

T636-089 69

V697i

1978

JOSÉ CARLOS VILAS NOVAS

Imunização de bezerros contra anaplasnose com amostra
atenuada de *Anaplasma marginale*

Tese apresentada ao Departamento
de Medicina Veterinária Preven-
tiva da Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas
Gerais, como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre
em Medicina Veterinária.

U.F.M.G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



469188804

0200

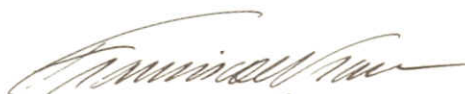
NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

05/02/103/04/06

Belo Horizonte
Minas Gerais - BRASIL
1978

Tese aprovada em 05/01/1978

BANCA EXAMINADORA:



Professor FRANCISCO CECÍLIO VIANA



Professor ELVIO CARLOS MOREIRA



Professor NIVALDO DA SILVA

Agradecimentos

O autor agradece a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização do presente trabalho.

Ao Prof. FRANCISCO CECÍLIO VIANA, pela orientação preciosa e amiga.

Ao Prof. IVAN BARBOSA MACHADO SAMPAIO, pela ajuda na análise dos dados.

À EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, da qual o autor faz parte do quadro de pesquisadores, pela oportunidade concedida.

A todos os funcionários, professores e colegas de Mestrado do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, pelo agradável convívio.

Este trabalho contou com o apoio financeiro da
FUNDAÇÃO DE ESTUDO E PESQUISA EM MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA
(FEP-MVP)

Aos meus pais, pelo exemplo.
À minha esposa Heloísa e
meus filhos Cristiana e Marcos.

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. LITERATURA CONSULTADA	5
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
4. RESULTADOS	20
5. DISCUSSÃO	31
6. CONCLUSÕES	37
7. RESUMO	39
8. SUMMARY	42
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

A anaplasnose bovina é uma doença de grande importância econômica e de frequência elevada nas regiões tropicais e subtropicais. No Estado de Minas Gerais, a prevalência parece ser alta, segundo levantamentos feitos através de esfregaços de sangue (55,42%) (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1976) e pelo teste do cartão (95,42%) (RIVERA et alii, 1977). Além disso, verifica-se a abundância de vetores potenciais (carrapatos e moscas hematófagas) distribuídos em extensas áreas do país.

Segundo diagnóstico de situação sanitária, realizado em São Gonçalo do Sapucaí - MG, verificou ser a anaplasnose bovina a doença de maior importância para os veterinários e fazendeiros da região, constituindo-se num dos fatores limitantes à criação de bezerros (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1976).

Perdas da ordem de 100 milhões de dólares/ano foram atribuídas a essa doença nos Estados Unidos da América (McCALLON, 1973). Em um programa de contro-

le das doenças de gado de corte, nesse mesmo país, estabeleceu-se como prioridade o incremento de pesquisa em anaplasnose bovina (ROSSI, 1973).

No Brasil, ainda não se calculou a perda atribuída à doença; considera-se, porém, que seja bastante elevada, devido à alta mortalidade de bezerros, retardamento de desenvolvimento, perda em produção e morte de bovinos adultos.

Em nosso meio, tem-se usado a premunicação controlada por antibióticos na prevenção da anaplasnose bovina, que demanda permanente vigília e cuidados veterinários, tornando-se, desse modo, um método caro e trabalhoso. A ausência de um método adequado para prevenção dessa doença sempre se constituiu sério problema para a importação de bovinos oriundos de países livres.

Apesar dos bons resultados obtidos pela premunicação, esse processo apresenta algumas limitações e, atualmente, estuda-se a possibilidade de introduzir outros métodos para prevenção da doença.

Em 1968, foi desenvolvida uma vacina atenuada de *A. marginale* (RISTIC et alii, 1968) que parece ter boa antigenicidade, abrindo, assim, novas perspectivas

para o controle dessa plasmose.

Essa vacina foi usada experimentalmente em alguns países latino-americanos: Colômbia, México, Peru e Venezuela. Para alguns pesquisadores os resultados do uso da vacina foram favoráveis e para outros desfavoráveis.

Tendo em vista divergências entre alguns autores sobre a imunogenicidade da vacina, bem como sobre a viabilidade de seu emprego em larga escala para áreas endêmicas, há necessidade de maiores informações sobre seu uso para as condições de manejo de nossos rebanhos.

Os objetivos desse trabalho são:

- verificar o grau de proteção conferido pela vacina em bezerros jovens, desafiados a campo;
- estudar os efeitos da amostra vacinal sobre o volume globular (%);
- comparar o desenvolvimento ponderal dos bezerros vacinados e controles.

2. LITERATURA CONSULTADA

A vacina inativada confere proteção parcial contra anaplasrose, ocorrendo, muitas vezes, casos fatais em bovinos desafiados natural e experimentalmente (PEARSON et alii, 1953; BROCK et alii, 1965; FERNANDEZ & LORA, 1966; TAYLOR, 1968).

ZARAZA & KUTTLER(1968), usando vacina inativada (Anaplaz)*, vacina atenuada (DL-AMVAC)** e premunição, com amostra de *A. marginale* virulenta, controlada por quimioterápico, na imunização de bovinos adultos, verificaram que a amostra inativada conferia proteção parcial, a atenuada e a virulenta proteção total, porém, essa última só apresentou bons resultados sob constante vigilância técnica.

* Anaplaz - Fort Dodge Lab., Iowa

** DL-AMVAC - Diamond Lab., Iowa

WELTER & WOODS (1968), verificaram que além de ser inócua, a vacina atenuada de *A. marginale* (DL-AMVAC) conferia proteção total a bovinos jovens e adultos vacinados e desafiados com inóculos superiores a 50 doses letais de *A. marginale* virulento.

WELTER & RISTIC (1969) observaram, após seis semanas, resposta sorológica em bovinos jovens e adultos vacinados com amostra atenuada de *A. marginale*, através do teste de aglutinação em tubo capilar. O título máximo observado, após oito semanas, foi de 1:16. Não ocorreu reversão de patogenicidade provocada pela amostra vacinal, durante 36 meses de observação e a proteção foi total, quando comparada com vacina inativada, cujo grau de proteção foi insignificante.

