

# ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO SOBRE AS PERDAS REPRODUTIVAS EM BOVINOS LEITEIROS: OCORRÊNCIA DE *Neospora caninum*, *Brucella abortus*, HERPESVÍRUS BOVINO TIPO-1 E *Leptospira* spp. EM UMA PROPRIEDADE DO MUNICÍPIO DE SÃO CARLOS-SP

EPIDEMIOLOGIC STUDY ON THE REPRODUCTIVE LOSSES IN DAIRY CATTLE: OCCURRENCE OF *Neospora caninum*, *Brucella abortus*, BOVINE HERPESVIRUS TYPE-1 AND *Leptospira* spp. IN A PROPRIETY OF SÃO CARLOS CITY

R. C. M. SANTANA<sup>1\*</sup>, R. MASSA<sup>2</sup>, L. F. ZAFALON<sup>1</sup>, J. MEGID<sup>3</sup>, H. LANGONI<sup>3</sup>, L. A. MATHIAS<sup>2</sup>

## RESUMO

Este trabalho objetivou traçar o nível endêmico de perdas reprodutivas e determinar a positividade para quatro agentes infecciosos relacionados com problemas reprodutivos em um rebanho bovino leiteiro no município de São Carlos-SP. Foram coletadas amostras de soro sanguíneo de 142 animais em reprodução com idades acima de dois anos, dos quais 21,1% apresentaram casos de abortamentos ou natimortos em pelo menos uma gestação. Utilizaram-se os testes sorológicos de imunofluorescência indireta, teste do antígeno acidificado tamponado, virusneutralização e soroglutinação microscópica, virusneutralização para detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum*, anti-*Brucella abortus*, anti-Herpessvírus Bovino Tipo-1 (BoHV-1) e anti-*Leptospira* spp., respectivamente. Os exames sorológicos realizados demonstraram que 28,9% dos animais apresentaram títulos superiores ou iguais a 100 de anticorpos anti-*Neospora caninum*. Os exames de virusneutralização demonstraram que 26,8% dos animais apresentaram títulos maiores ou iguais a 256 para anticorpos anti-BoHV-1. Apenas 7,7% dos animais estudados apresentaram títulos iguais ou superiores a 100 na soroglutinação microscópica para diagnóstico de *Leptospira* spp. Não foram observadas reações positivas ao teste de antígeno acidificado tamponado para diagnóstico de brucelose bovina. O estudo realizado sugere a presença de BoHV-1, *N. caninum* e *Leptospira* spp. em contato com os animais leiteiros da unidade experimental, podendo estar envolvidos na ocorrência de abortamentos e natimortos no rebanho. As perdas reprodutivas encontram-se de forma endêmica, implicando um possível comportamento crônico das infecções causadas por estes microorganismos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bovinos. Agentes etiológicos. Reprodução.

## SUMMARY

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

**KEY-WORDS:** Cattle. Etiological agents. Reproduction.

<sup>1</sup> \*EMBRAPA Pecuária Sudeste. Rua José Rodrigues, nº177, ZIP 13.560-710, São Carlos-SP. Corresponding author: raul.mascarenhas@embrapa.br

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista – UNESP - FCAV

<sup>3</sup> Universidade Estadual Paulista – UNESP - FMVZ

## INTRODUÇÃO

Diversos agentes etiológicos podem estar presentes em rebanhos bovinos com histórico de abortamento, dentre eles *Neospora caninum* (*N. caninum*), *Brucella abortus* (*B. abortus*), Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) e *Leptospira* spp. O protozoário *N. caninum* tem sido apontado como uma das mais importantes causas de abortamentos nos rebanhos de leite de diversos países (GONDIM et al., 2004). A transmissão transplacentária é a forma mais frequente de infecção de bovinos (GUIMARÃES JUNIOR & ROMANELLI, 2006).

