

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INFECÇÃO POR *Leptospira* spp E *Neospora caninum*, EM REBANHO BOVINO LEITEIRO:
AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS

HAROLDO GRECA JUNIOR

Botucatu – SP

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INFECÇÃO POR *Leptospira* spp E *Neospora caninum*, EM REBANHO BOVINO LEITEIRO:
AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS

HAROLDO GRECA JUNIOR

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, Área de Saúde Animal, Saúde
Pública Veterinária e Segurança Alimentar
para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Professor Titular Helio Langoni

Botucatu - SP

2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO

DA INFORMAÇÃO

DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Greca Junior, Haroldo.

Infecção por *Leptospira spp.* e *Neospora Caninum*, em rebanho bovino leiteiro: avaliação dos aspectos produtivos e reprodutivos / Haroldo Greca Junior. – Botucatu : [s.n.], 2010

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2010

Orientador: Helio Langoni

Assunto CAPES: 50502034

1. Bovino - Doenças 2. Bovino de leite - Produção 2. Bovino de leite – Reprodução

CDD 636.20896

Palavras-chave: Bovinos leiteiros; Leptospirose; Neosporose; Produção; Re-produção

Nome do Autor: Haroldo Greca Junior

Título: INFECÇÃO POR *Leptospira* spp E *Neospora caninum*, EM REBANHO BOVINO
LEITEIRO: AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS

COMISSÃO EXAMINADORA

Professor Titular Helio Langoni

Orientador

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP - Botucatu

Professor Doutor Paulo Francisco Domingues

Membro

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu

Professor Doutor Rinaldo Aparecido Mota

Membro

Departamento Medicina Veterinária – Área de Medicina Veterinária Preventiva

UFRPE – Recife - PE

Data da Defesa: 26 de fevereiro de 2010.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família e amigos por sempre estarem presentes mesmo com a distância física, me dando forças e apoio sempre que eu precisei.

Um agradecimento especial para minha mãe, **Sueli Maria Vera Portugal**, por nunca ter duvidado de minha capacidade e por ter feito inúmeros sacrifícios para que eu pudesse ter uma educação de ponta, a minha irmã, **Haroeli Portugal Stival** e meu cunhado **Anderson Roberto Stival** por terem me dado de presente a minha “baixinha” **Isabelle Portugal Stival** que nunca deixou de me receber com todo amor do mundo, mesmo estando distante desde que ela nasceu.

Aos meus amigos de Curitiba, por não deixarem a distância diminuir o carinho que temos uns pelos outros. Aos novos amigos que fiz em Botucatu, que tornaram a adaptação e a vida longe de casa mais fácil, em especial a **Lucilene Granuzzio Camossi** que foi minha companheira fiel durante o estágio curricular, residência e mestrado, sem você certamente o caminho seria mais difícil e agradeço sempre por Deus por me dar o privilégio de ser seu amigo. A **Mirela Ribeiro Verdugo** por ter sido minha “mãe” em Botucatu, ajudando sempre em todos os aspectos de minha vida, a qualquer hora do dia ou da noite.

Ao Professor **Helio Langoni**, pela confiança, pelos ensinamentos transmitidos, principalmente por acreditar no meu potencial e pela confiança que depositou em mim, desde a Residência dando-me oportunidade de trabalhar, contribuindo assim tanto para o meu crescimento profissional, bem como meu crescimento pessoal.

Ao Professor **João Carlos Pinheiro Ferreira**, pelas sugestões quanto aos aspectos produtivos e reprodutivos avaliados no projeto de pesquisa.

Agradeço à **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP**, pela concessão de bolsa de mestrado, Processo número

07/009584-8, bem como o auxílio pesquisa que possibilitou o desenvolvimento do projeto, processo número 07/07862-7.

Enfim, a todas as pessoas que fizeram e fazem parte da minha vida, que contribuíram ou contribuem para o meu crescimento pessoal, profissional, intelectual e espiritual, e que de uma forma ou de outra, foram importantes para realização deste trabalho. Muito obrigado.

Nome do Autor: Haroldo Greca Junior

Título: INFECÇÃO POR *Leptospira* spp E *Neospora caninum*, EM REBANHO BOVINO
LEITEIRO: AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS

COMISSÃO EXAMINADORA

Professor Titular Helio Langoni

Orientador

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP - Botucatu

Professor Doutor Paulo Francisco Domingues

Membro

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu

Professor Doutor Rinaldo Aparecido Mota

Membro

Departamento Medicina Veterinária – Área de Medicina Veterinária Preventiva

UFRPE – Recife - PE

Data da Defesa: 26 de fevereiro de 2010.

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. GENOMESPÉCIE, SOROGRUPO E SOROVARES, UTILIZADOS NA PROVA DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM), PARA O DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO LEPTOSPÍRICA, EM AMOSTRAS DE SORO BOVINO NO LABORATÓRIO DO SERVIÇO DE DIAGNÓSTICO DE ZONOSSES (SDZ) – BOTUCATU – SP.	18
TABELA 2. PARÂMETROS DE FERTILIDADE CALCULADOS COMO OBJETIVOS A SEREM ATINGIDOS COM O ESTUDO.	21
TABELA 3. RESULTADOS MENSIS DOS EXAMES SOROLÓGICOS PARA LEPTOSPIROSE PELA TÉCNICA DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM) DOS ANIMAIS DO GRUPO 1. BOTUCATU, 2009.	25
TABELA 4. RESULTADOS MENSIS DOS EXAMES SOROLÓGICOS PARA LEPTOSPIROSE PELA TÉCNICA DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM) DOS ANIMAIS DO GRUPO 2. BOTUCATU, 2009.	26
TABELA 5. PRODUÇÃO MENSAL DE LEITE (EM LITROS) DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL E VALOR TOTAL (EM LITROS) DA ÚLTIMA LACTAÇÃO. BOTUCATU, 2009.....	28
TABELA 6. MEDIANA (MED), PERCENTIS (P25 E P75), MÍNIMOS (MIN) E MÁXIMOS (MAX) DA PRODUÇÃO DE LEITE (EM LITROS) DE BOVINOS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP, BOTUCATU, 2009.	29
TABELA 7. MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO DA ÁREA SOBRE A CURVA (AUC) DO LOG DA PRODUÇÃO DE LEITE DE BOVINOS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP, BOTUCATU, 2009.	29
TABELA 8. IDADE DOS ANIMAIS, EM MESES, AO PRIMEIRO PARTO. BOTUCATU, 2009.	31

TABELA 9. MEDIANA E PERCENTIS (P25 E P75) DA IDADE AO PRIMEIRO PARTO, EM MESES, DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP, BOTUCATU, 2009.	32
TABELA 10. INTERVALO ENTRE PARTOS, EM MESES, DOS ANIMAIS DOS GRUPOS 1 E 2 REFERENTE AO ÚLTIMO PARTO.....	33
TABELA 11. MEDIANA E PERCENTIS (P25 E P75) DO INTERVALO ENTRE PARTOS, EM MESES, DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP, BOTUCATU, 2009.	34
TABELA 12. INTERVALO ENTRE PARTO E CONCEPÇÃO DOS ANIMAIS DOS GRUPOS 1 E 2. BOTUCATU, 2009.....	35
TABELA 13. MEDIANA E PERCENTIS (P25 E P75) DO INTERVALO ENTRE PARTO E CONCEPÇÃO, EM MESES, DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP, BOTUCATU, 2009.....	36
TABELA 14. NÚMERO DE SERVIÇOS (INSEMINAÇÕES) POR CONCEPÇÃO. BOTUCATU, 2009.....	37
TABELA 15. MEDIANA E PERCENTIS (P25 E P75) DO NÚMERO DE INSEMINAÇÕES DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP, BOTUCATU, 2009.....	38
TABELA 16. IDADE, EM ANOS, DOS ANIMAIS DO GRUPO1 E GRUPO 2. BOTUCATU, 2009.....	39
TABELA 17. MEDIANA E PERCENTIS (P25 E P75) DA IDADE, EM ANOS, DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP, BOTUCATU, 2009.....	40

