo do fígado e o úraco que está conectado diretamente à vesícula urinária (BENESI et al., 2012; CONSTABLE et al., 2016).

As onfalopatias representam o processo inflamatório e/ou infeccioso de qualquer estrutura umbilical. Esta afecção é caracterizada com um dos principais problemas de bezerros nos rebanhos brasileiros, e tem como fatores predisponentes: ambientes com excesso de matéria orgânica, deficiências higiênico e sanitárias na maternidade, traumatismos, partos distócicos, origem congênita e na grande maioria dos casos é agravada por patógenos de origem bacteriana (SHECAIRA et al., 2018), que em isolamento puro ou em associação comprometem todas as estruturas do umbigo (CONSTABLE et al., 2016).

Essas infecções podem resultar em septicemia, que ocorre devido bactérias que ascendem a partir dos vasos umbilicais ou do úraco causando septicemia aguda ou crônica com patologia articular, meningites, uveítes, abscessos hepáticos e endocardites (MEGID et al., 2016; SHECAIRA et al., 2018).

2.2 Etiologia

As onfalopatias, como descrito anteriormente, contemplam os processos não infecciosos (hérnias, síndrome do úraco persistente) e infecciosos (onfalites, onfaloflebites, onfaloarterites, onfaloartrites e onfalouraquites), estes últimos mais frequentes, e por isso, o foco deste estudo. Este cenário pode ser facilmente justificado, ao passo que, o cordão umbilical é amplamente exposto, o que propicia a entrada de patógenos por via ascendente, em especial quando ocorre falha nas boas práticas agropecuárias, juntamente com a incapacidade de transferência de imunidade passiva e deficiência no processo de cura e desinfecção do umbigo (STURION et al., 2013; BENESI et al., 2012).

Vários patógenos de origem foram isolados em casos de onfalopatias em animais, especialmente enterobactérias (*Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. e *Klebsiella* spp.), *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. *Pseudomonas aeruginosa* e esporadicamente actinomicetos, (*Nocardia* spp. e *Trueperella pyogenes*), entretanto, todos os estudos, até o presente momento, se limitaram exclusivamente a identificação fenotípica das bactérias, esses microrganismos em animais recém-nascidos, rapidamente evoluem para bacteremia,

septicemia e óbito, o que torna a identificação molecular do agente e a determinação do perfil de resistência uma importante ferramenta no diagnóstico, tratamento e determinação do prognóstico para tal síndrome clínica (RENGIFO et al. 2006; QUINN et al., 2011; RIBEIRO et al., 2015).

É oportuno enfatizar que a infecção dos vasos umbilicais ocorre de maneira ascendente (RENGIFO et al. 2006; RODRIGUES et al., 2010). Porém, são escassos os estudos sobre a ocorrência dessa enfermidade em bezerros criados nas diversas regiões do território nacional, que por sua extensão continental, apresenta grande variedade de condições climáticas e ambientais, de criação e de manejo (RODRIGUES et al., 2010).

Ainda na literatura consultada, não foram encontrados estudos com a identificação por proteomas para os microrganismos envolvidos nas onfalopatias de bezerro, e pouco se sabe a respeito de resistência múltipla aos antimicrobianos em linhagens bacterianas recuperadas de bezerros com diagnóstico de onfaloflebite.

2.3 Epidemiologia e fisiopatogenia

As onfalopatias em bezerros são frequentemente diagnosticadas em animais durante as primeiras 4 semanas de vida, e associa-se com a intensidade contaminação ambiental em que os animais são criados, em especial nas primeiras 12 horas após o nascimento; falhas na colostragem e a ausência ou a má do umbigo dos animais recém-nascidos são listados como fatores de risco para o desenvolvimento das onfaloflebites (MIESSA et al., 2002; BENESI et al., 2012). Existe uma relação inversamente proporcional entre o aparecimento de onfalopatias e bom manejo de bezerros. Quanto mais aberto, limpo, arejado e higienicamente tratado o ambiente dos recém-nascidos, menor é a ocorrência de afecções umbilicais (SHECAIRA et al., 2018).

Recente estudo, destacou que bezerros provenientes de propriedades leiteiras com umbigos não curados apresentaram taxa de mortalidade de 18%, enquanto que os animais criados nas mesmas condições, porém com umbigos desinfetados tiveram 7% de mortalidade até a desmama. Além de efeitos marcantes na taxa de mortalidade, o desenvolvimento de infecções de umbigo resultou em peso vivo 2,5 kg menor aos três meses de idade quando comparado a bezerros saudáveis (WIELAND et al., 2017).

Constable et al. (2016) destacaram que a onfaloflebite é uma importante doença dos bezerros, e responsável por grande parcela dos óbitos em animais antes de atingirem a fase adulta. Assim atribui-se as onfalopatias sérios transtornos econômicos aos proprietários, pois reduzem o ganho de peso diário, incrementam os gastos com medicamentos assistência veterinária, prejudicam o desenvolvimento dos bezerros e denotam no risco eminente de óbito em animais jovens (WINDEYER et al., 2014, ROBINSON, et al., 2015).