LORA & KOEHLIN (1969), trabalhando com a vacina atenuada (DL-AMVAC), verificaram inocuidade da mesma em bovinos adultos submetidos às condições de "stress" e ainda proteção ao desafio, quando esses animais eram inoculados com 5ml de sangue do portador.

KUTTLER & ZARAZA (1969) constataram que bovinos jovens e adultos vacinados com a amostra atenuada de *A. marginale* sofreram uma infecção moderada e re-

sistiram ao desafio por uma amostra de *A. marginale*, originária do Texas; porém, quando desafiados experimental e naturalmente, com outra originária da Colômbia, manifestaram quadro de anaplasmose aguda.

ZARAZA & KUTTLER (1971), além de outros métodos de controle, usaram a vacina atenuada (DL-AMVAC), que protegeu apenas 16,7% (2/12) dos bovinos expostos em área endêmica.

SCHROEDER et alii (1971), conseguiram boa proteção em bovinos jovens e adultos, quando vacinados com amostra atenuada de *A. marginale* e expostos a campo. Demonstraram, também, a incapacidade do teste de aglutinação em tubo capilar revelar anticorpos induzidos pela amostra vacinal, visto que os animais negativos ao teste estavam protegidos, quando expostos.

KUTTLER (1972) aconselhou o uso da vacina atenuada de *A. marginale* (DL-AMVAC), como método de escolha na prevenção da anaplasmose bovina, em países onde a premunicação é praticada, devido à infecção moderada e à boa imunogenicidade conferida por essa amostra vacinal.

NORMAN (1973) observou caso de manifestação

de sinais clínicos de anaplasmosose em vacas leiteiras, vacinadas com amostra atenuada de *A. marginale*.

OSORNO et alii (1973) observaram uma infecção moderada com baixa parasitemia em bovinos adultos 4-6 semanas após a vacinação. Ao desafio, verificaram que os vacinados estavam totalmente protegidos, enquanto que os controles morreram.

OSORNO et alii (1975) verificaram uma boa proteção conferida pela vacina atenuada de *A. marginale* (DL-AMVAC) em bezerros procedentes de área livre, quando introduzidos em região endêmica. Além disso, relataram que o grupo vacinado apresentou maior ganho de peso, maior volume globular (VG) e menor índice de parasitemia do que o grupo controle.

CALLOW (1976) destacou o uso da vacina bivalente no controle das plasmoses bovinas, sendo esta composta de *A. centrale* e *B. argentina*, ignorando a *B. bigemina* em sua composição, devido à baixa patogenicidade desse agente para bovinos.

CARSON et alii (1976), vacinando bovinos com amostra atenuada de *A. marginale*, não observaram reação de hipersensibilidade cutânea ou formação de isoanti-

corpos contra fatores de grupos sangüíneos de bovinos, fenômenos verificados com o uso da vacina inativada (Anaplaz).

CORRIER & GUZMAN (1977), observaram que a parasitemia por *B. bigemina* permaneceu sempre em baixos níveis (0,03 - 0,04%), não havendo diminuição significativa do VG em bezerros expostos naturalmente e que a parasitemia por *A. marginale* era mais elevada, causando diminuição temporária do VG. Verificaram, ainda, que infecções causadas por esses agentes nesses animais jovens eram inaparentes ou moderadas e, por essa razão, acharam duvidoso o valor da imunização prévia de bezerros em áreas endêmicas.

VIZCAINO et alii (1977) relataram que bovinos vacinados com amostra atenuada de *A. marginale* sofreram uma infecção moderada, leve parasitemia, pequeno decréscimo no VG, baixo nível de conversão sorológica e nenhum sinal clínico de anaplasnose. Após exposição a campo, o VG foi maior para o grupo vacinado em relação ao controle, não havendo diferença significativa quanto ao ganho de peso para os dois grupos. A vacina conferiu proteção total ao desafio experimental e a campo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Vacina

Utilizou-se uma vacina preparada a partir de uma amostra de *A. marginale* atenuada* e conservada em nitrogênio líquido (-196°), até o momento do uso.

3.2. Animais e esquema de vacinação

Foram utilizados 31 bezerros em duas fazendas, localizadas nos municípios de Pedro Leopoldo - MG e Betim - MG.

Esses municípios, situam-se na Região Metalúrgica do Estado de Minas Gerais, cuja precipitação pluvial, em 1977, foi de 1.200,7mm, dos quais, 676,1mm corresponderam aos três meses que antecederam o início do experimento; a umidade relativa do ar foi de 68,7% (média) e a temperatura média 24,7°C, para esse período.

* DL-AMVAC. Validade agosto/78, gentilmente cedida pelo Dr. Miodrag Ristic, University of Illinois-Urbana-USA

O *Boophilus microplus*, existe em abundância na região.

Os bezerros do grupo A, foram vacinados em 21 de março e observados até 24 de junho de 1977 e os do grupo B, vacinados em 10 de maio de 1977 e observados até 05 de outubro desse mesmo ano. Os bezerros eram da raça Holandesa (preta e branca - vermelha e branca), puros de origem (Tabelas 1 e 2).

Para a formação de grupos homogêneos, os bezerros foram selecionados de acordo com raça, peso, sexo e idade.

As outras condições foram as seguintes:

- não terem sido previamente expostos a ectoparasitos (carrapatos);
- não estarem recebendo ou terem recebido tratamento com antibióticos de amplo espectro (Tetraciclina, cloranfenicóis ou outros antibióticos que possam ter ação sobre o *Anaplasma marginale*);
- o manejo das duas fazendas era bastante semelhante;
- os bezerros recebiam colostro durante 5-7 dias, aleitamento artificial, concentrado, silagem e

feno, até aproximadamente três meses, ocasião em que eram desmamados e colocados em regime de campo. Os banhos carrapaticidas eram aplicados quando necessários e a intervalos nunca inferiores a 20 dias.

Na Fazenda A (Pedro Leopoldo), foram vacinados sete bezerros, na dose de 2ml, via intramuscular e seis foram deixados como testemunhas. A amplitude de variação de idade foi de 28 a 90 dias.