TABELA 18. NÚMERO DE LACTAÇÕES DOS ANIMAIS DOS GRUPOS 1 E 2. BOTUCATU, 2009.....	41
TABELA 19. MEDIANA E PERCENTIS (P25 E P75) DO NÚMERO DE LACTAÇÕES DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP, BOTUCATU, 2009.....	42
TABELA 20. PERDAS EMBRIONÁRIAS DURANTE O PERÍODO DE EXPERIMENTO. BOTUCATU, 2009.....	43
TABELA 21. ANIMAIS QUE APRESENTARAM RETENÇÃO DE PLACENTA DURANTE O ÚLTIMO PARTO. BOTUCATU, 2009.....	44
TABELA 22. FREQUÊNCIA ABSOLUTA (N) E RELATIVA (%) DE NEGATIVOS E POSITIVOS PARA A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI- <i>LEPTOSPIRA</i> SPP DE ACORDO COM VARIÁVEIS REPRODUTIVAS. BOTUCATU, 2009.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1.** VALORES MÍNIMOS E MÁXIMOS, MEDIANA E PERCENTIS (P25 E P75) DA PRODUÇÃO DE LEITE DE VACAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP NOS DIFERENTES MESES. BOTUCATU, 2009. 30
- FIGURA 2.** MEDIANA (TRAÇO), PERCENTIS P25 E P75 (CAIXA) DA IDADE AO PRIMEIRO PARTO, EM MESES, DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP, BOTUCATU, 2009..... 32
- FIGURA 3.** MEDIANA (TRAÇO), PERCENTIS P25 E P75 (CAIXA) DO INTERVALO ENTRE PARTOS, EM MESES, DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP, BOTUCATU, 2009..... 34
- FIGURA 4.** MEDIANA (TRAÇO), PERCENTIS P25 E P75 (CAIXA) DO INTERVALO ENTRE PARTO E CONCEPÇÃO, EM MESES, DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP, BOTUCATU, 2009. 36
- FIGURA 5.** MEDIANA (TRAÇO), PERCENTIS P25 E P75 (CAIXA) DO NÚMERO DE INSEMINAÇÕES DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP, BOTUCATU, 2009..... 38
- FIGURA 6.** MEDIANA (TRAÇO), PERCENTIS P25 E P75 (CAIXA) DA IDADE, EM ANOS) DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP, BOTUCATU, 2009..... 40
- FIGURA 7.** MEDIANA (TRAÇO), PERCENTIS P25 E P75 (CAIXA) DO NÚMERO DE LACTAÇÕES DE FÊMEAS BOVINAS SEGUNDO A PRESENÇA OU NÃO DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP, BOTUCATU, 2009. 42

SUMÁRIO

RESUMO.....	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	2
2. OBJETIVOS	14
2.1. GERAIS	14
2.2. ESPECÍFICOS	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. PROPRIEDADE	16
3.2. ANIMAIS	16
3.2.1. GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	17
3.2.2. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	17
3.3. SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM) PARA DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE	17
3.4. REAÇÃO DE IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI) PARA DIAGNÓSTICO DE NEOSPOROSE.....	20
3.5. AVALIAÇÃO DOS ÍNDICES PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS	21
3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	22
4. RESULTADOS	24
4.1. SOROLOGIA	24
4.2. ÍNDICES PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	27
5. DISCUSSÃO	47
6. CONCLUSÕES	55
7. REFERÊNCIAS	57

GRECA, H. Infecção por *Leptospira* spp e *Neospora caninum* em rebanho bovino leiteiro: avaliação dos aspectos produtivos e reprodutivos. Botucatu, 2010. 69p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A produção leiteira nacional representa um dos mais expressivos sistemas agro-industriais, devido sua importância social e econômica, gerando mais de três milhões de empregos e agregando mais de seis bilhões de reais a produção agropecuária do país. Neste experimento foi realizado o diagnóstico sorológico de *Neospora caninum* e *Leptospira* spp, que são agentes responsáveis por grandes perdas produtivas e reprodutivas, e foi avaliado o impacto econômico causado na produção. Inicialmente, foram coletadas amostras de sangue para a realização de exame sorológico para as duas doenças, e após, o estabelecimento de diferentes grupos de animais em função dos resultados obtidos e objetivos do estudo. Os animais foram acompanhados por período de seis meses, com realização de exames mensalmente durante o período de estudo. Propôs-se a formação de quatro grupos: Grupo 1 – animais sorologicamente negativos para leptospirose e neosporose; Grupo 2 – animais reagentes para um ou mais sorovares de *Leptospira*, e sorologicamente negativos para neosporose; Grupo 3 – animais sorologicamente negativos para leptospirose, e sorologicamente positivos para neosporose; Grupo 4 – animais sorologicamente positivos para leptospirose e para neosporose. Cada um dos grupos seria avaliado para as variáveis nível produtivo (produção mensal das vacas, em litros) e verificação da associação entre as duas infecções e índices reprodutivos das vacas, entretanto, detectou-se somente um animal sorologicamente positivo para neosporose que foi descartado pelo proprietário. Desta forma, apesar da tentativa de se encontrar animais positivos nas demais coletas, os resultados foram sempre negativos para tal infecção. Os resultados encontrados indicam que a infecção por *Leptospira* spp apresenta impacto negativo sobre a produtividade da propriedade e afeta alguns dos índices reprodutivos avaliados.

Palavras-chave: neosporose, leptospirose, produção, reprodução e bovinos leiteiros.

GRECA, H. Infection for *Leptospira* spp and *Neospora caninum* in a dairy cattle flock: evaluation of the productive and reproductive aspects. Botucatu, 2010. 69p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The national dairy production is one of the most expressive agro-industrial systems due to its social and economic importance, generating more than three million employments and adding more than six billions of reais to the Brazilian livestock and agriculture business. In this assay were run the serological diagnosis for *Neospora caninum* and *Leptospira* spp, both agents responsible for major productive and reproductive losses, and evaluated its impact to this specific flock. Initially, blood samples were collected for the serological diagnosis for both diseases, and after, the picking of the different experimental groups following the achieved results and the goals of the study. The animals were monitored during a six months period, with sampling for the tests every month during this study period. At first, the formation of four different groups was proposed: Group 1 – animals serologically negative for neosporosis and leptospirosis; Group 2 – animals reagents to one or more sorovars of *Leptospira* spp, and serologically negatives for neosporosis; Group -3 animals serologically negatives for leptospirosis and positive for neosporosis; Group 4 – animals serologically positive for both neosporosis and leptospirosis. Each of the groups would be evaluated for the variables level of production (monthly production of the cows in litters) and verification of the association between both infections and reproductive levels of the cows, however, only one cow serologically positive for neosporosis was detected and slaughtered by the farmer. Thus trying to detect positive animals in the following sample collections, only negative results were detected. The results found indicates that the infection by *Leptospira* spp causes a negative impact on the productivity of the farm and in some of the reproduction parameters evaluated.

Keywords: neosporosis, leptospirosis, productive, reproductive, dairy cattle.

