

28 no rebanho. As perdas reprodutivas encontram-se de forma endêmica, implicando um
29 possível comportamento crônico das infecções causadas por estes micro-organismos.

30 Palavras-chaves: Agentes etiológicos. Bovino leiteiro. Doenças reprodutivas.

31

32 **SUMMARY**

33

34 The aim of this work was draw an endemic level of reproductive losses and determine
35 positivity for four infectious agents related to reproductive problems in dairy cattle on a
36 property in São Carlos city. Blood serum samples were collected of 142 breeding animals
37 more than two years old, from which 21.1% showed history of abortions or stillbirths in at
38 least one pregnancy. Immunofluorescent antibody technique, microscopic agglutination test,
39 serum neutralization technique, tamponated acidified antigen test were used for detection of
40 anti-*Leptospira* spp and anti-*Neospora caninum*, anti-Bovine Herpesvirus Type-1 (BHV-1)
41 and anti- *Brucella abortus*, respectively. The serological tests carried out showed that 28.9%
42 of the animals had titers greater than or equal to 100 of anti-*Neospora caninum*. Viral
43 neutralization tests demonstrated that 26.8% of the animals had titers greater or equal to 256
44 for antibody anti-BHV-1. Only 7.7% of the animals studied had titers equal to or greater than
45 100 in the microscopic agglutination test for *Leptospira* spp. There weren't observed positive
46 reactions to the tamponated acidified antigen test for diagnosis of bovine brucellosis. The
47 study suggests the presence of BHV-1, *N. caninum* and *Leptospira* spp. in contact with dairy
48 cattle property and could be involved in the occurrence of abortions and stillbirths in cattle.
49 Reproductive losses are endemic and implies a possible behavior of chronic infections caused
50 by these microorganisms.

51 Key words: Dairy cow. Reproductive disorders. Etiological agents.

52

53

53 **INTRODUÇÃO**

54

55 Diversos agentes etiológicos podem estar presentes em rebanhos bovinos com histórico
56 de abortamento, dentre eles *Neospora caninum* (*N. caninum*), *Brucella abortus* (*B. abortus*),

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

57 Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BHV-1) e *Leptospira* spp. O protozoário *N. caninum* tem sido
58 apontado como uma das mais importantes causas de abortamentos nos rebanhos de leite de
59 diversos países (GONDIM, *et al.*, 2004). A transmissão transplacentária é a forma mais
60 frequente de infecção de bovinos (GUIMARÃES JUNIOR & ROMANELLI, 2006).

61 A brucelose bovina é uma zoonose cosmopolita, altamente transmissível causada pela
62 *Brucella abortus* (*B. abortus*). A maioria dos países europeus e outros grandes exportadores
63 de carne, como Austrália, Canadá e Nova Zelândia já se encontram livres dessa enfermidade
64 ou estão em fase de eliminação como Estados Unidos e Índia (OIE, 2012). A transmissão
65 ocorre principalmente por ingestão de alimentos e água contaminados, no entanto, ela também
66 pode ocorrer por inalação, inoculação conjuntival, fômites e pela pele lesionada (CORBEL *et*
67 *al.*, 2006).

68 O Herpesvírus Bovino tipo 1 (BHV-1) é o agente responsável pela Rinotraqueíte
69 Infecciosa Bovina (IBR). O vírus estabelece uma infecção latente nos gânglios sensoriais. Os
70 animais infectados tornam-se portadores inaparentes, com episódios esporádicos de
71 reexcreção viral e potenciais transmissores (JONES, 2003). As principais formas de
72 transmissão são: via contato direto com secreções nasais e oculares, aerossóis, sêmen,
73 secreções genitais e fluidos e tecidos fetais de animais infectados; ou via indireta por fômites
74 (NANDI *et al.*, 2009). A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial. Do ponto de
75 vista epidemiológico, é importante conhecer as sorovarietades prevalentes em determinada
76 região (MARINHO, 2008), sendo *Hardjo* e *Wolffi* as mais encontradas no estado de São
77 Paulo (FAVERO *et al.*, 2001). A soroaglutinação microscópica (SAM) é o método de
78 diagnóstico sorológico recomendado para leptospirose pela *World Organization for Animal*
79 *Health* (OIE, 2013a). Dada à importância de infecções conjuntas que causam perdas

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

80 reprodutivas, o presente estudo visou determinar o nível endêmico de perdas por
81 abortamentos e natimortos e determinar a positividade para o *Neospora caninum*, *Brucella*
82 *abortus*, BHV-1 e *Leptospira* spp em um rebanho bovino leiteiro situado na região de São
83 Carlos-SP, fornecendo subsídios para tomadas de medidas de controle e prevenção que visem
84 a redução de prejuízos econômicos e para saúde humana.