Na Fazenda B (Betim), foram vacinados 10 bezerros, usando-se o mesmo procedimento descrito anteriormente, sendo que oito foram deixados como testemunhas. A amplitude de variação de idade foi de 11 a 60 dias.

Todos os animais (Fazendas A e B) foram deixados em bezerreiros, sob constante observação para que se evitasse a infestação de carrapatos, e, após cinco semanas, foram colocados em regime de campo.

3.3. Exames realizados

Esses exames foram realizados antes da vacinação e após esta, quinzenalmente, até 95 e 150 dias nas fazendas A e B, respectivamente.

3.3.1. Teste do Cartão ("Card Test")

Foi realizado, segundo indicações para uso fornecidas pelo laboratório distribuidor dos "kits".

3.3.2. Volume globular (%)

Foi executado pelo método microhematócrito, segundo SCHALM (1975).

3.3.3. Coloração pelo Giemsa

Foi obedecida a seguinte técnica:

- a) preparação de esfregaço de sangue bem delgado
 - fixação em álcool absoluto, por 2 a 3 minutos;
secagem ao ar
 - coloração com solução Giemsa, por 35 minutos;
 - secagem em água destilada;
secagem ao ar
 - exame ao microscópio, sob objetiva de imersão e

* Brewer Diagnóstico Kits - Anaplasmosis Card Test:
Hynson, Westcott & Dunning Inc., Baltimore, Ma 21201
Lote 19. Data da Expiração: 09 de maio de 1977.

contagem de 40 campos homogêneos, com aproximadamente 200 a 300 hemácias cada.

3.3.4. Temperatura

A temperatura retal de todos os bezerros foi tomada antes da vacinação e, após esta, diariamente, durante 70 e 50 dias, respectivamente, para as Fazendas A e B.

3.3.5. Exame clínico

Foram realizadas observações clínicas em cada animal e anotações de todas as ocorrências de importância para a execução do experimento.

3.4. Análise estatística

As variáveis estudadas (volume globular, peso e percentagem de eritrócitos parasitados) foram relacionadas com o sexo do animal, dia, fazenda e tratamento, através de modelos matemáticos, para avaliar a significância desses fatores sobre aquelas variáveis. A relação dos melhores modelos foi feita pelo método "stepwise" (DRAPER & SMITH, 1966) que incorpora, seqüencialmente

ao modelo, as variáveis mais significativas.

Para a equação referente a peso do animal, a variável peso inicial foi também considerada.

O efeito quadrático de dias foi investigado em todos os modelos e o teste t de Student (WINER, 1971) aplicado em todos os coeficientes de regressão, ao nível de 5%.

Tabela 1 - Composição e características dos bezerros vacinados e não vacinados com amostra de *A. marginale* atenuada, grupo A (Fazenda A, Pedro Leopoldo - MG)*

Nº	Vacinados				Não vacinados				
	Idade (dias)	Sexo	Volume globular (%)	Teste do Cartão	Nº	Idade (dias)	Sexo	Volume globular (%)	Teste do Cartão
5	38	M	28,5	Positivo	7	88	M	33,0	Negativo
6	28	M	27,0	Positivo	8	90	M	36,0	Negativo
11	90	F	22,5	Positivo	9	73	M	38,0	Negativo
61	75	F	31,5	Positivo	14	70	F	38,0	Negativo
65	90	M	33,5	Negativo	63	90	F	23,5	Negativo
67	82	F	29,5	Negativo	69	46	F	29,0	Positivo
68	53	F	35,5	Negativo	-	-	-	-	-
Média	65		29,7		Média	76		32,9	

* Dados referentes à data da vacinação. Nenhum dos animais apresentou parasitemia.

Tabela 2 - Composição e características dos bezerros vacinados e não vacinados com amostra de *A. marginale* atenuada, grupo B (Fazenda B, Betim - MG)*

Nº	Vacinados					Não vacinados					
	Idade (dias)	Sexo	Peso (Kg)	Volume globular (%)	Teste do Cartão	Nº	Idade (dias)	Sexo	Peso (Kg)	Volume globular (%)	Teste do Cartão
542	30	M	47,0	30,0	Positivo	536	60	M	59,0	29,0	Negativo
543	34	M	36,0	29,0	Positivo	538	60	M	64,0	34,0	Negativo
545	33	M	42,0	26,0	Negativo	540	38	M	48,0	38,5	Negativo
546	33	F	42,0	27,0	Positivo	541	38	F	46,0	29,0	Positivo
547	30	M	39,0	28,0	Positivo	544	34	F	42,0	26,0	Positivo
550	21	M	48,0	31,0	Negativo	548	30	F	42,0	30,0	Positivo
551	46	F	44,0	39,0	Positivo	549	30	F	44,0	26,0	Negativo
552	16	M	36,0	39,5	Positivo	555	11	F	46,0	20,5	Positivo
553	13	F	46,0	20,0	Positivo	-	-	-	-	-	-
554	12	F	36,0	36,0	Positivo	-	-	-	-	-	-
Média	24		41,6	30,5		Média	37		48,9	29,1	

* Dados referentes à data da vacinação. Nenhum dos animais apresentou parasitemia.

4. RESULTADOS

Grupo A:

Aproximadamente quatro semanas após a inoculação da vacina, 57% dos bezerros apresentaram leve parasitemia por *A. marginale* (0,2 a 1,0%). A maioria dos bezerros (71,43%) apresentou aumento de temperatura acima de 40°C, 23 a 25 dias após a vacinação, fato não ocorrido com o grupo controle.

Quando os grupos vacinado e controle foram expostos a campo, ou seja, a partir do 35º dia após a vacinação, ambos sofreram ligeira diminuição em seus volumes globulares (VG).

O bezerro nº 63, a partir do 24º dia de exposição a campo, manifestou sinais clínicos sugestivos de anaplasmose, morrendo 10 dias após. No exame prévio desse animal, observou-se 2% de parasitemia por *A. marginale*, não tendo sido verificada a presença de outro hemoparasito. Os achados de necrópsia reforçaram a suspeita

clínica, sendo verificado mucosas visíveis pálidas, esplenomegalia, vesícula biliar distendida com bile em estado grumoso e petéquias sub-epicárdicas, acompanhando, principalmente, os sulcos das coronárias.