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A produção leiteira no Brasil se encontra distribuída ao longo do extenso território e é influenciada pela diversidade de sistemas de produção, pelas características ambientais e por aspectos geográficos inerentes a cada região, e vem obtendo ganhos de produtividade nas últimas duas décadas. Pode-se citar o aumento da produção brasileira desde 1990 a 2007. Em 1990, o Brasil produziu 14,9 bilhões de litros de leite. Em 1998, produziu 18,7 bilhões de litros de leite e importou 384 mil toneladas de produtos lácteos para atender a toda sua demanda interna. Já em 2004, o país produziu 23,5 bilhões de litros e exportou 22 mil toneladas de produtos lácteos. O Brasil passou da posição de um dos maiores importadores mundiais de lácteos a exportador, em apenas sete anos, graças aos ganhos de produtividade logrados no período. O Brasil se encontra no sexto lugar entre os maiores produtores de leite do mundo (BRASIL, 2009).

A eficiência reprodutiva de bovinos leiteiros e de corte pode ser medida por diferentes métodos e parâmetros. Os índices recomendados requerem observação acurada, principalmente na detecção de cio, sistemas de registros apurados e facilmente compreendidos e sistema de análise de dados rápido e eficiente, que ajudam a apontar as áreas de inadequação para que o produtor e o veterinário a explorar melhor as causas dos problemas para solucioná-los (RADOSTITS et al., 2001; JAINDEEN e HAFEZ, 2004).

Del Fava et al. (2007) assinalam que as causas infecciosas representam 30% das mortes embrionárias em rebanhos bovinos, destacando o papel de doenças virais, como rinotraqueíte bovina (IBR) e diarreia viral bovina (BVD), bacterianas (leptospirose, brucelose, listeriose, campilobacteriose, tricomonose, estafilococose, colibacilose, dentre outras) além da neosporose como protozoose. Em regiões endêmicas, é difícil demonstrar o impacto das infecções nos índices reprodutivos dos rebanhos, pois existe um equilíbrio biológico entre hospedeiro e agente infeccioso, sendo que este equilíbrio pode ser quebrado por diversos outros fatores, ambientais e zootécnicos.

A leptospirose bovina é uma doença bacteriana de grande importância para a produção leiteira, tanto do ponto de vista produtivo, pela baixa fertilidade

e redução na produção de leite, como do ponto de vista de saúde pública, por ser uma zoonose de alta prevalência (LANGONI, 1999). Outra doença que vem causando grande prejuízo na produção leiteira mundial é a neosporose, cujo agente etiológico é o *Neospora caninum*, um protozoário de alta prevalência e considerado um dos principais causadores de aborto no mundo (QUEVEDO et al., 2003).

Descrita pela primeira vez por Adolf Weil em 1886, a leptospirose é uma doença infecciosa aguda de caráter zoonótico, causada por espiroquetas do gênero *Leptospira*, que classicamente compreendia duas espécies: *Leptospira interrogans* e *Leptospira biflexa*, sendo a primeira patogênica e a segunda saprófita. Estudos mais recentes do DNA estabelecem algumas mudanças taxonômicas em relação a sua classificação, de modo que o gênero *Leptospira* compreende três espécies não-patogênicas, a *Leptospira biflexa*, *Leptospira meyerii*, *Leptospira wolbachii* e sete espécies patogênicas, a *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira inadai*, *Leptospira interrogans*, *Leptospira kirschneri*, *Leptospira noguchii*, *Leptospira santarosai* e *Leptospira weilli*, distribuídas em 24 sorogrupos e 237 sorovares. Enquanto as espécies saprófitas são contaminantes de águas superficiais, as patogênicas têm como habitat primário os túbulos contornados distais dos rins de roedores, principais reservatórios, bem como em outras espécies animais. As espécies patogênicas encontradas na urina dos animais portadores contaminam o ambiente, podendo causar infecção no homem e animais (SEGHAL, 2006; ZUNINO e PIZARRO, 2007).

A leptospirose tem distribuição mundial e afeta mais de 160 espécies de animais domésticos e silvestres, com maior prevalência em locais de clima quente. A sobrevivência das leptospirosas é favorecida nos ambientes quentes, úmidos e com pH neutro a levemente alcalino (ZUNINO e PIZARRO, 2007). Podem ser cultivadas em meios artificiais, sendo os mais utilizados os meios de Fletcher, Stuart, e Ellighausen-MacCullough-Jonhson-Harris (EMJH) (BRASIL, 1995).

A infecção em bovinos tem sido classificada em dois grupos principais: o primeiro consistindo de cepas adaptadas aos bovinos, como Hardjo, independente da região e pluviosidade; e o segundo que consiste em infecção

acidental, por cepas introduzidas por outros animais domésticos e animais silvestres de vida livre. Tem-se sugerido que o segundo grupo é mais importante em regiões tropicais. Práticas de manutenção inadequadas talvez afetem a soroprevalência da doença e distribuição dos sorovares (LILENBAUM e SOUZA, 2003).

A transmissão se dá por contato direto com a urina, sangue ou tecidos de animais infectados, ou de forma indireta pela água e/ou alimentos contaminados. Animais em lactação podem eliminar espiroquetas pelo leite durante a fase aguda da doença. As portas de entrada no homem e animais são a pele lesada, mucosas orais, nasais, oculares e genitais (nos animais). O período de incubação é em média de dois a cinco dias, e as leptospiras são eliminadas na urina de animais infectados logo após a bacteremia, o que ocorre, teoricamente, da segunda a quinta semana da doença. Os animais portadores ou reservatórios podem eliminá-las durante meses (BRASIL, 1995)

A importância da leptospirose é considerável, pois, além de ser uma zoonose que pode afetar trabalhadores associados à produção leiteira, causa elevadas perdas econômicas no rebanho bovino devido a abortos, retenção de placenta, nascimentos prematuros, morte, infertilidade, decréscimo na produção de leite, problemas com mastite, custos relacionados à assistência veterinária, medicamentos, vacinas e testes laboratoriais para o diagnóstico (ARDUINO et al., 2004).

A infecção por *Leptospira* spp pode se apresentar de forma aguda, subaguda ou assintomática. O quadro agudo manifesta-se com febre que dura de quatro a cinco dias, anorexia, conjuntivite, e diarreia. A leptospiremia desaparece com a formação de anticorpos, e as leptospiras desaparecem completamente da circulação sanguínea devido a imunidade humoral. As leptospiras remanescentes se abrigam nos túbulos renais, iniciando assim a fase crônica da infecção. Pela leptospirúria grandes quantidades do agente são eliminadas no ambiente, especialmente nos primeiros meses da infecção, sendo a tendência a diminuir ou cessar completamente. A leptospiruria causada pelo sorovar Hardjo é mais prolongada que a causada pelo *pomona*. A infecção pelo sorovar Hardjo, sorogruppo Serjoe, é caracterizada por duas

síndromes, a primeira delas é a “síndrome da queda do leite”, e a outra é caracterizada por abortamentos ou nascimento de bezerras fracas que morrem logo após o nascimento. O sorovar Hardjo também foi encontrado em trato genital (útero e tubas uterinas) de fêmeas vazias e prenhes. A presença do agente no trato genito urinário sugere a possibilidade de transmissão horizontal sexual da infecção (SZYFRES e ACHA, 2006).

Sabe-se que muitos outros sorovares, como Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Wolffi, podem infectar bovinos. Este fato ocorre devido à proximidade da convivência entre animais silvestres e domésticos (LANGONI et al., 2000; FARIA et al., 2008).