85

86

MATERIAL E MÉTODOS

87

88 **Animais estudados e manejo sanitário empregado**

89 O estudo foi conduzido no setor de produção de leite pertencente à unidade
90 experimental da EMBRAPA Pecuária Sudeste, situada no município de São Carlos-SP. O
91 setor é composto por um rebanho de vacas leiteiras da raça Holandesa e mestiças Holandês-
92 Jersey contendo em média 274 animais. Foram utilizados 142 animais em idade reprodutiva
93 entre dois e 8,6 anos. Dos animais estudados, 14,8% (21 animais) apresentaram casos de
94 abortamentos em pelo menos uma gestação e 8,5% (12 animais) abortaram recentemente (no
95 ano de 2011). Todas as fêmeas são submetidas à inseminação artificial com sêmen
96 criopreservado comercial. Os animais são vacinados contra IBR aos doze meses de vida, com
97 reforço aos 13 meses e anualmente, sendo realizadas nos meses de maio e novembro com uso
98 de vacinas inativadas. As bezerras são vacinadas contra brucelose entre quatro e seis meses de
99 idade com amostra de *B. abortus* B19. A vacinação contra leptospirose é realizada com
100 vacinas inativadas quadrimestralmente, nos meses de setembro, janeiro e maio, a partir de um
101 ano de idade contra as sorovarietades *hardjo*, *wolffi*, *pomona*, *icterohaemorrhagiae*,
102 *grippotyphosa* e *canicola*. As fêmeas que apresentam abortamentos são medicadas com

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

103 estreptomicina em dose única, independentemente da identificação do agente. Não são
104 realizadas vacinações para prevenção da neosporose.

105

106 **Coleta de amostras**

107 No primeiro dia de março de 2012, foram coletadas amostras de soro sanguíneo de
108 todas as fêmeas com idade acima de dois anos (142 animais). O sangue foi obtido pela punção
109 da veia jugular, com agulhas descartáveis e sistema de vácuo, em tubos esterilizados. Após a
110 coagulação, o sangue foi centrifugado a 350 G durante 10 minutos para separação do soro. O
111 material foi identificado, acondicionado em microtubos estéreis de 2 mL e estocado à
112 temperatura de -20°C até o momento da análise.

113

114 **Exames sorológicos**

115 **Exames sorológicos para diagnóstico de anticorpos anti-*Neospora caninum***

116 Os exames sorológicos para diagnóstico de anticorpos anti-*Neospora caninum* foram
117 realizados no Laboratório de Zoonoses do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde
118 Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu, por meio da
119 reação de imunofluorescência indireta (RIFI). O anticorpo secundário utilizado foi o anti-IgG
120 bovino, conjugado com a fluoresceína (Anti-IgG bovina conjugada com a fluoresceína
121 (FITC): Affinity Purified Antibody Fluorescein. Clopper Road 910, Gaithersburg, MD 20878
122 USA. www.kpl.com). Foram consideradas positivas as amostras de soro para as quais se
123 observou completa fluorescência da superfície dos taquizoítos de *N. caninum*, na diluição de
124 1:25. As amostras positivas foram submetidas a diluições sequenciais até 1:6400,

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

125 determinando-se, assim, o título de anticorpos. Utilizou-se como ponto de corte a titulação de
126 100.

127

128 **Teste do antígeno acidificado tamponado para diagnóstico de anticorpos anti-*Brucella***
129 ***abortus***

130 A prova do Antígeno Acidificado Tamponado foi realizada no laboratório de Sanidade
131 Animal da EMBRAPA Pecuária Sudeste - São Carlos-SP, por meio de agitação por quatro
132 minutos da mistura de 30µL de soro sanguíneo bovino com 30µL de antígeno acidificado
133 tamponado e posterior observação sobre feixe de luz (BRASIL, 2006).