2.4 Sinais Clínicos

Os principais sinais de clínicos presentes nas onfaloflebites são: aumento de volume local, dor à palpação, elevação da temperatura na região, secreção purulenta, com odor pútrido (CONSTABLE et al., 2016). A dilatação ou espessamento do cordão umbilical comumente é caracterizada como a principal queixa por parte dos proprietários. (ROBINSON, et al., 2015). Em outros casos o umbigo pode estar seco e com o diâmetro maior do que o esperado, recordando que em bezerros saudáveis a espessura do cordão umbilical não deve ultrapassar a de um lápis (WIELAND et al., 2017).

Porém, alguns neonatos podem ter o umbigo exteriormente seco e de aspecto normal, mas, podem estar em toxemia e/ou sepse (ROBINSON, et al., 2015), devido a presença de bactérias que ascendem a partir dos vasos umbilicais ou do útero causando septicemia aguda ou crônica com comprometimento articular, meningites, uveítes, diarreias, pneumonias e abscessos múltiplos em especial no fígado e pulmões (WINDEYER et al., 2014).

Assim, sinais sistêmicos como: febre, apatia e letargia e desidratação podem acompanhar os quadros de afecções umbilicais, bem como, o histórico de baixo desempenho e emagrecimento crônico em função de falência de múltiplos órgãos pela presença dos abscessos (CONSTABLE et al., 2016). Quando há o envolvimento das articulações, em função do desenvolvimento de artrite ou poliartrite, os animais apresentam dificuldade na locomoção com claudicação. Nos casos em que ocorre somente o desenvolvimento dos abscessos, a identificação ocorre durante a necropsia (CONSTABLE et al., 2016).

A hérnia umbilical é outra condição patológica atribuída a deficiências no processo de cura e desinfecção do coto umbilical, com o ósteo dilatado pode-se produzir uma evasão do peritônio e partes externas da pele traduzindo-se externamente por aumento de volume. Embora as hérnias possam ser em resposta a traumatismos, principalmente coices, pisadas e ao transporte inadequado, a maior parte das vezes está relacionada com as infecções de umbigo que começam no local e imediatamente pós-parto (ROBINSON, et al., 2015).

2.5 Diagnóstico e Prognóstico

O prognóstico das afecções umbilicais pode ser estabelecido pela intensidade de comprometimento das estruturas adjacentes e as suas respectivas inserções em órgãos distantes como: fígado e pulmões (CONSTABLE et al., 2016), essa consideração é passo chave para a elaboração do plano diagnóstico e terapêutico (ROBINSON, et al., 2015). Assim o roteiro semiológico a ser seguido deve ser pautado em: anamnese, exame físico criterioso, com palpação direta e indireta da região umbilical e toda extensão do abdome, na sequência deve-se recorrer ao uso dos exames subsidiários e complementares (STEINER e LEJEUNE, 2009; ROBINSON, et al., 2015; SHECAIRA et al., 2018).

Além da identificação dos sinais inflamatórios compatíveis com as onfalopatias, conforme descrito anteriormente, o exame ultrassonográfico e a termometria podem auxiliar na avaliação do umbigo que se encontra com aparência próxima do normal (STEINER e LEJEUNE, 2009). O uso do perfil hematológico e bioquímico, podem sugerir o quadro septicêmico do neonato, ou como, alvo dos estudos mais recentes a caracterização das proteínas inflamatórias de fase aguda, podem antecipar o diagnóstico e em casos extremos recorre-se a laparotomia exploratória, esses são os principais exames complementares utilizados para o diagnóstico das afecções umbilicais em bezerros em diferentes países (SVENSSON et al., 2003; STEINER e LEJEUNE, 2009; ROBINSON, et al., 2015; SHECAIRA et al., 2018).

2.6.1 Caracterização das linhagens de *E. coli*

E. coli pertencente à família Enterobacteriaceae, apresenta forma de cocobacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos e pertence a microbiota normal da maioria dos mamíferos (RIBEIRO et al., 2016). Certas estirpes são patogênicas para humanos e animais. A patogenicidade do micro-organismo é atribuída a diferentes mecanismos de virulência que determinam o estabelecimento de infecções entéricas e extraentéricas (SUSSMAN, 1997; QUINN et al., 2011; SONGER e POST, 2005). Em animais de produção, companhia e selvagens, *E. coli* é relacionada a grande variedade de manifestações clínicas como diarreia, mastite, endometrite, cistite, nefrite, artrite, onfalopatias, abortamento, osteomielite, endocardite, pneumonia, conjuntivite, entre outras (RADOSTITIS et al., 2007; RIBEIRO et al., 2016). (MARWAH et al., 2015).

Os patótipos de *E. coli* relacionados com afecções entéricas (DEC) são classificados em tipos (classes), com base na produção de toxinas, capacidade de invasão celular e nas manifestações clínicas dos hospedeiros. De maneira geral, apresentam mecanismos de patogênese específicos nas células-alvo, sorotipos diferentes e estão associadas a infecções e síndromes comumente distintas: enterotoxigênicas – ETEC, enteropatogênicas – EPEC, enteroinvasoras – EIEC, enterohemorrágicas – EHEC, enteroagregativas – EAEC e de aderência difusa – DAEC (TRABULSI, 1999; SONGER e POST, 2005; QUINN et al., 2011; TRABULSI, 2015).