Sabidamente, diversos fatores podem interferir na produtividade de um rebanho leiteiro, desde mudanças na rotina das vacas, passando por problemas nutricionais e metabólicos e a leptospirose é considerada um destes fatores. O sorovar Hardjo é importante causador de enfermidade em bovinos, sendo estes animais também reservatórios importantes (ARKER, et al., 1996). VASCONCELLOS et al. (1997), mostraram a participação de vários sorovares na infecção bovina, sendo o sorovar Hardjo o mais freqüente e o principal causador da “síndrome da queda na produção leiteira”, normalmente associado a abortamentos no rebanho. Inicialmente apresenta-se como um quadro de mastite com queda na secreção de leite nos quatro quartos mamários. O úbere se torna flácido e a condição se resolve dentro de sete a 14 dias. O quadro normalmente fica restrito a alguns animais, caso contrario a infecção pode atingir mais de 50% do rebanho dentro de dois ou três meses. Os quadros causados por sorovares diferentes do Hardjo geralmente são de caráter agudo ou subagudo, também podendo causar queda na produção de leite, além de representar risco a saúde dos profissionais envolvidos na ordenha dos animais (ANDREWS et al., 2004).

O diagnóstico da leptospirose deve se basear fundamentalmente nos achados clínicos, sorológico, e na detecção e isolamento do agente. Em bovinos, a doença aguda não é freqüente, entretanto quadros de hemólise com hemoglobinúria, diminuição dos movimentos ruminais, anorexia, febre, principalmente nos animais jovens, são os sintomas mais freqüentes. Outro sinal clínico sugestivo é a mastite, que se caracteriza por aparecimento súbito,

com presença de grumos amarelados ou sangue, com o úbere flácido à palpação, com considerável queda na produção leiteira. O diagnóstico microbiológico é possível com o isolamento do agente a partir de secreções como urina e de fetos abortados, e ainda por técnicas de imunofluorescência (LANGONI, 1999).

Podem ser utilizados outros métodos como coloração pela prata e microscopia de campo escuro para demonstrar as leptospiros em tecidos. Além de meios especiais para este fim, pode-se utilizar hamsters (*Mesocricetus auratus*), considerado como melhor modelo biológico para o isolamento. O teste sorológico pela prova de soroaglutinação microscópica é o procedimento laboratorial mais difundido no diagnóstico da leptospirose. Possui utilização limitada em quadros agudos da doença, uma vez que na primeira semana da doença não é possível a detecção de anticorpos (LANGONI, 1999). Dentre as provas sorológicas, ainda são utilizados os testes de ELISA, e o Dot-ELISA que detecta IgM, imunoglobulina geralmente encontrada nas fases iniciais de infecção, contra os vários sorovares, desenvolvido por Silva et al. (2007).

As técnicas de biologia molecular possuem maior sensibilidade e praticidade que as outras provas diagnósticas utilizadas na pesquisa de leptospiros. O DNA, por ser uma molécula bastante estável, pode ser facilmente detectada mesmo em amostras autolisadas ou com contaminantes, viabilizando o diagnóstico rápido e sensível em muitos casos que outras provas seriam inviáveis (LANGONI, 1999).

A profilaxia e controle da leptospirose dependem da identificação do sorovar predominante na propriedade, o que indica quais mecanismos de transmissão estão presentes. No caso de infecções incidentais, determinadas por sorovares que não são mantidos pelos bovinos, como Pomona, Icterohaemorrhagiae ou Bataviae, entre outros, deve-se identificar de que forma

o rebanho está sendo exposto ao contato com os reservatórios naturais destas variedades, como ratos e animais silvestres. Somente desta forma se poderá, pela adoção de medidas de higiene e de tecnificação da criação como um todo, controlar a leptospirose no rebanho. No entanto, quando a infecção é determinada pelo sorovar *hardjo*, cuja principal forma de transmissão é de bovino a bovino, três medidas devem ser praticadas simultaneamente: proibir a

introdução de novos animais no rebanho, salvo quando negativos ao sorodiagnóstico ou previamente tratados com dihidroestreptomicina; tratar os animais sororeagentes do rebanho com dihidroestreptomicina 25 mg/kg PV, em dose única; fortalecimento da imunidade utilizando uma vacina que contenha as principais variedades presentes na região, incluindo, se possível, amostras locais. O processo de controle deve ser monitorado pelo sorodiagnóstico anual (LILENBAUM, 1996).

A neosporose é uma enfermidade causada pelo protozoário *Neospora caninum*, sendo causa de abortos em bovinos em todos os continentes (ANDERSON et al., 2000; DUBEY, 2003; VALENZUELA, 2005) e portanto gera perdas econômicas diretas, como também custos indiretos associados a consultorias veterinárias para o diagnóstico, repetição de inseminação artificial ou monta, aumento do intervalo entre partos, perdas na produção leiteira e custos com a reposição dos animais descartados (BARR et al., 1995). A identificação das causas de abortos é necessária para um rápido controle e evitar maiores perdas econômicas, a qual gera um desafio permanente ao veterinário e ao produtor (DUBEY et al., 2002)

O ciclo de vida de *N. caninum* é dividido em três estágios infectantes: taquizoítos, bradizoítos, e oocistos. Os estágios de taquizoítos e cistos teciduais são intracelulares, e encontrados nos hospedeiros intermediários. Os bradizoítos são as formas encontradas em tecidos de bovinos e cães naturalmente infectados, mas não foram descritos em cães infectados experimentalmente (DITTRICH, 2002).

Até 2004 o cão doméstico era o único hospedeiro definitivo conhecido, quando Gondim et al. (2004) conseguiu incriminar o coiole (*Canis latrans*) também como hospedeiro definitivo para o *N. caninum*, e a presença destes animais em fazendas onde são criados bovinos tem sido considerada um fator de risco importante para a infecção e aborto por *N. caninum* em diferentes países (AGUIAR et al., 2006). Os oocistos de *N. caninum* esporulam fora de seu hospedeiro, e são morfologicamente semelhantes aos do *Toxoplasma gondii* e *Hammondia hammondi* presentes nas fezes de gatos e aos oocistos de *Hammondia heydonmi* em fezes de cães. Os hospedeiros intermediários de

N. caninum são os bovinos, eqüinos, caprinos, ovinos e cervos, camundongos, ratos, cães, raposas, caprinos, gatos, ovinos, coiotes, suínos, gerbils e coelhos.

Em bovinos, os dois mecanismos de transmissão conhecidos são a transmissão vertical ou congênita (transferência do parasito da mãe para o feto), e transmissão horizontal ou infecção pós-natal (ingestão de oocistos eliminados com as fezes de cães). O papel do oocisto na epidemiologia natural de *N. caninum* ainda é incerto, pois a infecção se mantém no rebanho por várias gerações, por meio da transmissão vertical (DITTRICH, 2002).

Os sinais clínicos são abortos, infertilidade, nascimento de bezerros natimortos ou doentes. Os abortos podem ocorrer em qualquer estação do ano, tanto em novilhas quanto em vacas. O período de gestação em que pode ocorrer o aborto é variável, podendo ocorrer do terceiro mês até o final da gestação, mas principalmente na metade da gestação (ANDERSON et al., 2000, DITTRICH, 2002).

O aborto associado à neosporose segue dois modelos: o epidêmico e o endêmico. Os abortos epidêmicos são menos comuns e caracterizam-se por várias ocorrências em um período de tempo curto (um a três meses), e geralmente 80% ou mais das vacas que abortam são sorologicamente positivas (WREN, 1999; ANDERSON et al., 2000). O modelo endêmico ocorre na maioria dos rebanhos com vacas infectadas congenitamente, caracterizado por uma taxa elevada de abortos, que persiste durante anos. Em alguns rebanhos podem ocorrer os dois modelos, onde em períodos mais curtos ocorrem vários abortos, e em outros períodos os casos de abortos são mais esporádicos (DITTRICH 2002).