134

135 **Exames sorológicos para diagnóstico de anticorpos anti-BHV-1**

136 Os exames sorológicos para diagnóstico de anticorpos anti-BHV-1 foram realizados
137 através da microtécnica de vírus neutralização (VN) no laboratório de Diagnóstico Sorológico
138 do setor de Viroses da Reprodução do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e
139 Reprodução Animal - UNESP - Jaboticabal-SP. Utilizaram-se células MDBK (*Madin Darby*
140 *Bovine Kidney*) empregando-se 100 TCID 50% do protótipo viral Los Angeles do BHV-1. A
141 incubação do vírus/soro foi completada em uma hora a 37°C, em atmosfera de 5% de CO₂,
142 segundo a metodologia descrita pela OIE (2013b). A leitura final foi efetuada em 72 horas. O
143 ponto final da reação foi determinado pela maior diluição do soro capaz de inibir 100% do
144 efeito citopático induzido pelo BHV-1 nas células MDBK. Como os animais são vacinados
145 contra o BHV-1, foi utilizada a titulação de 256 como ponto de corte, conforme observado
146 por Pospisil (1996).

147

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

148 **Exames sorológicos para diagnóstico de anticorpos anti-*Leptospira* spp.**

149 Os exames sorológicos para diagnóstico de leptospirose foram realizados através da
150 técnica de Soroaglutinação Microscópica no Laboratório de Leptospirose e Brucelose do
151 Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal - UNESP -
152 Jaboticabal-SP, de acordo com o recomendado pela OIE (2013a). Inicialmente foi feita a
153 triagem das amostras para as sorovarietades *Australis*, *Bratislava*, *Autumnalis*, *Butembo*,
154 *Castellonis*, *Bataviae*, *Canicola*, *Whitcomb*, *Cynopteri*, *Fortbragg*, *Grippotyphosa*,
155 *Hebdomadis*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Panama*, *Pomona*, *Pyrogenes*, *Hardjo*,
156 *Wolffi*, *Shermani*, *Sentot* e *Tarassovi* e consideradas reagentes as amostras que aglutinaram
157 50% ou mais das leptospiras vivas contidas na solução antigênica na diluição 1/100
158 (HASHIMOTO *et al.*, 2012). Posteriormente, as amostras reagentes foram diluídas
159 geometricamente na razão dois e testadas para definir o título de anticorpos final para cada
160 biovar. A leitura das reações de aglutinação foi realizada em microscópio de campo escuro.
161 Os animais que apresentaram títulos contra mais de uma sorovarietade foram alocados em
162 tabela considerando a maior titulação.

163

164 **Determinação do nível endêmico das perdas reprodutivas**

165 Para determinação do nível endêmico das perdas reprodutivas e análise da prevalência
166 de abortamentos e natimortos no ano de 2011, foram utilizados os registros existentes entre
167 janeiro de 2006 e dezembro de 2011. O critério utilizado para estabelecer o nível considerado
168 normal foi o método de média \pm desvio-padrão aplicado sobre a série histórica obtida pelo
169 coeficiente de incidência dos anos de 2006 a 2010 segundo Côrtes (1993). O nível de
170 confiança para o cálculo foi de 95%.

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

171

172 **Análise estatística**

173 Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o programa EpiInfo versão 6.04
174 (DEAN *et al.*, 1996). Foi calculado o risco relativo (RR) entre as doenças estudadas e a falha
175 reprodutiva e estimado pela odds ratio (OR). Para determinar a significância estatística dos
176 cálculos, foi utilizado o intervalo de confiança a 95% (IC 95%) da OR e do RR, e o qui-
177 quadrado corrigido. O teste exato de Fisher substituiu o teste do qui-quadrado corrigido
178 ($P \leq 0,05$) quando necessário. A associação entre a presença de anticorpos e a falha reprodutiva
179 foi considerada se fosse estatisticamente significativa e o número 1 não fizesse parte do IC
180 95%. A causalidade ficava sugerida se todo o IC 95% fosse maior que 1.