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

O Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) é o agente responsável pela Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR). O vírus estabelece uma infecção latente nos gânglios sensoriais. Os animais infectados tornam-se portadores inaparentes, com episódios esporádicos de reexcreção viral e potenciais transmissores (JONES, 2003). As principais formas de transmissão são: via contato direto com secreções nasais e oculares, aerossóis, sêmen, secreções genitais e fluidos e tecidos fetais de animais infectados; ou via indireta por fômites (NANDI et al., 2009).

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial. Do ponto de vista epidemiológico, é importante conhecer as sorovarietades prevalentes em determinada região (MARINHO, 2008), sendo *Hardjo* e *Wolffi* as mais encontradas no estado de São Paulo (FAVERO et al., 2001). A soroaglutinação microscópica (SAM) é o método de diagnóstico sorológico recomendado para leptospirose pela *World Organization for Animal Health* (OIE, 2013a). Dada à importância da ocorrência de infecções conjuntas que causam perdas reprodutivas no rebanho leiteiro, objetivou-se por meio do presente estudo realizar um levantamento epidemiológico para as perdas do rebanho leiteiro situado na região de São Carlos-SP causadas por abortamentos e natimortos, além de determinar a positividade dos animais para os agentes *Neospora caninum*, *Brucella abortus*, BoHV-1 e *Leptospira* spp., fornecendo subsídios para tomadas de medidas sanitárias para controle e prevenção.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Setor de Produção de Leite pertencente à Unidade Experimental da EMBRAPA Pecuária Sudeste, situada no município de São Carlos-SP. O Setor é composto por um rebanho de

vacas leiteiras da raça Holandesa e mestiças Holandês-Jersey, contendo em média 274 animais. Foram utilizados no presente estudo 142 animais em idade reprodutiva entre dois e 8,6 anos, dos quais 14,8% (21 animais) apresentaram casos de abortamentos em pelo menos uma gestação e 8,5% (12 animais) abortaram recentemente (no ano de 2011).

Cabe salientar que nesse rebanho, para o manejo reprodutivo, todas as fêmeas são submetidas à inseminação artificial com sêmen criopreservado comercial. Ademais, para manejo sanitário e vacinal, os animais são vacinados contra IBR aos doze meses de vida, com reforço 30 dias após e subsequente de forma anual, sendo realizadas nos meses de maio e novembro com uso de vacinas inativadas. As bezerras são vacinadas contra brucelose entre quatro e seis meses de idade com amostra de *B. abortus* B19. A vacinação contra leptospirose é realizada com vacinas inativadas quadrimestralmente, nos meses de setembro, janeiro e maio, a partir de um ano de idade contra as sorovarietades *hardjo*, *wolffi*, *pomona*, *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa* e *canicola*. As fêmeas que apresentam abortamentos são medicadas com estreptomicina em dose única, independentemente da identificação do agente. Não são realizadas vacinações para prevenção da neosporose.

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

Os exames sorológicos para diagnóstico de anticorpos anti-*Neospora caninum* foram realizados no Laboratório de Zoonoses do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu, por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI). O anticorpo secundário utilizado foi o anti-IgG bovino, conjugado com a fluoresceína (Anti-IgG bovina conjugada com a fluoresceína (FITC): Affinity Purified Antibody Fluorescein. Clopper Road 910, Gaithersburg, MD 20878 USA. www.kpl.com). Foram consideradas positivas as amostras de soro para as quais se observou completa fluorescência da superfície dos taquizoítos de *N. caninum*, na diluição de 1:25. As amostras positivas foram submetidas a diluições sequenciais até 1:6400, determinando-se assim o título de anticorpos. Utilizou-se como ponto de corte a titulação de 100.

A prova do Antígeno Acidificado Tamponado para diagnóstico de anticorpos anti *Brucella abortus* foi realizada no Laboratório de Sanidade Animal da EMBRAPA Pecuária Sudeste - São Carlos-SP, por meio de agitação por quatro minutos da mistura de 30µL de soro sanguíneo bovino com 30µL de antígeno

acidificado tamponado e posterior observação sobre feixe de luz (BRASIL, 2006).