2.6.1 Multirresistência bacteriana aos antimicrobianos em infecções umbilicais de bezerros

A ocorrência de bactérias multirresistentes aos antimicrobianos é um problema emergente de ordem mundial, e figura dentre os problemas mais preocupantes atualmente para os profissionais de saúde no enfrentamento das doenças infecciosas em humanos (TRABULSI e ALTHERTUM, 2005; TAVARES, 2007) e animais (ANDRADE e GIUFFRIDA,

2008; GUARDABASSI et al., 2010; GIGUÈRE et al., 2010) no novo conceito de Saúde Única (“One Health”) [RIBEIRO et al., 2015]. Porém essa situação ainda não foi profundamente delimitada em infecções umbilicais de bezerros e restringem-se a pesquisas realizadas exclusivamente com onfalites em crianças (MARWAH et al., 2015).

O conhecimento do fenômeno de resistência bacteriana aos agentes químicos e físicos remonta desde a era microbiana. Ehrlich e colaboradores, em 1907, observaram que, com a introdução de substâncias químicas com finalidade de tratamento, poderia ocorrer resistência entre isolados da mesma população bacteriana. Após o advento do uso clínico das sulfonamidas em 1933 e, posteriormente, da penicilina em 1941, foi especulado que a bacteriana aos antimicrobianos poderia ocorrer de modo natural ou adquirido. Ao descobrir a penicilina em 1929, Alexander Fleming também verificou, paralelamente, a resistência natural de micro-organismos ao fármaco (TAVARES, 2007).

2.6.2 Mecanismos desenvolvimento Multirresistência bacteriana

A resistência aos antimicrobianos é um fenômeno genético. Está intimamente relacionado com a presença de genes do micro-organismo que codificam diferentes mecanismos bioquímicos capazes de impedir a multiplicação (bacteriostáticos) ou eliminar os micro-organismos (bactericidas) (TAVARES, 2007). O desenvolvimento de resistência pelos micro-organismos ocorre por via cromossomal (como resultado de mutações espontâneas) ou pela transferência de material genético e plasmídios de uma bactéria para outra. Entre os mecanismos de transferência, os mais conhecidos são a transdução (transferência de genes por bacteriófagos), transformação (incorporação de DNA liberado por outra bactéria), conjugação (transferência de elementos genéticos por ponte citoplasmática entre bactérias) e transposons (material genético móvel) (GIGUÈRE et al., 2010).

Os plasmídios são segmentos de DNA extra-cromossomal com habilidade de multiplicarem independente do cromossoma bacteriano. Estas estruturas contêm informações genéticas para a produção de toxinas, uso de substratos, produção de fatores de colonização (fímbrias, pilis, adesinas) e de resistência aos antimicrobianos, este último, inclusive, denominado também plasmídio de resistência (fator R). (GIGUÈRE et al., 2010).

Os transposons são pequenos fragmentos de DNA capazes de se movimentar entre as bactérias (plasmídios, cromossomos ou bacteriófagos), e podem carrear genes de resistência aos antimicrobianos. Em dias atuais, especula-se que a transferência de genes de resistência aos antimicrobianos entre isolados bacterianos ocorra, principalmente, por plasmídios e transposons (TAVARES, 2007; ANDRADE e GIUFFRIDA, 2008; GIGUÈRE et al., 2010).

A transferência de resistência aos antimicrobianos é muito comum em enterobactérias, *Pseudomonas* sp. e anaeróbios entéricos. A resistência de uma bactéria a um determinado

antimicrobiano pode gerar também resistência cruzada a fármacos da mesma classe (grupo do antimicrobiano), como observado com os bacteriostáticos, que incluem as sulfonamidas, tetraciclinas, aminoglicosídeos e macrolídeos. Ainda, bactérias não patogênicas ou comensais podem adquirir resistência aos antimicrobianos que habitualmente seriam eficazes diante destes organismos (QUINN et al., 2007).

Outros mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos incluem a diminuição da permeabilidade da parede celular bacteriana, produção de enzimas que inativam o fármaco, transporte ativo do fármaco para fora da bactéria, desenvolvimento de vias metabólicas alternativas e alteração de receptor da bactéria para o antimicrobiano (ANDRADE e GIUFFRIDA, 2008).

O aumento da ocorrência de linhagens multidroga resistentes ou multirresistentes coincide com a utilização em escala de diferentes grupos de antimicrobianos, notadamente a partir da década de 1960, particularmente no tratamento de diversas manifestações clínicas em humanos e em animais, com o uso industrial na conservação de alimentos e na medicina experimental (TAVARES, 2007).