Os bezerros nºs 8, 14 e 69 adoeceram, mostrando sinais clínicos de anaplasmose, sendo que o de nº 8 adoeceu 28 dias após exposição a campo, apresentando 16,5% de VG e 2,5% de parasitemia por *A. marginale*, recuperando-se totalmente após tratamento; o de nº 14 apresentou sinais dessa doença após o 36º dia após exposição, com VG de 17,5% e parasitemia de 6,8% e o de nº 69 manifestou os mesmos sinais com VG de 27% e parasitemia de 3%. Todos os bezerros que manifestaram sinais clínicos da doença pertenciam ao grupo controle e foram tratados com 500mg de cloridrato de tetraciclina*, via endovenosa, durante três dias consecutivos.

Alguns bezerros do grupo vacinado apresentaram-se com as mucosas visíveis pálidas, sendo que o me-

* Acromicina - Blemco-Importadora e Exportadora Ltda.

nor VG observado foi de 17%, não manifestando sinais clínicos de anaplasnose.

Apenas o bezerro de nº 19 apresentou parasitemia por *B. bigemina* (0,05%), não requerendo tratamento.

Grupo B:

Após 15 dias da inoculação da vacina, observou-se ligeiro decréscimo nos VG dos bezerros, não tendo sido observado nenhum eritrócito parasitado nessa ocasião. Verificou-se aumento de temperatura acima de 40°C em 70% desses animais, 13 a 18 dias após a vacinação, sem manifestações clínicas da doença.

Em aproximadamente 20 dias da exposição a campo, o bezerro nº 549 apresentou sinais clínicos de anaplasnose, com 10% de parasitemia por *A. marginale* e VG de 16,5%; o bezerro nº 540 apresentou-se apático, com VG de 13%, parasitemia de 20,65% por *A. marginale* e sem alteração do apetite. Esse animal foi colocado em observação e em três dias manifestou sinais clínicos de anaplasnose. Quando medicado, recuperou-se, e, 15 dias após, seu VG era de 28,5% e parasitemia de 0,2%. O be-

zerro de nº 536 também manifestou sinais clínicos da doença, com VG de 26%, parasitemia de 1% por *A. marginale* e 0,16% por *B. bigemina*; o bezerro de nº 541 teve 8% de parasitemia por *A. marginale*, 0,2% por *B. bigemina* e o VG de 22,5%; ambos recuperaram após tratamento.

Os bezerros de nºs 536, 540, 541, 542, 548 e 551, apresentaram parasitemia por *B. bigemina*, com amplitude de variação de 0,03 a 0,5%, não requerendo tratamento.

Todos os bezerros que manifestaram sinais clínicos de anaplasmose pertenciam ao grupo controle e foram medicados com 500mg de cloridrato de tetraciclina por via endovenosa, durante três dias consecutivos.

Alguns bezerros do grupo dos vacinados apresentaram mucosas visíveis pálidas, pelos sem brilho e VG baixo (17 a 24%), sem manifestação de sinais clínicos de anaplasmose.

Os demais resultados obtidos durante o experimento, para as duas propriedades, estão resumidos nas Tabelas 3 e 4.

As análises estatísticas das informações individuais, após o processamento, possibilitaram obter

os seguintes modelos matemáticos:

$$\hat{P} = 36,06230 + 0,070807 D + 0,92277 P_i - 12,92776 S - 9,46316T$$

onde:

P = peso do animal

P_i = peso inicial do animal

D = dia

S = sexo, considerando: S = 1, para o sexo masculino
S = 2, para o sexo feminino

T = tratamento, considerando: T = 1, para o grupo controle
T = 2, para o grupo vacinado

O coeficiente de determinação (r^2) desse modelo foi de 92,28%.

Os pesos obtidos através do modelo estão representados no Gráfico 1.

Para percentagem de eritrócitos parasitados por *A. marginale*, o coeficiente de determinação igual a 9,48, referente ao modelo:

$$P\hat{E}P = 1,28535 + 0,08025 D - 0,00055 D^2 + 0,26605F + 0,32226T + 0,00027(D^2 \times T) - 0,03385(D \times T) + 0,07342$$

D = dia

F = fazenda, considerando: F = 1, para a Fazenda A
F = 2, para a Fazenda B

T = tratamento, considerando: T = 1, para o grupo controle

T = 2, para o grupo vacinado

S = sexo, considerando: S = 1, para a sexo masculino

S = 2, para o sexo feminino

Os resultados obtidos por esse modelo estão representados pelo Gráfico 2.

Não houve diferença estatisticamente significativa para o VG dos dois grupos.

Tabela 3 - Resultados dos grupos de bezerros vacinados e não vacinados com amostra atenuada de *Anaplasma marginale* - Fazenda A, Pedro Leopoldo - MG

Período (dias)	Temperatura °C (média)		Volume globular % (média)		Eritrócitos pa- rasitados (%)		Teste do Cartão (% posit.)		Bezerros doentes (%)	
	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.
Antes da vacina	38,9	38,9	29,71	33,42	0	0	57,1	16,7	0	0
15	38,6	38,6	28,36	32,42	0	0	14,3	16,7	0	0
35*	38,9	38,8	31,93	33,50	0,2-1,0	0	14,3	0	0	0
55	39,4	39,3	26,28	29,08	0	2,0-2,5	85,7	50	0	16,7
70	39,3	39,8	26,64	25,70	1,8	0,5-6,8	85,7	60	0	33,3
95	-	-	25,33	25,00	0,2-1,0	1,0-3,0	83,3	50	0	16,7

* Dia em que os animais foram colocados a campo

Tabela 4 - Resultados dos grupos de bezerros vacinados e não vacinados com amostra atenuada de *Anaplasma marginale* - Fazenda B, Betim - MG