Os exames sorológicos para diagnóstico de anticorpos anti-BoHV-1 foram realizados por meio da microtécnica de virusneutralização (VN) no laboratório de Diagnóstico Sorológico do Setor de Víruses da Reprodução do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal - UNESP - Jaboticabal-SP. Utilizaram-se células MDBK (*Madin Darby Bovine Kidney*) empregando-se 200 TCID<sub>50</sub> do protótipo viral Los Angeles do BoHV-1. A incubação do vírus/soro foi completada em uma hora a 37°C, em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, segundo a metodologia descrita pela OIE (2013b). A leitura final foi efetuada em 72 horas. O ponto final da reação foi determinado pela maior diluição do soro capaz de inibir 100% do efeito citopático induzido pelo BoHV-1 nas células MDBK. Como os animais são vacinados contra o BoHV-1, foi utilizada a titulação de 256 como ponto de corte, conforme observado por Pospisil (1996).

Os exames sorológicos para diagnóstico de leptospirose foram realizados por meio da técnica de Soroaglutinação Microscópica no Laboratório de Leptospirose e Brucelose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal - UNESP - Jaboticabal-SP, de acordo com o recomendado pela OIE (2013a). Inicialmente foi feita a triagem das amostras para as sorovarietades *australis*, *bratislava*, *autumnalis*, *butembo*, *castellonis*, *bataviae*, *canicola*, *whitcomb*, *cynopteri*, *fortbragg*, *grippotyphosa*, *hebdomadis*, *copenhageni*, *icterohaemorrhagiae*, *panama*, *pomona*, *pyrogenes*, *hardjo*, *wolffi*, *shermani*, *sentot* e *tarassovi* e consideradas reagentes as amostras que aglutinaram 50% ou mais das leptospirosas vivas contidas na solução antigênica na diluição 1/100 (HASHIMOTO et al., 2012). Posteriormente, as amostras reagentes foram diluídas geometricamente na razão dois e testadas para definir o título de anticorpos final para cada biovar. A leitura das reações de aglutinação foi realizada em microscópio de campo escuro. Os animais que apresentaram títulos contra mais de uma sorovarietade foram alocados em tabela considerando a maior titulação.

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

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o programa EpiInfo versão 7.1.1.14 (EPI INFO™ 7.1.1.14, 2013). Foi calculado o risco relativo (RR) entre as doenças estudadas e a falha reprodutiva. Para determinar a significância estatística dos cálculos, foi utilizado o intervalo de confiança a 95% (IC 95%) da OR e do RR, e o qui-quadrado corrigido. O teste exato de Fisher substituiu o teste do qui-quadrado corrigido ( $P \leq 0,05$ ) quando necessário. A associação entre a

presença de anticorpos e a falha reprodutiva foi considerada se fosse estatisticamente significativa e o número 1 não fizesse parte do IC 95%. A causalidade ficava sugerida se todo o IC 95% fosse maior que 1.