As vacas infectadas congenitamente pelo *N. caninum*, apresentam maior número de abortos na primeira gestação, do que as não infectadas, e com repetição dos abortos nas gerações subsequentes (DITTRICH, 2002). As infecções congênitas e os abortos podem ocorrer em bovinos leiteiros ou de corte, com maior prevalência em rebanhos leiteiros (ANDERSON et al., 2000, DITTRICH, 2002). As vacas leiteiras infectadas possuem uma produtividade menor e são descartadas precocemente, diminuindo a vida produtiva (DITTRICH,2002).

A patogênese do aborto não é bem compreendida, existindo vacas soropositivas que não abortam. Segundo Hemphill et al. (2000) há alguns fatores que influenciam no resultado da infecção por *N. caninum* como a capacidade de infecção do feto, o momento da parasitemia durante a gestação, a intensidade e duração da parasitemia e a eficiência da resposta imune materna.

Alguns autores verificaram que no caso de vacas infectadas sete semanas antes da inseminação, os bezerros nasceram vivos e não infectados, sugerindo que a ocorrência ou não de aborto está relacionada ao momento da infecção, ou da reativação de uma infecção prévia (WILLIAMS et al., 1993). Quando a infecção ocorre no início da gestação, geralmente ocorre a morte fetal (DITTRICH, 2002).

A exposição primária de animais adultos ao *N. caninum* provavelmente não causa infecção permanente, ou a infecção primária de vacas não gestantes resulta numa resposta imune efetiva que previne a transmissão congênita em uma gestação futura. Existe uma diferença, entre as vacas infectadas pós-natal, e aquelas infectadas congenitamente, que geralmente transmitem o parasito à sua progênie (WILLIAMS et al., 2000 e McALLISTER, 2001).

Durante a gestação as alterações do sistema imune materno tornam o animal mais vulnerável à neosporose. O interferon gama (IFN γ) aumenta nas vacas infectadas com *N. caninum*, e inibe de maneira efetiva a multiplicação dos taquizoítos. Porém, a citocina IL-10, produzida por células trofoblásticas fetais, diminui a produção de IFN γ e pode influenciar na recrudescência de uma infecção crônica, causando a liberação dos bradizoítos dos cistos teciduais e parasitemia. Segundo Williams (1993) e Hemphill (2000), a neosporose é de causa multifatorial que resulta de um desequilíbrio entre a multiplicação do agente e a resposta imune materna e fetal.

A gestação pode ser um fator de reativação do agente que se encontra latente no cérebro de animais clinicamente normais, mas que já tiveram histórico de abortos. Dessa forma, os taquizoítos invadem a circulação

sanguínea, ocasionando infecção fetal. Esse mecanismo ainda não é conhecido precisamente (SAWADA et al., 2000).

A chance de sobrevivência do feto depende de sua idade gestacional no momento da infecção e da carga parasitária infectante. Animais que adquirem a infecção durante a gestação e que conseguem sobreviver, nascem na maioria das vezes normais, com neosporose subclínica. A manutenção da infecção no rebanho ocorre em elevada porcentagem, 80% a 90%, de bezerros que nascem de mães soropositivas e que foram infectados congenitamente (DITTRICH, 2002).

O nascimento de bezerros com neosporose clínica, com vários tipos de anormalidades no sistema nervoso, é uma manifestação menos comum da infecção fetal. Os sinais neurológicos mais comuns são deformações dos membros, como flexão ou hiper extensão dos membros, ataxia, diminuição dos reflexos patelares, perda de consciência proprioceptiva dos membros, paralisia, opistótono e incoordenação, exoftalmia ou aparência assimétrica dos olhos, deformações associadas com lesões das células nervosas embrionárias. Os bezerros podem apresentar peso baixo ao nascer, diminuição da massa muscular, fraqueza, dispnéia, e incapacidade de se levantar. Os sinais clínicos, em bezerros nascidos vivos e infectados por via congênita, aparecem geralmente dentro de três a cinco dias, ou até mesmo duas semanas após o nascimento. A principal lesão na neosporose clínica é a encefalomielite. As lesões podem regredir, permanecer estáticas ou progredirem (DITTRICH, 2002).

A infecção por *N. caninum* induz a produção de anticorpos. Porém, ainda não é possível determinar o início da infecção com base no exame sorológico, e pesquisas com testes sorológicos são importantes para os estudos da epidemiologia da infecção (ATKINSON et al., 2000). Os testes sorológicos mais utilizados em bovinos são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste imunoenzimático (ELISA – Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Estes necessitam de conjugado, um anticorpo espécie-específico, para detectar os anticorpos contra o agente (HEMPHILL et al., 2000).

A reação de imunofluorescência indireta é a metodologia de referência para a pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum*, considerada como padrão ouro. Para este método, o antígeno utilizado são os taquizoítos fixados inteiros nas lâminas, obtidos em cultivo *in vitro*. Os antígenos podem ser obtidos de cepas de *N. caninum* isoladas de cães e bovinos, não existindo indícios de que pequenas variações antigênicas entre os isolados afetem a eficácia dos testes (BJERKAS et al., 1994).

Peregine et al. (2006) sugeriram uma associação entre neosporose e leptospirose pela exposição dos bovinos a água contaminada, ingestão de oocistos de *N. caninum*, e contato com sorovares de *Leptospira*. Os resultados deste estudo em Ontário, no Canadá, indicaram que as duas infecções são eventos independentes, mas sugere que a infecção pelos dois agentes, aumente o risco de abortos por *N. caninum*. A infecção por *N. caninum* induz a produção de anticorpos. Porém, ainda não é possível determinar o início da infecção com base no exame sorológico, e pesquisas com testes sorológicos são importantes para os estudos da epidemiologia da infecção (ATKINSON et al., 2000).

Os testes sorológicos mais utilizados em bovinos são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste imunoenzimático (ELISA – Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Os testes de RIFI e ELISA necessitam de conjugado, um anticorpo espécie-específico, para detectar os anticorpos contra *N. caninum* (HEMPHILL et al., 2000).

A reação de imunofluorescência indireta é a metodologia de referência para a pesquisa de anticorpos de *N. caninum*, considerada como padrão ouro. No método de RIFI, o antígeno utilizado são os taquizoítos fixados inteiros nas lâminas, obtidos em cultivo *in vitro*. Os antígenos podem ser obtidos de cepas de *N. caninum* isoladas de cães e bovinos, não existindo indícios de que pequenas variações antigênicas entre os isolados afetem a eficácia dos testes (BJERKAS et al., 1994).

Como descrito anteriormente, o *Neospora caninum* pode ser eficientemente transmitido verticalmente, por inúmeras gerações. Portanto, a

única maneira de evitar a transmissão da mãe para o feto é o abate dos animais parasitados (DUBEY, 2003).

A transmissão pós-natal pode acontecer em propriedades onde não há ocorrência de surtos de abortos, pela presença de cães. Deve-se restringir o acesso dos cães as pastagens, ou instalações onde são criados os bovinos. Os cães não devem ter acesso a material de abortamento, membranas placentárias ou bezerros mortos para evitar infecção ou reinfecção pois ainda não se sabe se eles podem se reinfecar e eliminar oocistos no ambiente mais de uma vez. Ainda não se tem conhecimento de drogas que evitem a transmissão vertical da doença, mas inúmeras pesquisas estão sendo desenvolvidas nessa área (DUBEY, 2003).