Em humanos, a ocorrência de bactérias multidroga resistentes é notória em ambientes hospitalares. Particularmente em animais de produção, o uso mais recente de antimicrobianos como “promotores do crescimento” de aves e suínos (ANDRADE e GIUFFRIDA, 2008), na profilaxia de doenças específicas em animais, como na terapia da vaca seca (CONSTABLE et al., 2016), ou mesmo estimulado pelo apelo comercial de certos fármacos, têm intensificado o uso dos antimicrobianos em animais domésticos favorecendo, em tese, o aumento da pressão seletiva para linhagens multidroga resistentes (RIBEIRO, 2008).

O uso indevido ou não racional dos antimicrobianos (subdoses, superdoses, tempo de tratamento insuficiente, tratamento sem o respaldo dos testes de sensibilidade “in vitro”, descontinuidade do tratamento) pode aumentar a pressão de seleção para linhagens com resistência (intrínseca ou adquirida) aos antimicrobianos (TAVARES, 2007; RIBEIRO, 2008; GIGUÈRE et al., 2010). Nesses casos, a população bacteriana resistente multiplica-se exponencialmente e as características de resistência aos fármacos pode ser transmitida para micro-organismos da mesma espécie e, até, para outros gêneros de bactérias (ANDRADE e GIUFFRIDA, 2008, GIGUÈRE et al., 2010; QUINN et al., 2011).

Ao que se pese a literatura não apresenta nenhum estudo contextualizando resistência múltipla aos antimicrobianos por patógenos recuperados de onfalites em bezerros.

2.8 Tratamento

O tratamento das onfalopatias em bezerros é fundamentado em dois procedimentos: uso de racional antimicrobianos e cuidados auxiliares, para que se evite o desenvolvimento

da abscedação e distensão do úraco, veia e artérias umbilicais (ANDRADE e GIUFRIDA, 2008; CONTABLE et al., 2018). Estabelecida a infecção que pode ocorrer dentro de 24 horas, geralmente requer a remoção cirúrgica das estruturas envolvidas, além do suporte clínico (BENESI et al., 2012).

Assim nas onfalopatias sépticas tem-se como objetivo terapêutico eliminar o micro-organismo causador da doença, remover os debris ou restos celulares decorrentes da inflamação nos tecidos e remover o foco infeccioso, com intuito de diminuir os danos diretos aos órgãos em contato direto com os vasos umbilicais (CONSTABLE et al., 2016).

Para a obtenção de sucesso no tratamento devem-se considerar o rápido reconhecimento e diagnóstico da enfermidade, eliminação imediata do foco de sepse, tratamento estratégico do processo inflamatório e controle da dor (STEINER e LEJEUNE, 2009; ROBINSON, et al., 2015; SHECAIRA et al., 2018).

Diferentes antimicrobianos têm sido utilizados na monoterapia ou em associação no tratamento das onfalopatias em bezerros (CONSTABLE et al., 2016). Dentre os fármacos mais usados no tratamento merecem destaque antimicrobianos do grupo dos beta-lactâmicos e derivados (penicilinas, ceftiofur), aminoglicosídeos (gentamicina, ampicilina), sulfonamidas, fluoroquinolonas, macrolídeos, oxitetraciclinas e anfenicóis (florfenicol) [GUIGUÈRE et al., 2010]. No entanto, devem ser considerados de eleição os antimicrobianos de amplo espectro e que atingem concentrações terapêuticas em focos necróticos e provável abscessos (CONSTABLE et al., 2016).

O tratamento antimicrobiano parenteral é preconizado para todos os casos onfalopatias (BENESI et al., 2012). Entre as associações merecem destaque beta-lactâmicos e aminoglicosídeos, beta-lactâmicos e fluorquinolonas, sulfas e trimetoprim (QUINN et al., 2011).

O cultivo microbiológico, aliado a testes de sensibilidade microbiana “in vitro”, podem aumentar a eficácia do tratamento dos casos de onfalites em neonatos (QUINN et al., 2011). No entanto, certa linha de pesquisadores recomenda que o uso de antimicrobianos deve ser instituído rapidamente após a definição do diagnóstico das onfalopatias, antes mesmo de se obter o resultado do cultivo e testes de sensibilidade microbiana “in vitro”, já que os riscos para o desenvolvimento de sepse são rápidos (CONSTABLE et al., 2016).

O tratamento antimicrobiano imediato pode reduzir os efeitos deletérios das infecções umbilicais por enterobactérias, estafilococos, estreptococos e certos actinomicetos (CONSTABLE et al., 2016), como *Trueperella* (*Arcanobacterium*) *pyogenes* (RIBEIRO et al., 2015). O tratamento deve ser prolongado, entre 2 e 4 semanas, devido ao risco de recidivas frequentemente observadas em terapias convencionais ou com tempo reduzido (CONSTABLE et al., 2016).