Período (dias)	Ganho Peso (kg)		Temperatura °C (média)		Vol. globular (%)		Eritrócitos Parasitados (%)		Teste do Cartão		Bezerros doentes (%)	
	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.	Vac.	Cont.
Antes da cacia	-	-	39,1	39,1	30,55	29,12	0	0	80	50	0	0
15	10,50	12,63	39,0	39,0	28,25	29,56	0	0	40	12,5	0	0
35*	9,70	13,62	39,0	39,0	26,30	30,44	0	0	40	12,5	0	0
55	13,09	10,25	39,0	39,0	26,19	25,62	0,5-4,5	1,5-10	77,8	37,5	0	12,5
70	4,48	11,63	-	-	25,83	23,37	0,2-2,8	0,3-7,2	88,9	50,0	0	12,5
85	16,41	14,14	-	-	29,11	28,00	0,2-2,0	0,05-1,8	88,9	71,4	0	0
105	9,72	9,57	-	-	25,50	23,07	0,02-6,0	0,15-20,5	100	85,7	0	12,5
120	16,50	18,57	-	-	25,62	25,64	0,07-10,5	0,15-0,9	100	85,7	0	12,5
135	8,37	8,00	-	-	27,06	28,14	0,05-5,9	0,02-1,70	100	85,7	0	0
150	17,00	14,00	-	-	25,87	27,21	0,19-3,2	0,0-0,62	100	85,7	0	0

* Dia em que os animais foram colocados a campo

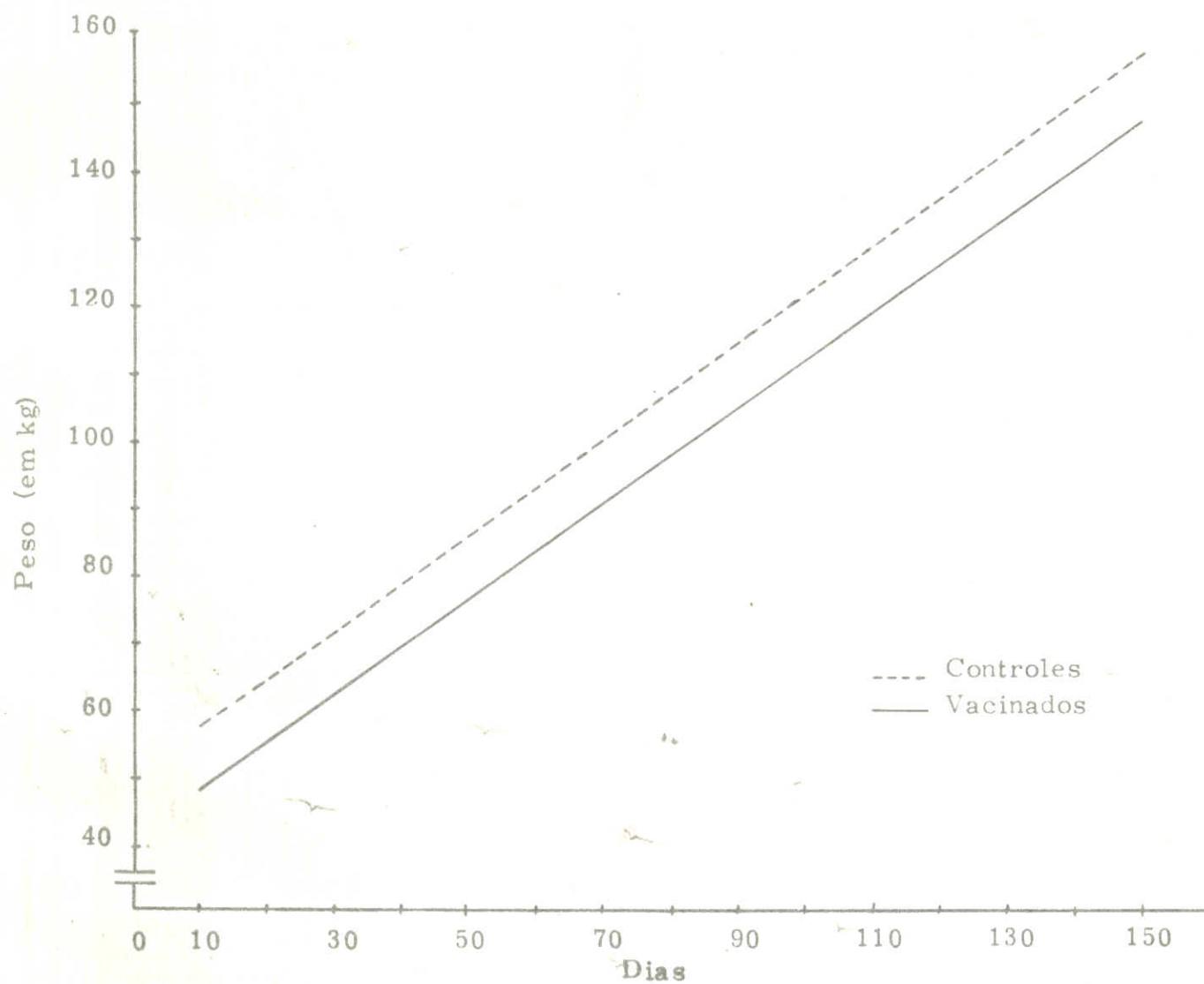


GRÁFICO 1 - Regressão dos pesos dos bezerros em relação a dias, para cada tratamento (mantendo-se constante $P_i = 40$ e $S = 1$), grupo B.