Não existe vacina com eficiência comprovada contra neosporose disponível no mercado, no entanto, existem resultados de pesquisas promissoras com camundongos inoculados com taquizoítos de *Neospora caninum* inativados que tiveram a transmissão transplacentária bloqueada quando desafiados durante a gestação (DUBEY, 2003).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. GERAIS

Observar a presença de anticorpos contra 16 sorovares de *Leptospira* spp, de importância para herbívoros e contra *Neospora caninum*, em um rebanho de bovinos leiteiros, durante o período de seis meses, além de avaliar os níveis produtivos e reprodutivos do rebanho, com ênfase no impacto na produção da propriedade. Acompanhar a evolução da infecção nos animais sorologicamente positivos e negativos, na medida em que são submetidos às mesmas condições de manejo, e mantidos nas mesmas condições ambientais. Os resultados foram avaliados comparando-se as variáveis estudadas em dois grupos de animais.

2.2. ESPECÍFICOS

Verificar o efeito das infecções por *N. caninum* e *Leptospira* spp, do ponto de vista reprodutivo e produtivo, com base nas seguintes variáveis:

- Avaliar os índices produtivos (média de produção mensal das vacas em litros de leite) comparando os valores entre os grupos experimentais e verificando se existe associação entre os índices e as infecções por *Leptospira* spp e *Neospora caninum*;
- Avaliar os índices reprodutivos das vacas integrantes dos diferentes grupos, como intervalo entre o parto até a concepção, taxa de concepção no primeiro serviço, taxa de concepção em todos os serviços, serviços por concepção, idade ao primeiro parto, número de lactações;
- Avaliar o índice de mortalidade do rebanho em todas as faixas etárias;
- Verificar a associação entre as duas infecções.

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os exames foram realizados no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Zoonoses (NUPEZO) do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu – SP.

3.1. PROPRIEDADE

A propriedade escolhida, com o consentimento do proprietário, tem 840 hectares de área total, se localiza na rodovia SP 191, quilometro (km) 205, próxima ao município de São Pedro/SP. Tem 650 bovinos de corte, 750 bovinos leiteiros, com aproximadamente 300 vacas em lactação, em média. O sistema produtivo é completamente informatizado, e foram realizadas mensalmente, colheita de dados para posterior avaliação dos índices produtivos e reprodutivos individuais e do rebanho, que abastecem o banco de dados da propriedade. O sistema de ordenha é canalizado. O controle de roedores é realizado por gatos.

3.2. ANIMAIS

Foram utilizados bovinos da raça holandesa, puros de origem (P.O.), fêmeas, em lactação mantidas em sistema de semi-confinamento e ordenhadas três vezes ao dia. Os animais eram vacinados contra as seguintes doenças de caráter reprodutivo: IBR, BVD e brucelose. Foram anotados os dados referentes a idade, parto e número de novas inseminações de cada animal. Na propriedade utiliza-se a sincronização do cio dos animais com a aplicação de produtos a base de prostaglandina, que induz a regressão mais rápida do corpo lúteo, sendo um método bastante eficaz para animais que possuem ciclos estrais regulares. Em caso de abortamento, a conduta utilizada na propriedade é o encaminhamento dos fetos e outros materiais para diagnóstico diferencial das enfermidades infecciosas e descarte de causas fisiológicas ou patológicas não infecciosas.

3.2.1. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram agrupados em dois grupos, após a realização dos testes sorológicos, a saber:

- Grupo 1: 30 animais sorologicamente negativos para leptospirose e neosporose.
- Grupo 2: 30 animais reagentes para um ou mais sorovares de *Leptospira spp* e negativos para neosporose.

Cada grupo foi analisado quanto às variáveis indicadas nos objetivos específicos.

3.2.2. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Devido à imprevisibilidade no descarte dos animais, foram colhidas amostras de sangue total por punção da veia mamária de todas as vacas em lactação para a realização dos exames sorológicos e posterior formação dos grupos experimentais. Foram utilizados tubos de ensaio do tipo Wassermann sem anticoagulante, identificados com o número de cada animal do lote e momento de coleta. As amostras foram encaminhadas ao laboratório do NUPEZO, onde foram registradas, e centrifugadas durante 10 minutos a 3000 rotações por minuto (rpm) para a separação do soro, que foi aliquoteado em microtubos etiquetados, de acordo com o protocolo da pesquisa e congelados de - 4°C a - 8°C até a realização da sorologia.

3.3. SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM) PARA DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE

Para o diagnóstico da leptospirose utilizou-se a técnica de sorosaglutinação microscópica, de acordo com as normas do Ministério da Saúde (BRASIL, 1995). Foram utilizados antígenos vivos de 16 sorovares de leptospirosas patogênicas de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Genomespécie, sorogrupo e sorovares, utilizados na prova de soroaglutinação microscópica (SAM), para o diagnóstico da infecção por *Leptospira* spp, em amostras de soro bovino no laboratório do Serviço de Diagnóstico em Zoonoses (SDZ) – Botucatu – SP.

GENOMESPÉCIE	SOROGRUPO	SOROVAR	CÓDIGO
<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava	1B
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	5
<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	8A
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	11B
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	11A
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	14A
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	15
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjo (Prajitno)	PRA
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolffi	16B
<i>L. borgpetersenii</i>	Mini	Mini (CTG)	CTG
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Hardjo (Bovis)	BOV
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis	3
<i>L. kirshneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	9
<i>L. borgpetersenii</i>	Mini	Mini	MIN
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Hardjo	16A
<i>L. noguchii</i>	Shermani	Tarassovi	18

Os antígenos foram mantidos por repiques semanais em meio de Ellinghausen-MacCullough-Jonhson-Harris (EMJH), em estufa de 28 a 31°C, sendo utilizadas culturas de 4 a 14 dias, que não apresentavam contaminantes nem auto-aglutinação. A bateria de antígenos empregada na SAM incluiu representantes de sorogrupos dos sorovares importantes para os herbívoros. No momento da prova, os antígenos foram diluídos em solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7.6 na diluição 1:2, calculando-se o volume de cada antígeno de acordo com a quantidade necessária para a prova.

A primeira etapa foi de triagem, onde os soros foram diluídos a 1:50, colocando-se 100µL deste em 4,9 ml de PBS pH 7.6 em tubo tipo Wassermann, identificados com o número da amostra testada. Em microplaca devidamente identificada, foram pipetados 50µL de soro diluído nas respectivas perfurações, formando-se uma fileira. O número de poços preenchidos foi de acordo com o número de sorovares testados. O mesmo foi realizado para o controle, pipetando-se PBS pH 7.6. A seguir foram adicionados nos respectivos poços, inclusive nos controles, 50µL das suspensões antigênicas correspondentes, procedendo-se assim a diluição 1:100. As placas foram mantidas em estufa a 37°C por uma hora, e a seguir, com o auxílio de alça bacteriológica de 2mm de diâmetro, colocava-se uma gota de cada poço, dispostas em fileiras sobre uma lâmina microscópica, examinando-se sem a utilização de lamínula, em microscópio de campo escuro, com óleo de imersão colocado entre a lâmina e o condensador, utilizando-se objetiva e ocular de 10x. Foram consideradas reagentes, as amostras com 50% ou mais de leptospiros aglutinadas, tendo como referência os respectivos controles.

Após a etapa de triagem foi realizada a titulação das amostras. A partir da diluição 1:50, foram preparadas mais seis diluições do soro consecutivas e ao dobro (títulos 100 a 3200), em microplacas com fileiras com seis poços correspondendo à titulação de um determinado sorovar. Foi utilizado também um poço como controle de cada antígeno testado. Foram pipetados 100µL do soro diluído no primeiro poço de reação do sorovar em teste, e 50µL de PBS pH 7.6 nos demais. Para a obtenção da diluição desejada, foram pipetados 50µL da primeira diluição, e após homogeneização, para a próxima, agindo-se assim sucessivamente, desprezando-se 50µL da última diluição. Ao final, todos

os poços continham as diluições 1:50, 1:100, 1:200 ou maiores, em cada fileira, correspondendo aos títulos 50, 100, 200, assim por diante.