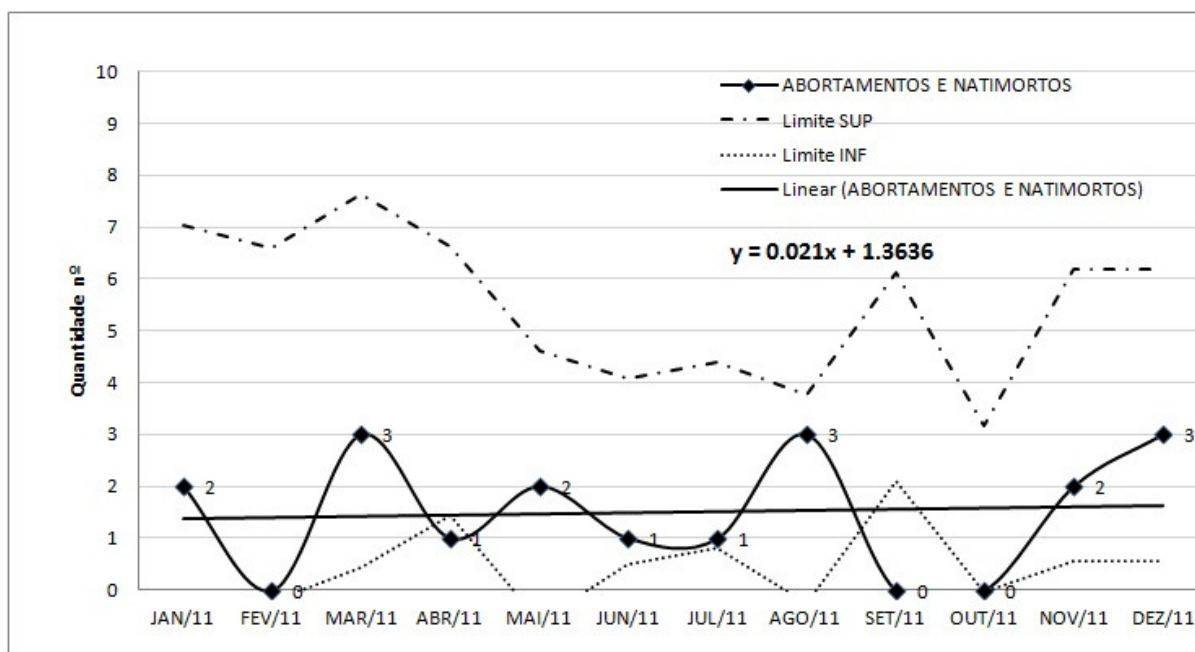
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As práticas de manejo intensivo a que são submetidos os bovinos de aptidão leiteira podem facilitar a transmissão de várias enfermidades infecciosas (MÉDICI et al., 2000). Entre os meses de janeiro de 2006 e dezembro de 2011 observou-se média mensal de 1,7 abortamentos e 0,7 natimortos totalizando 122 abortamentos e 50 natimortos no rebanho estudado. A maioria dos abortamentos (63,6%) e natimortos (58%) observados ocorreu no período compreendido entre os meses de novembro e abril (momento de maior precipitação pluviométrica na região). A umidade é necessária para a manutenção viável dos micro-organismos no meio ambiente.

A curva epidemiológica traçada para o ano de 2011 está demonstrada na figura 1. Não foi verificada a ocorrência de epidemia. Nos meses de abril e setembro os casos de abortamentos e natimortos comportaram-se abaixo do limite inferior. No rebanho estudado, não há entrada de novos animais por meio de aquisições. O comportamento endêmico das perdas reprodutivas associado ao possível contato dos animais com os agentes etiológicos durante anos anteriores ao período estudado podem favorecer o desenvolvimento de imunidade no rebanho e o estabelecimento do nível de perdas reprodutivas dentro de um padrão de normalidade. Este comportamento não é observável quando uma doença exótica entra em uma população. Dos casos de abortamentos observados no rebanho estudado durante os seis anos analisados, 76,2% ocorreram no terço médio da gestação, 15% no terço final e 8,8% no terço inicial. Abortamentos e natimortos podem representar uma grande redução da produção leiteira da vaca durante sua vida útil e acarretar grandes prejuízos para o produtor. Dubey e Schares (2011) acrescentam também como perdas relacionadas ao abortamento: os custos com atendimentos veterinários, diagnósticos, substituição e descarte de animais, maiores períodos de serviços e consequentes intervalos entre partos.

Segundo Dubey (2003), dentre os sinais clínicos da neosporose bovina, a morte embrionária durante o primeiro terço da gestação e o abortamento no segundo são os mais comuns. Quando a infecção ocorre no terço final da gestação, dificilmente resultará em morte fetal e abortamento, mas sim em nascimento de bezerros persistentemente infectados, o que também pode ocorrer no segundo terço.