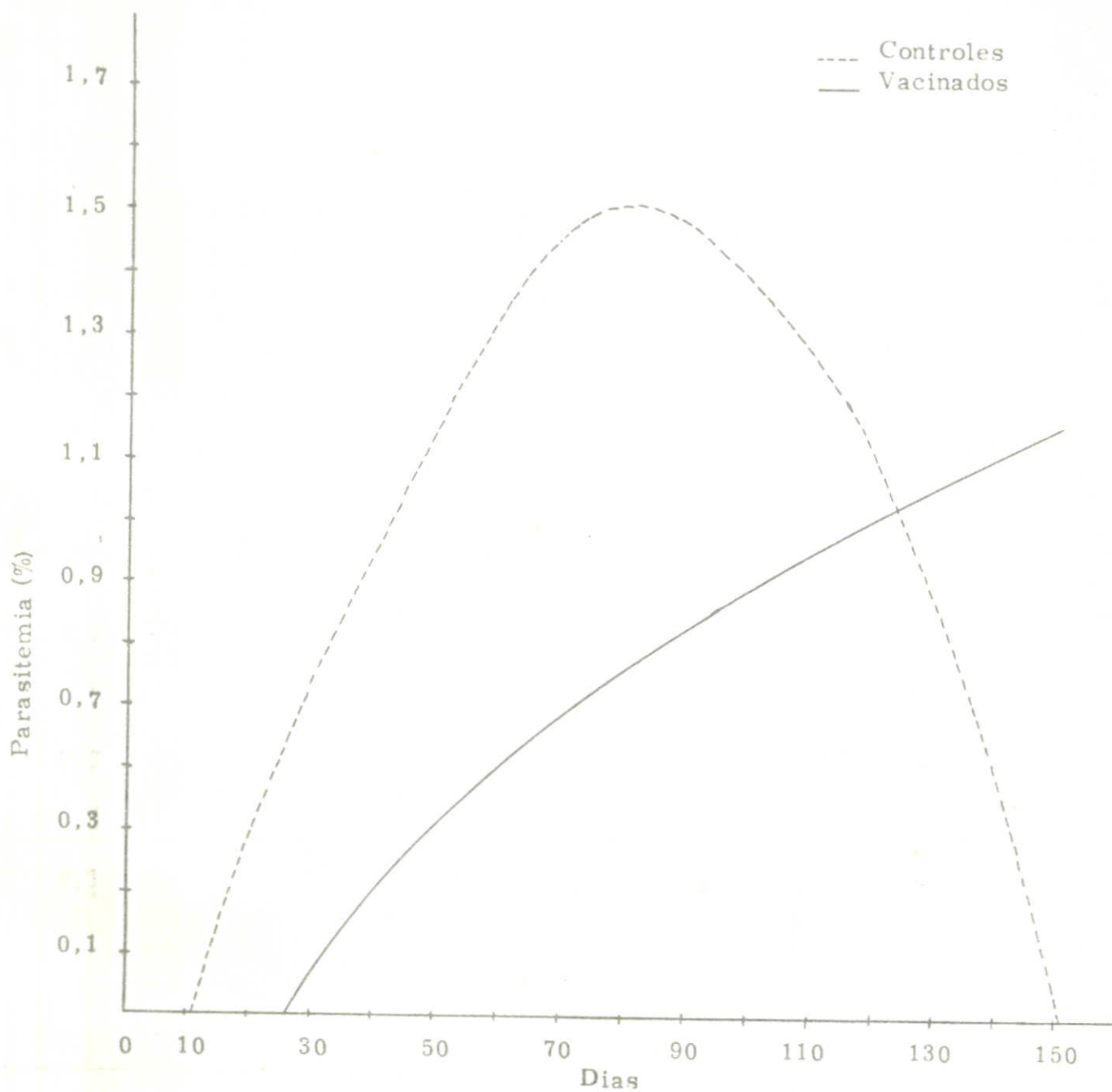


GRAFICO 2 - Regressão da parasitemia (%) em relação a dias após inoculação da vacina atenuada de A. marginale em bezerros dos grupos A e B.

5. DISCUSSÃO

A ocorrência de uma infecção moderada e passageira, sem manifestação de sinais clínicos da doença, foi observada em bezerros vacinados com amostra de *A. marginale* atenuada. Este fato foi, também constatado por outros autores (ZARAZA & KUTTLER, 1969; KUTTLER, 1972; OSORNO et alii, 1973 e VIZCAINO et alii, 1977), ao trabalharem com material semelhante ao utilizado nesse experimento.

Os tratamentos parecem não ter tido influência sobre os pesos dos animais, visto que o grupo vacinado apresentou o menor peso, desde o início até o término do experimento (Gráfico 1). Esses achados discordam de OSORNO et alii (1975) que, ao trabalharem com bezerros de 01 a 13 meses de idade, observaram ganho de peso superior para o grupo vacinado. Entretanto, nossos achados concordaram com os de VIZCAINO et alii (1977), que também se utilizaram de bezerros e atribuíram-lhes grande capacidade para compensar os danos causados pela doença.

Com relação ao volume globular, não se observou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (vacinados e controle), discordando dos dados encontrados por OSORNO et alii (1975) e VIZCAINO et alii (1977), o que pode ser devido a boa alimentação utilizada em nosso experimento.

Observou-se uma tendência dos animais vacinados de manterem baixa parasitemia, que se revelou quase sempre inferior a do grupo controle (Gráfico 2), principalmente, quando os animais desse grupo manifestavam sinais clínicos da doença, achados que concordam com OSORNO et alii (1975) e VIZCAINO et alii (1977).

Os anticorpos vacinais não foram revelados pelo teste do cartão, na maioria dos bezerros, antes da exposição a campo, o que está de acordo com WELTER & RISTIC (1969). Esse fato poderia ser explicado pelo curto período de observação (35 dias) ou possível interferência do antígeno vacinal com os anticorpos colostrais; porém, quando esses animais foram expostos a campo, positivaram-se, prontamente ao teste como se tivessem recebido dose vacinal de reforço (Tabelas 3 e 4). Essa baixa sensibilidade sorológica foi observada por SCHROEDER

et alii (1971) e VIZCAINO et alii (1977); esses autores, porém, trabalharam com o teste de aglutinação em tubo capilar.

O aumento da temperatura observado em bezerros, após a vacinação, pode ser atribuído, provavelmente, à infecção produzida pela amostra vacinal, fato não comumente descrito por outros autores.

Não foi observado caso da doença provocado pela amostra vacinal, o que demonstra sua inocuidade para bezerro, na dosagem empregada, o que está de acordo com WELTER & WOODS (1968); WELTER & RISTIC (1969) e LORA & KOEHLIN (1969).

A proteção induzida pela vacina foi total, pois nenhum dos animais vacinados apresentou sintomas de anaplasmose, ao passo que 57% dos controles mostraram sinais clínicos da doença, sob a forma aguda. Esse achado concorda com os encontrados por SCHROEDER et alii (1971); OSORNO et alii (1975) e VIZCAINO (1977), que empregaram a exposição natural como desafio. A proteção observada nos bezerros vacinados devem-se, possivelmente, ao fato da amostra vacinal ser atenuada e, portanto, de maior poder imunogênico, visto que, amos-

tras inativadas de *A. marginale* não conferem proteção total, confirmando os trabalhos de PEARSON et alii (1953); BROCK et alii (1965); FERNANDEZ & LORA (1966); TAYLOR (1968); ZARAZA & KUTTLER (1968); WELTER & RISTIC (1968). KUTTLER & ZARAZA (1969) e ZARAZA & KUTTLER (1971) observaram, entretanto, que bovinos jovens e adultos, vacinados com essa amostra não resistiram ao desafio experimental e natural de *A. marginale* de origem Colombiana, desenvolvendo anaplasmose aguda.