A seguir pipetava-se 50µL de antígeno, ou seja, do sorovar correspondente a cada poço bem como no controle. Nesta etapa as diluições do soro foram equivalentes a 1:100 até 1:3200, de acordo com o protocolo estabelecido. As placas foram incubadas a 37°C por 60 minutos, e a leitura procedida como na prova de triagem. Foram considerados como títulos a maior diluição do soro capaz de ainda aglutinar 50% ou mais das leptospiros em relação ao controle, estabelecendo-se como ponto de corte ou reagente, a partir do título 100.

3.4. REAÇÃO DE IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI) PARA DIAGNÓSTICO DE NEOSPOROSE

Empregou-se a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para a pesquisa de anticorpos anti *N. caninum*. Esta prova foi utilizada, pois é considerada a metodologia de referência para a pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* (DITTRICH, 2002).

O princípio da RIFI é a detecção de anticorpos direcionados aos antígenos de superfície celular dos taquizoítos de *N. caninum*. Como esses antígenos são considerados mais específicos do que os componentes intracelulares, os taquizoítos inteiros de *N. caninum* foram fixados nos orifícios de lâminas adequadas para este fim. Os anticorpos contra *N. caninum* presentes no soro, ligam-se aos taquizoítos do parasita. A seguir, utiliza-se anti-soro específico, conjugado ao isotiocianato de fluoresceína, para a formação de um complexo imune estável. Esta reação é detectada pela fluorescência dos taquizoítos.

As lâminas, utilizadas como antígenos, foram produzidas no laboratório do NUPEZO, com a cepa NC-1 de *N. caninum*, mantida *in vitro*, cedida gentilmente pela Professora Dra. Solange Maria Gennari e pela médica veterinária Dra. Hilda Fátima de Jesus Pena, da Universidade de São Paulo – USP – São Paulo. Para a manutenção da cepa NC-1 de *N. caninum in vitro* utilizou-se a cultura em células Vero, cultivadas em meio RPMI 1640,

suplementado com soro fetal bovino a 10%. As amostras de soros foram inicialmente triadas, considerando-se como ponto de corte o título 25. Em microplacas, seguindo-se protocolo, foram diluídos 5µL de cada amostra de soro em 120µL solução salina tamponada (SST) pH 7,2; incluindo-se os soros controles positivo e negativo. Após diluição, foram pipetados 10µL de cada amostra de soro nos poços das lâminas, que foram incubadas em câmara úmida a 37°C durante 30 minutos. A seguir lavadas, com SST pH 7,2 em dois banhos de 10 minutos cada. Após secagem, adicionou-se em cada poço da lâmina, o conjugado anti-IgG bovino preparado em solução de azul de Evans, previamente diluído 1:5 em SST pH 7,2.

Para a titulação das amostras positivas, foram testadas diluições ao dobro, ou seja, 1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 e 1:800. Nos casos de ocorrência de reação na última diluição testada, as amostras foram submetidas a novas diluições, para obtenção do título final.

3.5. AVALIAÇÃO DOS ÍNDICES PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS

Os principais parâmetros utilizados para avaliar a eficiência reprodutiva estão expostos na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros de fertilidade calculados como objetivos a serem atingidos com o estudo.

Parâmetros	Objetivo
Intervalo entre partos (dias)	365 – 395
Intervalo entre o parto até a concepção (dias)	85 – 115
Taxa de concepção no primeiro serviço (%)	50 – 60
Taxa de concepção em todos os serviços (%)	45 – 55
Serviços por concepção	1,7 – 2,2
Idade ao primeiro parto (meses)	23 – 25
Número de lactações durante a vida	> 3
Taxa de abortos (%)	< 5

(Fonte: adaptado de RADOSTITS et al., 2001)

Os índices produtivos e reprodutivos, no que se refere à média mensal de produção de leite, em litros; intervalo entre o parto até a concepção, taxa de concepção no primeiro serviço, taxa de concepção em todos os serviços, serviços por concepção, idade ao primeiro parto e número de lactações, foram obtidos pelo levantamento do histórico, de cada animal, armazenado no banco de dados da propriedade e mensalmente durante o período de seis meses do experimento.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

O estudo é do tipo observacional longitudinal, e avaliou-se a interação da infecção por *Leptospira* spp sobre os parâmetros produtivos e reprodutivos.

Para os resultados de produção leiteira, para cada mês, calculou-se o log correspondente. Este valor foi utilizado para se calcular a área sobre a curva (ASC) para cada animal, calculando-se a seguir a média e o desvio-padrão. As ASC da produção leiteira foram comparadas entre os grupos 1 e 2 pelo teste t de Student.

Variáveis com distribuição livre (idade, intervalo entre partos, intervalo entre parto e concepção, número de inseminações artificiais e número de lactações) foram comparadas entre os grupos pelo teste de Mann-Whitney .

Variáveis dicotômicas (perda embrionária, retenção de placenta e concepções ao primeiro serviço) foram comparadas entre si pelos testes Exato de Fischer ou de Qui-quadrado.

Todas as análises foram realizadas considerando-se um nível de significância de 5% (TRIOLA, 2005).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Na primeira coleta, todos os animais em lactação foram testados para ambas doenças, para a formação dos grupos experimentais, sendo que apenas os grupos 1 e 2 puderam ser formados devido a ausência de novos animais sorologicamente positivos para neosporose, na propriedade. Dos 320 animais testados na primeira coleta 25,625% (82/320) foram reagentes para pelo menos um dos oito sorovares encontrados. Nas coletas seguintes, os animais dos grupos 1 e 2 foram testados para leptospirose e neosporose, e os demais animais em lactação foram testados para neosporose, mesmo os que não se enquadravam no experimento, na tentativa de obtenção de novos animais sorologicamente positivos, entretanto, não se obteve soroconversão para neosporose em nenhum animal.

4.1. SOROLOGIA

A seguir, são apresentados os resultados das provas sorológicas do Grupo 1 e Grupo 2, realizadas mensalmente, de junho a novembro de 2008 pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM), para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. Quanto a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* o único animal reagente foi o animal 1656, que representava uma frequência de 0,312% entre os animais 320 animais analisados na primeira coleta.

Tabela 3. Resultados dos exames sorológicos para leptospirose pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) dos animais do Grupo 1. Botucatu, 2009.

Nome/Número	jun/08	jul/08	ago/08	set/08	out/08	nov/08
275	NR*	NR	NR	NR	NR	NR
490	NR	NR	NR	NR	NR	NR
523	NR	NR	NR	NR	NR	NR
575	NR	BOV (100)	BOV(100)	NR	NR	NR
745	NR	NR	NR	NR	NR	NR
937	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1028	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1077	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1099	NR	NR	NR		NR	NR
1123	NR	NR	NR	NR	NR	15 (100)
1124	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1127	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1144	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1146	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1170	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1209	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1237	NR	NR	NR	CTG (200)	CTG (100)	CTG (100)
1238	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1240	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1280	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1312	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1316	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1327	NR	NR	15 (200)	NR	NR	NR
1331	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1339	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1345	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1355	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1371	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1380	NR	NR	NR	NR	NR	NR
1396	NR	NR	NR	NR	NR	NR

Legenda: NR: animais não-reagentes; 15: Pyrogenes; BOV: Hardjo (Bovis); CTG: Mini (CTG)

Tabela 4. Resultados mensais dos exames sorológicos para leptospirose pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) dos animais do Grupo 2. Botucatu, 2009.