2.9 Medidas gerais de controle e profilaxia

A maior parte das onfalopatias ocorre devido à falta de desinfecção ou cura do umbigo do animal recém-nascido (BENESI et al., 2012). A desinfecção correta do umbigo logo após o nascimento dos animais é algo que pode significar bom desempenho, saúde e contribuir significativamente na diminuição da mortalidade dos bezerros (STEINER e LEJEUNE, 2009; ROBINSON, et al., 2015)

A melhor forma para a prevenção de onfalopatias é realizar a cura correta do umbigo logo após o nascimento do animal, com limpeza e corte do cordão umbilical, seguida da imersão em uma substância cáustica e que, preferencialmente, mumifique o cordão umbilical, como solução de iodo a 5-10% ou ácido pícrico (2%) (CONSTABLE et al., 2016). É interessante que esta prática de manejo seja repetida por até duas vezes ao dia até a completa cicatrização (SHECAIRA et al., 2018). Quando esta tarefa é realizada de forma adequada, a mumificação e subsequente queda do cordão ocorre entre dois a três dias após o nascimento (ROBINSON, et al., 2015)

Outro erro comum é o retorno da solução utilizada para dentro do frasco contendo a solução nova, de forma que depois de alguns tratamentos a concentração da solução já não é mais de 5 a 7% (ROBINSON, et al., 2015).

Trabalhos de levantamento de campo mostram que toda vez que se observam problemas de hérnia umbilical, o produtor utilizava apenas alguns produtos leves para imersão do umbigo, que não eram os de secagem, ou seja, não continham álcool em sua composição (STEINER e LEJEUNE, 2009). Após a imersão do umbigo, o bezerro deve ser transferido para um ambiente limpo e seco para protegê-lo de uma variedade de microrganismos patogênicos que oportunamente se estabelecem no umbigo por falhas no manejo higiênico e sanitário das maternidades (CONSTABLE et al., 2016).

3. HIPÓTESES DE ESTUDO

É provável que se identifique o predomínio de enterobactérias como a *E coli*, estafilococos e estreptococos como agentes causais das onfalopatias nos bezerros amostrados. Também em menor proporção deverá ser identificado bactérias como: *Pseudomonas* sp. e Actinomicetos.

Devido ao uso intensivo, por vezes não racional, de antimicrobianos no Brasil no tratamento de doenças em animais de produção, incluindo bezerros recém-nascidos, espera-se identificar isolados multirresistentes aos principais grupamentos de fármacos utilizados na rotina clínica dos ruminantes.

4. OBJETIVOS

Geral:

Investigar o perfil microbiológico das onfalopatias em bezerros, avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos utilizados na rotina das propriedades leiteiras.

Específicos:

- ✓ Avaliar a prevalência e a provável origem dos patógenos envolvidos nas infecções de umbigo em bezerros;
- ✓ Caracterizar as estirpes bacterianas quanto a resistência múltipla a antimicrobianos;
- ✓ Caracterizar a presença de fungos
- ✓ Apresentar os principais fatores epidemiológicos envolvidos no desenvolvimento das onfalopatias em bezerros no estado do Paraná.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Comissão de Ética

O estudo ora proposto será encaminhado à Comissão de Ética e Uso de Animais (CEUA) da UEM.

5.2 Delineamento amostral

Para o presente estudo serão coletados *swab* de umbigo de bezerros naturalmente infectados e portadores de onfalopatias sépticas, provenientes de rebanhos leiteiros situados no Estado de São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Paraná.

Os fatores de inclusão das propriedades são: 1) Presença de piquetes maternidades; 2) Não realização de metalopprofilaxia antimicrobiana nos neonatos; 3) Não realização de terapia antimicrobiana prévia, 4) idade máxima de 30 dias, 5) Ausência de intercorrências clínicas durante o período de transição das vacas.

Os animais utilizados no presente estudo permanecerão alojados conforme o sistema de criação de cada propriedade, não havendo interferência na rotina e manejo dos neonatos. Animais que evoluírem para o óbito em decorrências das complicações atribuídas as afecções umbilicais serão submetidas ao exame necroscópico e coleta de fragmento dos seguintes órgãos: pulmão, fígado, rim e conteúdo presente na vesícula urinária.

5.3 Colheita e processamento das amostras

A coleta será realizada com o animal em decúbito lateral com antisepsia prévia da pele e porção externa ao umbigo com gaze e álcool iodado, para evitar contaminação. Será coletado uma amostra de secreção/exsudato da região umbilical por meio de *swab* estéril.

A haste será introduzida no umbigo até atingir a cavidade abdominal e imediatamente após a remoção, será acondicionado em meio líquido de transporte adequado (Stuart). Conjuntamente os órgãos dos animais que vierem a óbito serão coletados sob as mesmas condições de antisepsia e refrigeração.

Todas as amostras serão transportadas em refrigeração para os laboratórios de Microbiologia e de Pesquisa em Bacteriologia da FMVZ–UNESP/Botucatu, SP, para processamento.

5.4 Cultivo bacteriano

As amostras serão cultivadas em ágar suplementado com sangue bovino (5%) desfibrinado, ágar MacConkey em condições de aerobiose, a 37°C, mantidos por 72 horas (QUINN et al., 2011). Simultaneamente, as amostras serão cultivadas em ágar suplementado com sangue bovino (5%) desfibrinado e caldo cérebro coração (BHI) e incubados em condições de anaerobiose, a 37°C, mantidos por 120 horas. Os micro-organismos serão classificados segundo suas características fenotípicas (National Mastitis Council – NMC, 1999; QUINN et al., 2011).