O fato de 57% dos bezerros controle terem manifestado sinais de anaplasmose aguda é discordante de CORRIER & GUZMAN (1977), que acham de pouco valor a imunização prévia de bezerros em áreas endêmicas.

A não ocorrência de reações locais e sistêmicas pela inoculação da vacina atenuada de *A. marginale* foi, também, relatada por CARSON et alii (1976).

Os bezerros infectados por *B. bigemina* apresentaram baixa parasitemia ($\leq 0,5\%$), não necessitando tratamento, o que pode ser devido, provavelmente, à baixa patogenicidade do agente, concordando com CALLOW (1976) e CORRIER & GUZMAN (1977).

O emprego dessa vacina deverá estar sujeito

às condições encontradas nas propriedades trabalhadas, quais sejam, instalações adequadas e boa alimentação, não se devendo extrapolar, sem prévio estudo em nosso meio, o uso da vacina para premunizar bovinos adultos oriundos de áreas livres, por serem estes mais susceptíveis à anaplasrose, como demonstraram ROBY et alii (1961) e NORMAN (1973).

6. CONCLUSÕES

1. Os bezerros vacinados quando expostos a campo tenderam a manter baixa parasitemia.
2. O grupo de bezerros vacinados em relação ao controle não apresentou diferença significativa quanto ao peso corporal e volume globular.
3. A vacina conferiu proteção em 100% dos bezerros vacinados, quando desafiados a campo.
4. A vacina na dose de 2cc, por via intramuscular, não causou nenhuma reação indesejável nos animais.

7. RESUMO

Com a finalidade de se avaliar o grau de proteção conferido por uma amostra vacinal atenuada de *A. marginale* foram inoculados, por via intramuscular, na dose de 2cc, 17 bezerros da raça Holandesa, de 11 a 90 dias de idade, em duas propriedades localizadas no Estado de Minas Gerais (Fazenda A, Pedro Leopoldo e Fazenda B, Betim).

Na Fazenda A, foram vacinados sete bezerros e seis foram deixados como controles e, na Fazenda B, foram vacinados 10 bezerros e oito foram deixados como controles. Em ambas as fazendas, os animais foram deixados em bezerreiros, sob constante observação, para se evitar a infestação por carrapatos e, após cinco semanas, foram colocados em regime de campo. Foram realizados exames pelo teste do cartão, volume globular (%), esfregaço de sangue corado pelo Giemsa e observação clínica antes da vacinação e, após esta, quinzenalmente. A temperatura retal foi tomada diariamente durante 70 e

50 dias, respectivamente, para as Fazendas A e B.

Aproximadamente quatro semanas após a inoculação da vacina, 57% dos bezerros da Fazenda A apresentaram leve parasitemia (0,2-1,0%) por *A. marginale* e a maioria (71,43%) mostrou aumento de temperatura acima de 40°C, 23 a 25 dias após a vacinação. Quando expostos a campo, os bezerros (vacinados e controle) sofreram ligeira diminuição do VG.

Após 15 dias da inoculação da vacina nos bezerros da Fazenda B, observou-se ligeira diminuição nos VG, porém, não se constatou eritrócito parasitado nessa ocasião. Verificou-se aumento de temperatura acima de 40°C em 70% dos bezerros nos 13º e 28º dias.

A parasitemia dos bezerros vacinados foi quase sempre inferior à apresentada pelos controles. A proteção induzida pela vacina foi de 100%, ao passo que 57% dos bezerros controles manifestaram sinais clínicos de anaplasmosose. Os bezerros que apresentaram sinais clínicos da doença foram tratados com 500mg de cloridrato de tetraciclina, por três dias consecutivos, recuperando-se prontamente, à exceção de um, que morreu.

8. SUMMARY

In order to check the efficiency of an attenuated *A. marginale* vaccine 17 holstein friesian calves aging from 11 to 90 days, were inoculated with 2ml intramuscularly, on 2 farms in the Minas Gerais State (Farm A - Pedro Leopoldo and Farm B - Betim).

On farm A, 7 calves were vaccinated and 6 were kept as controls and on Farm B, 10 were vaccinated and 8 were kept as controls. On both farms these calves were left on concret under constant observation in order to avoid ticks parasitism and after 5 weeks they were exposed on the field. Card Test, PCV, blood smears stained by Giemsa and clinical observations were made before vaccination and after that every 15 days. The retal temperature was taken daily during 70 and 50 days respectively, to Farms A and B.

In aproximatelly 4 weeks after vaccine inoculation 57% of the calves on farm A showed slight parasitemia (0.2 - 1.0%) by *A. marginale* and the majority (71.43%)

showed increase of temperature over 40°C on days 23 to 25 after vaccination. After exposed on the field the calves (vaccinated and controls) suffered slight decrease on their PCV.

After 15 days of the vaccine inoculation on the calves of the Farm B, slight PCV drop was noted, but no parasited erythrocyte was found on this occasion. Seventy per cent of these calves showed increase of temperature over 40°C on days 13 to 28.