Os exames sorológicos de Imunofluorescência Indireta para diagnóstico de anticorpos anti-*Neospora caninum* realizados demonstraram que 48,6% dos animais apresentaram títulos de anticorpos, sendo que 28,9% apresentaram títulos superiores ou iguais a 100 (Tabela 1). Dos animais com históricos de abortamentos ou natimortos (29 animais), 44,8% (13 animais) foram soro-reagentes com esses títulos. O



**Figura 1** - Curva epidemiológica das perdas reprodutivas em um rebanho bovino leiteiro. São Carlos, 2006-2011. Limite SUP: Limite de controle superior ( $x+s$ ); Limite INF: Limite de controle inferior ( $x-s$ ); Linear: ajuste de dados em curva linear (equação:  $y = 0.021x + 1.3636$ ).

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

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

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

<sup>2</sup>Animais sem histórico de abortamentos ou natimortos.

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

Agente	Ponto de corte	Animais						
		Condição	AbNt (nº)	Ct (nº)	RR	IC (95%)	P.	
<i>N. caninum</i>	100	Positivo	10	59	2,644	0,87	8,04	0,128
		Negativo	4	69				

P. = Probabilidade calculada pelo 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%.

menor título observado foi 25, enquanto que o maior foi 400. Não foi observada uma correlação positiva entre os animais com casos de abortamentos ou natimortos no ano de 2011 (14 animais) e a soropositividade para anticorpos anti-*Neospora caninum* (Tabela 2). A presença de positividade ao *N. caninum* evidencia o contato do rebanho com o agente

infeccioso, no entanto não é possível correlacioná-lo com as perdas reprodutivas durante o período estudado.

Resultados opostos foram encontrados por Hein et al. (2012), que, ao utilizarem o ponto de corte de 1:200 na Imunofluorescência Indireta, encontraram uma frequência de 58,5% de animais soropositivos ao *N. caninum* com histórico de abortamentos. Os estudos sorológicos evidenciaram que fêmeas positivas para *N.*

*caninum* tinham de 2 a 7,4 vezes mais chances de terem histórico de abortamento.

O presente estudo evidenciou a ocorrência de anticorpos anti-*N. Caninum* superior aos trabalhos de Munhoz et al. (2006) e Ragozo et al. (2003), sugerindo uma maior exposição ao agente etiológico na propriedade estudada, provavelmente devido a ausência de medidas de prevenção e controle específicas para a neosporose. Já Martins et al. (2011) utilizaram o título de 200 como ponto de corte na RIFI e obtiveram 25% de positividade para anticorpos IgG anti-*N.caninum* em um total de 192 amostras oriundas de fêmeas em lactação de dez pequenas propriedades leiteiras pertencentes à microrregião de Araguaína-TO.

A eliminação de animais soropositivos, aquisição de animais negativos, a correta destinação do aborto e restos placentários, e o controle do acesso de cães e outros carnívoros aos animais do rebanho são medidas de controle que evitam possíveis perdas econômicas (HEIN et al., 2012).

Nos testes de antígeno acidificado tamponado para diagnóstico de *B. abortus* realizados no presente estudo não foram evidenciadas reações positivas. No rebanho estudado, a ausência de aquisição de animais, a separação das bezerras das mães no primeiro dia de vida, a vacinação entre quatro e seis meses de vida com a vacina contra brucelose amostra B19 e o manejo das crias separadas dos animais adultos até a idade reprodutiva dificultam a entrada da bactéria no rebanho. A realização de novos exames em todo o rebanho nos intervalos de tempo determinados pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (BRASIL, 2006) poderá constatar a ausência do agente etiológico no rebanho, certificando a propriedade como livre.

Os testes de virusneutralização (Tabela 3) demonstraram presença de anticorpos anti-BoHV-1 em 97,9% das amostras, sendo que 26,8% dos animais apresentaram títulos positivos maiores ou iguais a 256 e, considerando os animais com histórico de abortamentos ou natimortos (29 animais), 41,4% (12 animais) foram soro-reagentes no título considerado ponto de corte (256). Observou-se uma associação positiva, com intervalo de confiança maior que 1, entre os animais com casos de abortamentos ou natimortos e a soro positividade para anticorpos anti-BoHV-1, no

entanto, não houve significância estatística pelo Teste Exato de Fisher (Tabela 4). Tais resultados podem sugerir uma participação significativa do BoHV-1 nas manifestações clínicas reprodutivas observadas no rebanho estudado.