Os isolados serão estocados, em duplicata, a -20°C em tubos com glicerol (20%) e a 25°C, em tubos com meio de Lignières até o momento do processamento das diferentes técnicas diagnósticas.

5.4 Cultivo fúngico

Os *swabes* serão semeados em duplicata em tubos contendo agar Sabouraud-dextrose suplementado com 0,5% de cloranfenicol. O tubo será incubado a 37°C, sendo examinado a cada 3 dias por até 25 dias.

Constando-se o crescimento de microrganismos fúngicos, as colônias isoladas serão classificadas segundo características macromorfológicas (aparência das colônias) e micromorfológicas (observação de estruturas coradas com lactofenol de azul de algodão em microscopia ótica) - (LACAZ et al., 1998). Testes fenotípicos adicionais baseados na expressão de enzimas, fermentação de açúcares ou assimilação de açúcares poderão ser adotados para complementar a classificação. A identificação final dos isolados, na dependência da espécie suspeita, poderá ser realizada mediante técnicas de PCR e sequenciamento genético de regiões genômicas conservadas, se pertinente (LIU, 2011).

5.5 Teste de sensibilidade microbiana “in vitro” dos isolados

Todos os isolados serão submetidos ao teste padrão de difusão com discos (CLSI, 2014) diante de antimicrobianos rotineiramente utilizados a campo, a saber: 1 -penicilinas semi-sintéticas e natural (penicilina 10 UI e amoxicilina - 10mcg + ácido clavulânico) 2- anfenicóis (florfenicol - 30mcg), 3 - tetraciclina (oxitetraciclina - 30mcg), 4- aminoglicosídeos (gentamicina - 10mcg); 4 - cefalosporinas (ceftiofur); 5 - fluorquinolonas (enrofloxacino - 5mcg e marbofloxacino - 5mcg); 6 - sulfonamidas (sulfametoxazol/trimetoprim - 25 µg). A interpretação dos halos de inibição será de acordo com National Committee for Clinical Laboratory Standards - CLSI (CLSI, 2018).

5.6 Análise estatística e cálculo do universo amostral

O cálculo do tamanho amostral foi realizado para estimar uma prevalência associada a uma margem de erro. Com base na suposição de que, a prevalência de onfalopatias seja de 20% na população de bezerros em geral, e que a prevalência de casos associados a *enterobactérias* seja de 50%, a prevalência esperada de casos por *Escherichia coli* na população seria de 10% (CARDONA et al. 2011; FARADONBEH et al. (2016).

Desta forma, para estimar uma prevalência do isolamento patógenos associados a uma margem de erro de $\pm 5\%$, resultou na necessidade de no mínimo, 25 bezerros, utilizando o programa Open Epi (https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm) [DEAN et al., 1994].

Os isolados serão avaliados utilizando o teste de Qui-quadrado (Exato de Fisher), utilizando o programa EPI-INFO (versão 6.04), considerando diferença significativa para valores de $p < 0,05$ (DEAN et al., 1994).

6. PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS DA PROPOSTA

✓ São praticamente incipientes ou inexistentes os estudos no Brasil envolvendo a caracterização das linhagens bacterianas envolvidas no desenvolvimento de afecções umbilicais em bezerros;

✓ Não existe nenhuma pesquisa até o momento que caracterizou os micro-organismos relacionados as onfalopatias em bovinos e em conjunto avaliou o perfil de resistência aos antimicrobianos utilizados na rotina.

7. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

Atividades	Ano Meses	2025											
		J*	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Elaboração do projeto*			X*	X*									
Contato com as propriedades leiteiras*				X*	X*	X*							
Organização e padronização da metodologia				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Atividades	Ano Meses	2026											
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Identificação das propriedades			X	X	X	X							
Coletas swabs							X	X	X	X	X	X	X
Preparo de meios de cultura							X	X	X	X	X	X	X
Cultivo microbiológico, identificação e estoque dos micro-organismos							X	X	X	X	X	X	X
Caracterização molecular dos isolados							X	X	X	X	X	X	X

Atividades	Ano Meses	2027											
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Cultivo microbiológico, identificação e estoque dos micro-organismos		X	X	X	X								
Caracterização molecular dos isolados		X	X	X	X	X	X						
Organização dos resultados									X	X	X		
Análise estatística dos dados												X	
Avaliação dos resultados, elaboração do artigo													X
Relatório final e publicação dos resultados													X