The parasitemia of the vaccinated calves were almost all the time inferior to that showed by controls. The vaccine gave 100% of protection to vaccinated calves, and 57% of the controls showed clinical signs of the disease. The diseased calves were treated with 500mg of tetracycline by 3 consecutives days, recovering from clinical signs, except one who died.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROCK, W.E.; KLIEWER, I.O.; PEARSON, C.C. A vaccine for anaplasmosis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 147(9):948-51, 1965.
- CALLOW, L.L. Métodos australianos de vacinação contra las anaplasmosis e babesioses. Gac. Vet., 320(39):262-8, 1977.
- CARSON, C.A.; SELLS, D.M.; RISTIC, M. Cutaneous hypersensitivity and isoantibody production in cattle injected with live or inactivated *A. marginale* in bovine and ovine erythrocytes. Am. J. Vet. Res., 37(9):1059-63, 1976.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. Diagnóstico de situação sanitária na sub-área de São Gonçalo de Sapucaí - MG. In: CURSO DE PLANIFICACION EN SALUD ANIMAL, 6º, Buenos Aires, 1976. Relatório dos participantes. s.n.t. (Mimeografado).
- CORRIER, D.E. & GUZMAN, S. The effect of natural exposure to *Anaplasma* and *Babesia* infections on

- native calves in an endemic area of Colombia. Trop. Anim. Health Prod., 9:47-51, 1977.
- DRAPER, N.R. & SMITH, H. Applied regression analysis. New York, John Wiley & Sons, 1966. 407p.
- FERNANDEZ, L. & LORA, C.A. Comparative study between the *Anaplasma centrale* vaccine and the inactivated vaccine against anaplasmosis. In: PAN. AM. CONGR. VET. MED. ZOOTECH., 5th, Caracas, 1966. Proceedings p. 1-21 apud RISTIC, M. Anaplasmosis. In: WIENMAN, D.; RISTIC, M., eds. Infectious blood diseases of man and animals. New York, Academic Press, 1968. V. 2. p. 473-542.
- KUTTLER, K.L. & ZARAZA, H. Premunization with an attenuated *Anaplasma marginale*. Proc. U. S. Anim. Health Assoc., Richmond, 73:104-12, 1969.
- LORA, C.A. & KOECHLIN, A. An attenuated *Anaplasma marginale* vaccine in Peru. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 30(44):1993-8, 1969.
- MCCALLON, B.R. Prevalence and economics aspects of Anaplasmosis. In: NATIONAL ANAPLASMOSIS CONFERENCE, 6th, Las Vegas, 1973. Proceedings, p. 1-3, apud HIDALGO, R.J. Control of Anaplasmosis in endemic

- areas. Southwest. Vet., 27(3):222-4, 1974.
- NORMAN, B.B. Current status of vaccination for control of bovine anaplasmosis. In: NATIONAL ANAPLASMOSIS CONFERENCE, 6th, Las Vegas, 1973. Proceedings. p. 103-5. apud HIDALGO, R.J. Control of Anaplasmosis in endemic areas. Southwest. Vet., 27(3):222-4, 1974.
- OSORNO, M.B.; SOLANA, M.P.; RISTIC, M. Study of an attenuated *Anaplasma marginale* vaccine in Mexico. I. Challenge of immunity by a virulent endemic *Anaplasma* strain. NATIONAL ANAPLASMOSIS CONFERENCE, 6th, Las Vegas, 1973. Proceedings. p. 113-6.
- OSORNO, M.B.; SOLANA, P.M.; PEREZ, J.M.; LOPEZ, T.R. Study of an attenuated *Anaplasma marginale* vaccine in Mexico - Natural Challenge of Immunity in an enzootic area. Am. J. Vet. Res., 36(5):631-5, 1975.
- PEARSON, C.C.; BROCK, W.E.; KLIEWER, I.O. Studies on the use of biologics in control of anaplasmosis. Vet. Med., 48:435-7, 1953.
- RISTIC, M.; SIBINOVIC, S.; WELTER, C.J. An attenuated *Anaplasma* vaccine. Proc. Anim. Meet. U. S. Livest. Sanit. Assoc. Ann. Arbos, 72:56-9, 1968.
- RIVERA, F.E.B.; LIMA, S.N.; VILAS NOVAS, J.C.; HOWARTH,

- J.A. Informe preliminar da prevalência da anaplasmo-
se bovina no município de Três Corações - MG, utili-
zando a prova do "Card Test". ENCONTRO DE PESQUISA,
6º, Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte, 1977. p. 191.
- ROBY, T.O.; GATES, D.W.; MOTT, L.O. The comparative
susceptibility of calves and adult cattle to bovine
anaplasmosis. Am. J. Vet. Res., 22(91):982-5, 1961.
- ROSSI, C.R. Development of methods of prevention,
diagnosis treatment, control and eradication of
diseases of beef cattle. In: Beef cattle research
needs in the Southern region, USDA, 1973 apud
HIDALGO, R.J. Control of Anaplasmosis in endemic
areas. Southwest. Vet., 27(3):222-4, 1974.
- SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROL, E.J. Veterinary
humatology. 3ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1975.
807p.
- SCHROEDER, W.F.; LEÓN, R.; TORO, B.M.; LOPEZ, B.R.
Anaplasmosis: prevencion and control. Maracy, Centro
de Investigaciones Veterinarias, 127p., 1971.
- TAYLOR, R., 1968, apud RISTIC, M. Anaplasmosis. In:
WEINMAN, D. & RISTIC, M. eds. Infectious blood
diseases of man and animals. New York, Academic

- Press, 1968. V.2. p. 473-542.
- VIZCAINO, O.; CARSON, C.A.; LEE, A.J.; RISTIC, M. The efficacy of attenuated *Anaplasma marginale* vaccine under laboratory and field conditions in Colombia. Am. J. Vet. Res., Schaumburg (em impressão).
- WELTER, C.J. & RISTIC, M. Laboratory and field trials with an attenuated *Anaplasma marginale* vaccine. Proc. U.S. Anim. Health Assoc., Richmond, 73:122-30, 1969.
- WELTER, C.J. & WOODS, R.D. Preliminary evaluation of an attenuated *Anaplasma marginale* vaccine in cattle. Vet. Med. Small Anim. Clin., 63(8):798-802, 1968.
- WINER, B.J. Statistical principles in experimental design. 2nd ed. New York, McGraw Hill, 1971. 907p.
- ZARAZA, H. & KUTTLER, K.L. Respuesta hematologica y clinica a diferentes vacunas de anaplasmosis y la eficacia comparativa de estas, evaluadas por la inoculacion experimental. Rev. Inst. Colomb. Agropecu., 3(4):323-31, 1968.
- ZARAZA, H. & KUTTLER, K.L. Comparative efficacy of different immunization systems against anaplasmosis. Trop. Anim. Health Prod., 3(2):77-82, 1971.