181

182

RESULTADOS E DISCUSSÃO

183

184 Entre os meses de janeiro de 2006 e dezembro de 2011 observou-se média mensal de
185 1,7 abortamentos e 0,7 natimortos totalizando 122 abortamentos e 50 natimortos. A maioria
186 dos abortamentos (63,6%) e dos natimortos (58%) observados ocorreu no período
187 compreendido entre os meses de novembro e abril (momento de maior precipitação
188 pluviométrica na região). Dos casos de abortamentos observados nos seis anos analisados,
189 76,2% ocorreram no terço médio da gestação, 15% no terço final e 8,8% no terço inicial. A
190 curva epidemiológica traçada para o ano de 2011 está demonstrada na figura 1.

191

192

Não foi verificada a ocorrência de epidemia durante o ano de 2011 e nos meses de abril e setembro os casos de abortamentos e natimortos comportaram-se abaixo do limite inferior.

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

193 Os exames sorológicos de Imunofluorescência Indireta para diagnóstico de anticorpos
194 anti-*Neospora caninum* realizados demonstraram que 48,6% dos animais apresentaram títulos
195 de anticorpos, sendo que 28,9% apresentaram títulos superiores ou iguais a 100 (Tabela 1).
196 Dos animais com históricos de abortamentos ou natimortos (29 animais), 44,8% (13 animais)
197 foram sororeagentes com esses títulos. O menor título observado foi 25, enquanto que o maior
198 foi 400. Não foi observada uma correlação positiva entre os animais com casos de
199 abortamentos ou natimortos no ano de 2011 (14 animais) e a soropositividade para anticorpos
200 anti-*Neospora caninum* (Tabela 2).

201 Munhoz *et al.* (2006), ao estudarem vacas leiteiras em idade reprodutiva em
202 propriedades localizadas nos municípios de Resende-RJ e Rio Claro-RJ, verificaram a
203 prevalência de anticorpos contra *N. caninum* de 25,7% e 20,4%, respectivamente.

204 Ragozo *et al.* (2003) analisaram propriedades leiteiras em seis estados brasileiros. Ao
205 utilizarem o título de 25 como ponto de corte para positividade na imunofluorescência
206 indireta, observaram as seguintes prevalências de anticorpos anti-*N. caninum*: Minas Gerais
207 (34,4%), São Paulo (27,3%), Rio de Janeiro (22,7%), Mato Grosso do Sul (21,7%), Paraná
208 (21,3%), e Rio Grande do Sul (18,6%). Os títulos de anticorpos variaram de 25 a 3200.
209 Verificaram que 15,34% dos animais apresentaram títulos iguais ou superiores a 800 e
210 sugeriram que esses animais pudessem estar na fase aguda da doença.

211 O presente estudo evidenciou a ocorrência de anticorpos anti-*N. Caninum* superior aos
212 trabalhos de Munhoz *et al.* (2006) e Ragozo *et al.* (2003), sugerindo uma maior exposição ao
213 agente etiológico na propriedade estudada, provavelmente devido a ausência de medidas de
214 prevenção e controle específicas para a neosporose. Já Martins *et al.* (2011) utilizaram o título
215 de 200 como ponto de corte na RIFI e obtiveram 25% de positividade para anticorpos IgG

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

216 anti-*N.caninum* em um total de 192 amostras oriundas de fêmeas em lactação de dez pequenas
217 propriedades leiteiras pertencentes à microrregião de Araguaína-TO.

218 Nos testes de antígeno acidificado tamponado para diagnóstico de *B. abortus* realizados
219 no presente estudo não foram evidenciadas reações positivas. A realização de novos exames
220 em todo o rebanho nos intervalos de tempo determinados pelo Programa Nacional de
221 Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (BRASIL, 2006) poderá constatar
222 a ausência do agente etiológico no rebanho, certificando a propriedade como livre.