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

Os rebanhos bovinos leiteiros estudados por Médici et al. (2000), no estado do Paraná, apresentaram positividade de 39,3%, quando analisados apenas os animais com distúrbios reprodutivos e 43,2% ao analisarem todo o rebanho. Utilizaram como ponto de corte quando havia inibição de lise celular na diluição 1:4 na virusneutralização. Os resultados obtidos por Médici et al. (2000) foram superiores aos apresentados neste estudo, no entanto o ponto de corte pode ter sido um fator diferenciador para discordância. Sousa et al. (2009) estudaram a bacia leiteira da Ilha de São Luís-MA e observaram que 67,5% das amostras de vacas leiteiras não vacinadas apresentaram anticorpos contra o BoHV-1.

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

Independentemente da pressão de infecção, o manejo do rebanho de forma correta pode amenizar a difusão do BoHV-1. A minimização do estresse durante o manejo, a redução do contato de bezerras com os animais adultos na fase em que a imunidade colostrar passiva terminar, evitar a constante rotatividade com a introdução de animais susceptíveis ou infectados nas propriedades e reduzir a alta densidade de animais são medidas preventivas e de controle que possibilitam menores taxas de infecções (GATTI et al., 2010).

**Tabela 3** - Títulos na VN para detecção de anticorpos anti-BoHV-1 em um rebanho bovino leiteiro. São Carlos, 1º de março de 2012.

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

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

<sup>2</sup>Animais sem histórico de abortamentos ou natimortos.

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

Agente	Ponto de corte	Condição	Animais					
			AbNt (n°)	Ct (n°)	RR	IC (95%)	P.	
IBR	256	Positivo	7	31	2,736	1,027	7,289	0,054
		Negativo	7	97				

P = Probabilidade calculada pelo teste Exato de Fisher; 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%.

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

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

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

<sup>2</sup>Animais sem histórico de abortamentos ou natimortos.

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

Agente	Ponto de corte	Condição	Animais					
			AbNt (n°)	Ct (n°)	RR	IC (95%)	P.	
<i>Leptospira</i> spp.	100	Positivo	0	11	0,0	-	-	0,60
		Negativo	14	117				
<i>Wolffi</i>	100	Positivo	0	5	0,0	-	-	1,00
		Negativo	14	123				
<i>Pomona</i>	100	Positivo	0	7	0,0	-	-	1,00
		Negativo	14	121				

P. = Probabilidade calculada pelo teste Exato de Fisher; 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%.

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

As sorovarietades prevalentes nos animais reagentes foram: *pomona* (63,3%), *hardjo* (45,5%), *tarassovi* (27,3%) e *wolffi* (9,1%). Dos animais considerados positivos, cinco (45,5%) apresentaram anticorpos contra duas sorovarietades sendo que quatro destes apresentaram reações contra a sorovarietade *hardjo*.

No único animal com histórico de abortamento e que apresentava sorologia positiva para leptospirose, foi evidenciada reação contra a sorovarietade *pomona* na diluição 1/100. O baixo percentual de animais sorologia

reagentes contra *Leptospira* spp. pode ter sido influenciado pelo manejo rotineiro da administração via intramuscular de estreptomicina em vacas após o abortamento sem identificação prévia da causa.

## CONCLUSÃO

Este trabalho sugere a presença de BoHV-1, *N. caninum* e *Leptospira* spp. em contato com os animais leiteiros da propriedade experimental, sendo que este primeiro possui maior importância devido a correlação direta com a ocorrência de abortamentos e natimortos nos animais do rebanho. O estudo epidemiológico evidencia que as perdas reprodutivas no rebanho encontram-se de forma endêmica, o que implica um possível comportamento crônico das infecções causadas por estes micro-organismos. Os agentes etiológicos estudados podem estar atuando sozinhos ou em infecções simultâneas nos animais. A avaliação