*Atividades pré-aprovação do projeto

8. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S.F., GIUFFRIDA, R. 2008. Quimioterápicos antimicrobianos e antibióticos, p. 25-72. In: ANDRADE, S.F, **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3.ed. São Paulo, Roca.
- BEAM, A. L.; LOMBARD, J. E.; KOPRAL, C. A.; GARBER, L. P.; WINTER, A. L.; HICKS, J. A.; SCHLATER, J. L. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations, **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 8, p. 3973-3980, 2009.
- BENESI, F. J.; TEIXEIRA, C. M. C.; LEAL, M. L. R.; LISBOA, J. A. N.; MIRANDOLA, R.M.S.; SHECAIRA, C. L.; GOMES, V. Leukogram of healthy Holstein calves within the first month of life. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, p. 352-356, 2012.
- BENITES, N.R., MELVILLE, P.A., RIBEIRO, M.G. 2016. Estafilococcias, p. 300-314. In: MEGID, J., RIBEIRO, M.G., PAES, A.C. **Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia**. 1.ed. Rio de Janeiro, Roca.
- CEPEA- USP. Relatório PIB – Agro Brasil <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>. Acesso em 25/01/20.
- CONSTABLE PD, HINCHLIFF KW, DONE S, GRUENBERG W. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 11th ed. Philadelphia: Saunders Ltd; 2016.
- DEL CHIERICO F., VERNOCCHI P., PETRUCCA A., PACI P., FUENTES S., PRATICÒ G., CAPUANI G., MASOTTI A., REDDEL S., RUSSO A., et al. Phylogenetic and Metabolic Tracking of Gut Microbiota during Perinatal Development. **PLoS ONE**. 10, 2015.
- DI FRANCESCO L, DI GIROLAMO F, MENNINI M, MASOTTI A, SALVATORI G, RIGON G, SIGNORE F, PIETRANTONI E, SCAPATICCI M, LANTE I, GOFFREDO BM, MAZZINA O, ELBOUSIFY AI, RONCADA P, DOTTA A, FIOCCHI A, PUTIGNANI L. A MALDI-TOF MS Approach for Mammalian, Human, and Formula Milks' Profiling. **Nutrients**. Sep 5;10(9):1238, 2018.
- GIGUÈRE, S., PRESCOTT, JF., BAGGOT, JD., WALKER, RD., DOWLING PM. 2010. **Terapia antimicrobiana em medicina veterinária**. 4.ed. Roca, São Paulo. 683p.
- GUARDABASSI, L.; JENSEN, L.B.; KRUSE, H. **Guia de Antimicrobianos em Veterinária**. Porto Alegre: Artmed, 2010. 267p.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e estatística, 2018. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 25 Jan 2020.
- LOPES, P. F. R.; COUTINHO, A. S.; LARA, L. J.; BARBOSA, L. F. S. P. Diagnóstico e controle das doenças de bezerros em sistemas de produção de bovinos de leite da região de Lavras/MG (Triênio 2006-2008). In: CONGRESSO DE EXTENSÃO DA UFLA (CONEX), 4., 2008. Anais Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008.

MAPA – Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento.
<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/agropecuaria-brasileira-em-numeros>. Acesso 25/01/2019.

MARWAH, P.; CHAWLA, D.; CHANDER, J.; GUGLANI, V.; MARWAH, A. Bacteriological profile [13] of neonatal sepsis in a tertiary-care hospital of Northern India. **Indian Pediatr.** 2015;52(2):158–59.

MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.G. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1 ed. Rio de Janeiro, Editora Roca, 2016.

MESSA, L. C.; AMARAL, A.; BOTTEON, R. C. C. M.; BOTTEON, P. T. L. Morbidade e mortalidade de bezerros leiteiros devido a processos inflamatórios do cordão umbilical. **Hora Veterinária**, v. 23, n. 134, p. 16-18, 2002.

OLLIVETT, T. L., AND S. BUCZINSKI. On-farm use of ultrasonography for bovine respiratory disease. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 32:19–35, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2015.09.001>.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S.; FANNING, S.; HARTIGAN, P. J. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**, 2nd edn. Wiley-Blackwell, UK. pp. 334–341, 2011.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 106-114.

REIS, A. S. B.; PINHEIRO, C. P.; LOPES, C. T. A.; CERQUEIRA, V. D.; OLIVEIRA, C. M. C.; DUARTE, M. D.; BARBOSA, J. D. Onfalopatias em bezerros de rebanhos leiteiros no nordeste do estado do Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 8., 2009, Belo Horizonte, **Anais...** Belo Horizonte: Associação Brasileira de Buiatria, 2009.

RENGIFO, S. A.; SILVA, R. A.; PEREIRA, I. A.; ZEGARRA, J. Q.; SOUZA, M. M.; BOTTEON, R. C. C. M. Isolamento de agentes microbianos a partir de amostras de sangue e umbigo de bezerros mestiços neonatos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 43, n. 4, p. 442-447, 2006.

RIBEIRO, M.G. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia. In: ANDRADE, S.F.; (Eds). **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 759-771.

RIBEIRO, M.G., RISSETI, R.M., BOLAÑOS, C.A.D. et al. *Trueperella pyogenes* multispecies infections in domestic animals: a retrospective study of 144 cases (2002-2012). **Veterinary Quarterly**, v.35, p.1 – 6, 2015.