223 Os exames de vírus neutralização (Tabela 3) demonstraram presença de anticorpos anti-
224 HBV-1 em 97,9% das amostras, sendo que 26,8% dos animais apresentaram títulos positivos
225 maiores ou iguais a 256 e, considerando os animais com histórico de abortamentos ou
226 natimortos (29 animais), 41,4% (12 animais) foram soro reagentes no título considerado ponto
227 de corte (256). Observou-se uma correlação positiva entre os animais com casos de
228 abortamentos ou natimortos e a soro positividade para anticorpos anti-HBV-1 (Tabela 4). Tais
229 resultados podem sugerir uma participação significativa do HBV-1 nas manifestações clínicas
230 reprodutivas observadas no rebanho estudado.

231 Nos animais que apresentaram títulos na vírus neutralização, os menores títulos
232 observados foram na diluição 1:2, enquanto que os maiores obtidos foram iguais ou
233 superiores à diluição 1:1024.

234 Os rebanhos bovinos leiteiros estudados por Médici *et al.* (2000), no estado do Paraná,
235 apresentaram positividade de 39,3%, quando analisados apenas os animais com distúrbios
236 reprodutivos e 43,2% ao analisarem todo o plantel. Utilizaram como ponto de corte quando
237 havia inibição de lise celular na diluição 1:4 na vírus neutralização. Os resultados obtidos por
238 Médici *et al.* (2000) foram superiores aos apresentados neste estudo, no entanto o ponto de

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

239 corte pode ter sido um fator diferenciador para discordância. Sousa *et al.* (2009) estudaram a
240 bacia leiteira da Ilha de São Luís-MA e observaram que 67,5% das amostras de vacas leiteiras
241 não vacinadas apresentaram anticorpos contra o BHV-1.

242 A presença de títulos Anti-BHV-1 na quase totalidade dos animais estudados no
243 presente trabalho deve-se, provavelmente, ao manejo vacinal com vacinas inativadas, as quais
244 tendem a gerar baixos títulos (normalmente menores que 256). Devido à latência da infecção
245 e à alta frequência, um programa de erradicação deve ser minuciosamente estudado, já que o
246 descarte dos animais pode ser economicamente inviável; neste contexto, as medidas de
247 controle e prevenção podem ser intensificadas visando à redução da taxa de animais
248 infectados.

249 No exame de soroaglutinação microscópica (Tabela 5), apenas 7,7% dos animais
250 estudados apresentaram títulos iguais ou maiores que 100. Apenas um animal com histórico
251 de abortamento não apresentou sorologia negativa (título de 100). Não se observou uma
252 correlação entre as perdas reprodutivas e títulos iguais ou superiores a 100 para *Leptospira*
253 spp nos animais estudados incluindo as sorovariedades *Wolffi* e *Pomona* (Tabela 6).

254 As sorovariedades prevalentes nos animais reagentes foram: *Pomona* (63,3%), *Hardjo*
255 (45,5%), *Tarassovi* (27,3%) e *Wolffi* (9,1%). Dos animais considerados positivos, cinco
256 (45,5%) apresentaram anticorpos contra duas sorovariedades sendo que quatro destes
257 apresentaram reações contra a sorovariedade *Hardjo*.

258 No único animal com histórico de abortamento e que apresentava sorologia positiva
259 para leptospirose, foi evidenciada reação contra a sorovariedade *Pomona* na diluição 1/100. O
260 baixo percentual de animais sororreagentes contra *Leptospira* spp pode ter sido influenciado

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

261 pelo manejo rotineiro da administração via intramuscular de estreptomicina em vacas após o
262 abortamento sem identificação prévia da causa.

263

264

CONCLUSÕES

265

266 O estudo realizado sugere a presença de BHV-1, *N. caninum* e *Leptospira* spp. em
267 contato com os animais leiteiros da propriedade experimental, sendo que este primeiro possui
268 maior importância devido a correlação direta com a ocorrência de abortamentos e natimortos
269 nos animais do rebanho. As perdas reprodutivas encontram-se de forma endêmica, o que
270 implica um possível comportamento crônico das infecções causadas por estes micro-
271 organismos. Os agentes etiológicos estudados podem estar atuando sozinhos ou em infecções
272 simultâneas nos animais. A avaliação sorológica periódica do rebanho é fundamental para
273 basear a tomada de medidas preventivas e de controle a serem adotadas.

274

275

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

276

277 BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa
278 Agropecuária - Departamento de Saúde Animal. **Programa Nacional de Controle e**
279 **Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal** (PNCEBT): manual técnico, Brasília,
280 2006, 188p.