sorológica periódica do rebanho é fundamental para basear a tomada de medidas preventivas e de controle a serem adotadas.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária - Departamento de Saúde Animal. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal** (PNCEBT): manual técnico, Brasília, 2006, 188p.
- CORBEL, M. J.; ARIZA, J.; BANAI, M.; COSIVI, O.; DIAZ, R.; DRANOVSKAYA, E. A.; ELBERG, S. S.; GARIN-BASTUJI, B.; KOLAR, J.; MacMILLAN, A. P.; MANTOVANI, A.; MORIYON, I.; MOUSA, A.; NICOLETTI, P.; SEMEINIS, A.; YOUNG, E. J. **Brucellosis in humans and animals**. World Health Association. Genova, Suíça, c.2-4 (anexo 6) p.3-35, 2006.
- CÔRTEZ, J. A. Formas de ocorrência de doenças em populações. IN: Côrtes, J.A. **Epidemiologia: conceitos e princípios fundamentais**. Livraria Varela, c.11, p.116-117, 1993.
- DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean Journal of Parasitology**, v.41, p.1-16, 2003.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals: The last five years. **Veterinary Parasitology**, v.180, p.90-108, 2011.
- EPI INFO™, 7.1.1.14. Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 2013. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/epiinfo/html/downloads.htm>>
- FAVERO, M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S. Leptospirose bovina – variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.2, p.29-35, 2001.
- GATTI, S. P.; AFFONSO, I. B.; DIAS, F. C.; MEDEIROS, A. S. R.; FERREIRA, F.; SAMARA, S. I. Títulos de anticorpos anti-Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) de bezerras em três rebanhos leiteiros do estado de São Paulo, Brasil. **ARS Veterinária**, v.26, n.3, p.147-152, 2010.
- GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.34, p.159-161, 2004.
- GUIMARÃES JÚNIOR, J. S.; ROMANELLI, P. R. Neosporose em animais domésticos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, p.665-678, 2006.
- HASHIMOTO, V. Y.; DIAS, J. A.; SPORH, K. A. H.; SILVA, M. C. P.; ANDRADE, M. G. B.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.2, p.99-105, 2012.
- HEIN, H. E.; MACHADO, G.; MIRANDA, I. C. S.; COSTA, E. F.; PELLEGRINI, D. C. P.; DRIEMEIER, D.; CORBELLINI, L. G. Neosporose bovina: avaliação da transmissão vertical e fração atribuível de aborto em uma população de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.5, p.396-400, 2012.
- JONES, C. 2003. Herpes simplex virus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.1, p.79-95, 2003.
- MARINHO, M. Leptospirose: fatores epidemiológicos fisiopatológicos e imunopatogênicos. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, p.428-434, 2008.
- MARTINS, N. E. X.; FRESCHI, C. R.; BAPTISTA, F.; MACHADO, R. Z.; FREITAS, F. L. C.; ALMEIDA, K. S. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas lactantes do município de Araguaiana, estado do Tocantins, Brasil. **Revista de patologia Tropical**, v.40, n.3, p.231-238, 2011.
- MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. **Ciência Rural**, v.30, n.2, p.347-350, 2000.
- MUNHOZ, A. D.; SINO, W. F.; DA SILVA, R. T.; DE ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, estado do Rio de Janeiro Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.3, p.101-104, 2006.
- NANDI, S.; KUMAR, M.; MANOHAR, M.; CHAUHAN, R.S. Bovine herpes vírus infection in cattle. **Animal Health Research Reviews**. Cambridge, n.10 (1), p.85-98, 2009.
- OIE. **Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals 2012**. CHAPTER 2.1.9. (Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2010). Disponível em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.01.09\\_LEPTO.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.09_LEPTO.pdf) >. Acesso em: 20/05/2013a.
- OIE. **Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals 2012**. CHAPTER 2.4.13 (Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2010). Disponível em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.04.13\\_IBR\\_IPV.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.13_IBR_IPV.pdf)>. Acesso em: 24/05/2013b.

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

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

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

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