RODRIGUES, C. A.; SANTOS, P. S. P.; PERRI, S. H. V.; TEODORO, P. H. M.; ANHESINI, C. R.; ARAÚJO, M. A.; VIANA FILHO, M. N. Correlação entre os métodos de concepção, ocorrência e formas de tratamento das onfalopatias em bovinos: estudo retrospectivo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 8, p. 618-622, 2010.

ROBINSON, A. L., L. L. TIMMS, K. J. STALDER, AND H. D. TYLER. 2015. Short communication: The effect of 4 antiseptic compounds on umbilical cord healing and

- infection rates in the first 24 hours in dairy calves from a commercial herd. **J. Dairy Sci.** 2015.
<https://doi.org/10.3168/jds.2014-9235>.
- SUAREZ, S.; NASSIF, X.; FERRONI, A. Applications of MALDI-TOF technology in clinical microbiology. **Pathol Biol (Paris)**. 63(1):43-52, 2015.
- STEINER, A., AND B. LEJEUNE. Ultrasonographic assessment of umbilical disorders. **Vet Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 25:781–794, 2009.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.07.012>.
- SVENSSON, C., K. LUNDBORG, U. EMANUELSON, AND S.-O. OLSSON. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. **Prev. Vet. Med.** 58:179–197, 2003.
[https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(03\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(03)00046-1).
- SHECAIRA, C.L.; SEINO, C.H.; BOMBARDELLI, J.A.; REIS, G.A.; FUSADA, E.J.; AZEDO, M.R.; BENESI, F.J. Using thermography as a diagnostic tool for omphalitis on newborn calves, **Journal of Thermal Biology**, Volume 71, p. 209-211, 2018.
- STURION, T.T., STURION, M.A.T., STURION, D.J. & LISBOA, J.A.N. Avaliação ultrassonográfica da involução das estruturas umbilicais extra e intracavitárias em bezerros sadios da raça Nelore concebidos naturalmente e produtos de fertilização in vitro. **Pesq. Vet. Bras.** 33(8):1021-1032, 2013.
- TAVARES, W. **Antibióticos e Quimioterápicos para o Clínico**. São Paulo: Atheneu, 2007. 585p.
- TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718p.
- WINDEYER, M. C., K. E. LESLIE, S. M. GODDEN, D. C. HODGINS, K. D. LISSEMORE, AND S. J. LEBLANC. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. **Prev. Vet. Med.** 113:231–240. 2014.
- WIELAND, M; MANN, S.; GUARD, C.L.; NYDAM, D.V. The influence of 3 different navel dips on calf health, growth performance, and umbilical infection assessed by clinical and ultrasonographic examination. **J. Dairy Sci.** 100: p.513–524, 2017.
- WIESER, A., et al., MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). **Appl Microbiol Biotechnol**, 93(3): p. 965-74. 2012.
- LACAZ, C. DA S. et al. **Guia para Identificação: Fungos, Actinomicetos e Algas de Interesse Médico**. 1. ed. São Paulo: Sarvier, 1998.
- LIU, D. **Molecular Detection of Human Fungal Pathogens**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2011.

9. ORÇAMENTO

9.1 Despesas com Material de Consumo (se houver)

Especificação	Qtde.	Valor Unitário	Valor Total
Meios de cultura	5 frascos	R\$ 200,00	R\$ 1000,00
Total			R\$ 1000,00

9.2 Equipamentos e Material Permanente

Especificação	Qtde.	Valor Unitário	Valor Total
Estufa para cultivo microbiano	1	R\$ 2000,00	R\$ 2000,00
Total			R\$ 2000,00

9.3 Serviços de Terceiros – Pessoa Física e Pessoa Jurídica

Especificação	Qtde.	Valor Unitário	Valor Total
MALDI TOF	100	R\$10,00	R\$1000,00
Combustível	200Litros	R\$ 6,00	R\$ 1200,00
Total			R\$ 2200,00

9.4 Fontes de Recursos

Discriminação	UEM/Depto.	Outra fonte	Total
Material de Consumo	R\$ 500,00	Recursos próprios	R\$ 1000
Equipamentos e Material Permanente	R\$ 500,00	Recursos próprios	R\$ 2000
Serviços de Terceiros e Encargos Diversos	R\$ 500,00	Recursos próprios	R\$ 2200
Total			

9.5 Cronograma de Desembolso

Elementos de Despesas/Fontes de Recursos	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Total
UEM/Departamento	R\$ 250,00	R\$ 250,00	R\$ 250,00	R\$750,00
Material de Consumo	R\$ 333,00	R\$ 333,00	R\$333,00	R\$ 1000,00
Equipamentos e Material Permanente	R\$2000,00			R\$2000,00
Serviços de Terceiros e Encargos Diversos	R\$ 733,33	R\$733,33	R\$ 733,33	R\$2200,00
<i>Sub-total</i>	R\$3316,33	R\$1316,33	R\$1316,33	R\$5948,99
Outras fontes				
Material de Consumo				
Equipamentos e Material Permanente				
Serviços de Terceiros e Encargos Diversos				
<i>Sub-total</i>				
TOTAL	R\$3316,33	R\$1316,33	R\$1316,33	R\$ 5948,99