281 CORBEL, M.J.; ARIZA, J.; BANAI, M.; COSIVI, O.; DIAZ, R.; DRANOVSKAYA, E.A.;

282 ELBERG, S.S.; GARIN-BASTUJI, B.; KOLAR, J.; MacMILLAN, A.P.; MANTOVANI, A.;

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

283 MORIYON, I.; MOUSA, A.; NICOLETTI, P.; SEMEINIS, A.; YOUNG, E.J. **Brucellosis in**
284 **humans and animals**. World Health Association. Genova, Suíça, c. 2-4 (anexo 6) p. 3-35,
285 2006.

286 CÔRTEZ, J.A. Formas de ocorrência de doenças em populações. IN: Côrtes,
287 J.A. **Epidemiologia: conceitos e princípios fundamentais**. Livraria Varela, c.11, p.116-117,
288 1993.

289 DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; COLOUMBIER, D.; BURTON, A.H.; BRENDEL, K.A.;
290 SMITH, D.C. **Epi Info, version 6.04: a word processing, database, and statistics program**
291 **for public health on microcomputers**. Centers for Disease Control and Prevention – World
292 Health Organization; 1996.

293 FAVERO, M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, F.;
294 FERREIRA NETO, J.S. Leptospirose bovina – variantes sorológicas predominantes em
295 colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil.
296 **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.2, p.29-35, 2001.

297 GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. Coyotes (*Canis*
298 *latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**,
299 v.34, p.159-161, 2004.

300 GUIMARÃES JÚNIOR, J.S.; ROMANELLI, P.R. Neosporose em animais domésticos.
301 **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, p.665-678, 2006.

302 HASHIMOTO, V.Y.; DIAS, J.A.; SPORH, K.A.H.; SILVA, M.C.P.; ANDRADE, M.G.B.;
303 MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp.

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

304 em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária**
305 **Brasileira**, v.32, n.2, p.99-105, 2012.

306 JONES, C. 2003. Herpes simplex virus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. **Clinical**
307 **Microbiology Reviews**, v.16, n.1, p.79-95, 2003.

308 MARINHO, M. Leptospirose: fatores epidemiológicos fisiopatológicos e imunopatogênicos.
309 **Revista Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, p.428-434, 2008.

310 MARTINS, N.E.X.; FRESCHI, C.R.; BAPTISTA, F.; MACHADO, R.Z.; FREITAS, F.L.C.;
311 ALMEIDA, K.S. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas lactantes do
312 município de Araguaiana, estado do Tocantins, Brasil. **Revista de patologia Tropical**, v.40,
313 n.3, p.231-238, 2011.

314 MÉDICI, K.C.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F. Prevalência de anticorpos neutralizantes
315 contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com
316 distúrbios reprodutivos. **Ciência Rural**, v.30, n.2, p.347-350, 2000.

317 MUNHOZ, A.D.; SINO, W.F.; DA SILVA, R.T.; DE ALMEIDA, C.R.R.; LOPES, C.W.G.
318 Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de
319 Resende e Rio Claro, estado do Rio de Janeiro Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia**
320 **Veterinária**, v.15, n.3, p.101-104, 2006.

321 NANDI, S.; KUMAR, M.; MANOHAR, M.; CHAUHAN, R.S. Bovine herpes vírus infection
322 in cattle. **Animal Health Research Reviews**. Cambridge, n. 10(1), p. 85–98, 2009.

323 OIE. **Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals 2012**. CHAPTER
324 2.1.9. (Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May
325 2010).Disponível em:

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

326 http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.09_LEPTO.pdf
327 >.Acesso em: 20/05/2013a.

328 OIE. **Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals 2012**. CHAPTER
329 2.4.13 (Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May
330 2010).Disponível em:
331 http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.13_IBR_IPV.pdf>.Acess
332 o em: 24/05/2013b.

333 OIE. **WAHID INTERFACE**. Disponível em: <[http://web.oie.int/wahis/public.php?](http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_lists)
334 [page=disease_status_lists](http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_lists)>. Acesso em: 02/04/2012

335 POSPISIL, Z.; KERJCI, J.; JINEK, P.; LÁNY, P.; ZENDULKOVÁ, D.; CÍHAL, P.
336 Development of a disease control program based on the use of an inactivated vaccine against
337 infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Microbiology**, v.38, n.4, p.199-206, 1996.

338 RAGOZO, A.M.A.; PAULA, V.S.O.; SOUZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P.; GENNARI,
339 S.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis
340 estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, n.1, p.33-37,
341 2003.

342 SOUSA, V.E.; BEZERRA, D.C.; CHAVES, N.P.; SANTOS, H.P.; PEREIRA, H.M.
343 Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BHV-1) em bovinos leiteiros
344 não vacinados na bacia leiteira da ilha de São Luis-MA. **Ciência Animal Brasileira** –
345 Suplemento 1, 2009 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria.

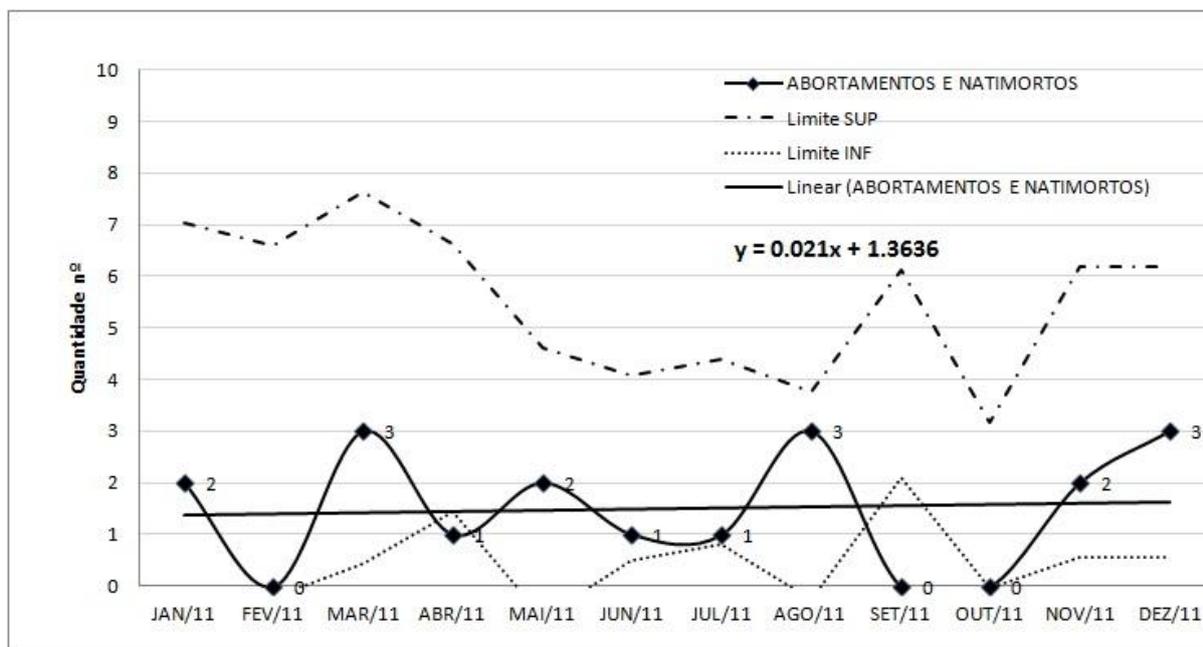
346

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP



347
 348 Figura 1. Curva epidemiológica das perdas reprodutivas em um rebanho bovino leiteiro. São
 349 Carlos, 2006-2011

350 Limite SUP: Limite de controle superior (x+s); Limite INF: Limite de controle
 351 inferior (x-s); Linear: ajuste de dados em curva linear (equação: $y = 0.021x + 1.3636$)

352
 353
 354 Tabela 1. Títulos na RIFI para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em um rebanho bovino
 355 leiteiro. São Carlos, 1º de março de 2012.

	Titulação		
	< 25	25 > e <100	≥ 100
Abort.Nat. ¹	11 (7,7%)	5 (3,5%)	13 (9,2%)
Saudáveis ²	62 (43,7%)	23 (16,2%)	28 (19,7%)
TOTAL	73 (51,4%)	28 (19,7%)	41 (28,9%)

¹Animais com histórico de abortamentos ou natimortos em no mínimo uma gestação entre 2006 e 2011.

²Animais sem histórico de abortamentos ou natimortos.

356

357

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

358 Tabela 2. Correlação entre a positividade na RIFI para detecção de anticorpos anti-*N. caninum*
 359 e perdas reprodutivas recentes.

Agente	Ponto de corte	Animais						
		Condição	AbNt (n°)	Ct (n°)	RR	IC (95%)	Sign	
<i>N. caninum</i>	100	Positivo	10	59	2,644	0,87	8,04	NÃO
		Negativo	4	69				

Sign = Significativo no teste do Qui-quadrado corrigido de Yates; AbNt = Animais que abortaram ou tiveram natimortos em 2011; Ct = Animais que não abortaram e não tiveram natimortos em 2011; RR = Risco Relativo ; IC = Intervalo de Confiança de 95%.

360

361

362 Tabela 3. Títulos na VN para detecção de anticorpos anti-BHV-1 em um rebanho bovino
 363 leiteiro. São Carlos, 1° de março de 2012.

	Titulação		
	< 2	2 > e < 256	≥ 256
Abort.Nat. ¹	1(0,7%)	16 (11,3%)	12 (8,5%)
Saudáveis ²	2 (1,4%)	85 (59,8%)	26 (18,3%)
TOTAL	3 (2,1%)	101 (71,1%)	38 (26,8%)

¹Animais com histórico de abortamentos ou natimortos em no mínimo uma gestação entre 2006 e 2011.

²Animais sem histórico de abortamentos ou natimortos.

364

365

366

367

368

369

370

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

371 Tabela 4. Correlação entre a positividade na VN para detecção de anticorpos anti-BHV-1 e
 372 perdas reprodutivas recentes.

Agente	Ponto de corte	Animais						
		Condição	AbNt (n°)	Ct (n°)	RR	IC (95%)	Sign	
IBR	256	Positivo	7	31	2,736	1,027	7,289	SIM
		Negativo	7	97				

Sign = Significativo no teste do Qui-quadrado corrigido de Yates; AbNt = Animais que abortaram ou tiveram natimortos em 2011; Ct = Animais que não abortaram e não tiveram natimortos em 2011; RR = Risco Relativo ; IC = Intervalo de Confiança de 95%.

373

374

375 Tabela 5. Títulos na SAM para detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em um rebanho
 376 bovino leiteiro. São Carlos, 1° de março de 2012.

	Titulação	
	< 100	≥ 100
Abort.Nat. ¹	28 (19,7%)	1 (0,7%)
Saudáveis ²	103 (72,5%)	10 (7,0%)
TOTAL	131 (92,3%)	11 (7,7%)

¹Animais com histórico de abortamentos ou natimortos em no mínimo uma gestação entre 2006 e 2011.

²Animais sem histórico de abortamentos ou natimortos.

377

378

379

380

381

382

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP

383 Tabela 6. Correlação entre a positividade na SAM para detecção de anticorpos anti-
 384 *Leptospira* spp e perdas reprodutivas recentes.

Agente	Ponto de corte	Animais						
		Condição	AbNt (n°)	Ct (n°)	RR	IC (95%)	Sign	
<i>Leptospira</i> spp.	100	Positivo	0	11	0,0	-	-	NÃO
		Negativo	14	117				
<i>Wolffi</i>	100	Positivo	0	5	0,0	-	-	NÃO
		Negativo	14	123				
<i>Pomona</i>	100	Positivo	0	7	0,0	-	-	NÃO
		Negativo	14	121				

385 Sign = Significativo no teste do Qui-quadrado corrigido de Yates; AbNt = Animais que
 386 abortaram ou tiveram natimortos em 2011; Ct = Animais que não abortaram e não tiveram
 387 natimortos em 2011; RR = Risco Relativo ; IC = Intervalo de Confiança de 95%.

¹EMBRAPA Pecuária Sudeste

²Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

³Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

* raul.mascarenhas@embrapa.br; Rua José Rodrigues, nº177, CEP 13.560-710, São Carlos-SP