Nome/Número	jun/08	jul/08	ago/08	set/08	out/08	nov/08
444	PRA (200)	PRA (200)	PRA (100)	NR	NR	NR
539	11A (100), BOV (100)	BOV (200)	BOV (200)	BOV (100)	BOV (200)	BOV (100)
540	PRA (200)	PRA (100)	PRA (100)	PRA (100)	NR	NR
658	15(100), CTG (200)	CTG (200)	CTG (200)	CTG (100)	CTG (100), MIN (100)	CTG (100)
719	MIN (400), CTG (100)	MIN (400)	MIN (800), CTG (100)	MIN (200)	MIN (100)	Min (200)
972	15 (100)	15 (100)	NR	NR	NR	NR
1122	CTG (100)	CTG (200)	CTG (100)	NR	NR	NR
1188	15 (100)	15 (200)	15 (200)	15 (100)	15 (100)	NR
1193	CTG (100)	NR	NR	NR	CTG (100), MIN (100)	CTG (100)
1207	15 (100)	15 (200)	15 (100)	15 (100) CTG (100)	NR	NR
1212	15 (200)	15 (200)	15 (100)	NR	15 (100)	NR
1231	PRA (100)	PRA (100)	PRA (200)	PRA (100)	PRA (100)	PRA (100)
1243	CTG (200)	CTG (100)	CTG (100)	CTG (100)	CTG (100)	CTG (100)
1273	CTG (100), P (100)	NR	NR	NR	NR	NR
1329	CTG (200)	CTG (100)	NR	NR	CTG (100)	CTG (100)
1370	11B (100)	NR	NR	11B (100)	11B (200)	11B (100)
1409	PRA (400)	PRA (200)	PRA (200)	PRA (100)	NR	PRA (100)
1498	PRA (100), MIN (400)	PRA (100), MIN (200)	MIN (200)	MIN (200)	MIN (100)	MIN (100)
1504	16B (100), BOV (800)	BOV (800)	BOV (200)	BOV (200)	NR	BOV (100)
1527	BOV (400)	BOV (200)	BOV (200)	BOV (200)	BOV (100)	BOV (100)
1569	15 (200)	15 (200)	NR	NR	15 (100)	NR
1587	CTG (400)	CTG (200)	CTG (200)	CTG (100)	CTG (100)	CTG (100)
1613	16A (100), PRA (400)	PRA (400)	PRA (200)	PRA (100)	NR	NR
1630	16B (100)	16B (200), BOV (100)	16B (100)	NR	NR	NR
1638	MIN (200)	MIN (200)	MIN (100)	MIN (200)	MIN (100)	NR
1651	CTG (100)	NR	NR	NR	NR	NR
1674	CTG (100)	CTG (100)	NR	NR	CTG (100)	CTG (100)
1693	CTG (200)	CTG (100)	CTG (200)	CTG (100)	NR	NR
1703	BOV (100)	NR	NR	NR	NR	NR
1720	15 (200)	15 (100)	NR	15 (100)	NR	NR

Legenda: NR: animais não-reagentes; 11B: Icterohaemorrhagiae; 15: Pyrogenes; 16A: Hardjo; 16B: Wolffi; BOV: Hardjo (Bovis); PRA: Hardjo (Prajtno); MIN: Mini; CTG: sorovar Mini (CTG)

4.2. ÍNDICES PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

As informações colhidas no banco de dados da propriedade estão tabuladas e cada uma delas refere-se a um índice produtivo ou reprodutivo, seguida de sua respectiva análise estatística. Foram considerados animais negativos aqueles que permaneceram não-reagentes durante os 6 meses de experimento e positivos os animais do Grupo 2, e os 4 animais do Grupo 1 que soroconverteram em algum momento do experimento.

Tabela 5. Produção mensal de leite, em litros, durante o período experimental e valor total (em litros) da última lactação. Botucatu, 2009.

Grupo 1 Produção de Leite (L)								Grupo 2 Produção de leite (L)							
Animal	junho	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	Total última lactação (L)	Animal	junho	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	total última lactação
275	1033	1123	995	1010	903	890	9753	444	543	545	540	530	539	542	6254
490	640	683	648	663	638	597	6671	539	250	244	241	245	239	238	3229
523	505	459	449	438	443	447	4301	540	555	549	558	553	548	540	5512
575	378	302	307	350	346	345	3334	658	395	392	385	390	391	388	4095
745	1112	997	1025	1036	993	989	10962	719	632	615	575	581	583	579	6319
937	689	705	694	682	687	699	6536	972	203	195	197	201	196	190	2419
1028	312	315	322	305	308	297	2962	1122	572	572	571	569	569	570	5563
1077	833	850	852	865	851	848	7756	1188	222	218	223	220	218	221	2340
1099	1402	1396	1397	1388	1350	1294	13470	1193	501	500	503	498	500	497	4912
1123	323	315	321	328	308	306	2903	1207	1452	1445	1447	1450	1440	1444	13194
1124	805	797	799	784	786	757	7694	1212	120	128	121	119	117	119	1408
1127	1503	1485	1497	1499	1495	1489	14570	1231	1301	1297	1280	1290	1292	1288	12263
1144	281	267	272	273	304	254	2405	1243	1294	1311	1302	1309	1303	1299	13407
1146	1001	1012	999	995	1003	990	10844	1273	304	300	297	301	300	298	3169
1170	530	525	529	531	527	532	5562	1329	313	312	310	317	315	311	3144
1209	667	672	657	654	640	636	7025	1370	284	288	282	283	280	285	3203
1237	702	709	704	697	690	693	6477	1409	310	315	313	312	311	315	3590
1238	198	200	197	186	188	185	2078	1498	1078	1080	1074	1068	1066	1069	11400
1240	717	723	720	718	714	715	6939	1504	680	678	673	674	680	672	7872
1280	1050	1066	1058	1056	1060	1057	9911	1527	1345	1343	1340	1339	1340	1341	14281
1312	502	494	496	488	490	486	4545	1569	598	595	601	596	598	596	6550
1316	875	888	868	885	890	883	8263	1587	274	278	279	273	270	275	3091
1327	456	471	460	470	459	466	4131	1613	998	995	997	990	984	986	10786
1331	1002	1012	1005	997	1004	1000	9124	1630	301	295	295	297	292	287	2724
1339	506	498	503	504	499	501	4723	1638	1012	999	995	998	1005	1001	9180
1345	497	490	486	488	479	481	4943	1651	1408	1394	1399	1387	1393	1390	13934
1355	402	391	387	393	390	387	3708	1674	775	770	791	784	777	765	7892
1371	975	986	981	984	988	979	8890	1693	258	265	263	255	259	253	2919
1380	1305	1293	1297	1302	1298	1300	11245	1703	712	715	712	709	703	697	6815
1396	873	880	874	870	888	871	8520	1720	385	383	375	377	371	368	4081

Tabela 6. Mediana (Med), percentis (P25 e P75), mínimos (Min) e máximos (Max) da produção de leite, em litros, de bovinos segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Meses	Negativos					Positivos				
	Med	P25	P75	Min	Max	Med	P25	P75	Min	Max
Junho	761,00	505,25	1001,75	198,00	1503,00	549,00	301,75	942,25	120,00	1452,00
Julho	760,00	495,00	1008,25	200,00	1485,00	547,00	296,25	938,75	128,00	1445,00
Agosto	759,50	497,75	998,00	197,00	1497,00	549,00	295,50	944,00	121,00	1447,00
Setembro	751,00	492,00	996,50	186,00	1499,00	541,50	298,00	938,50	119,00	1450,00
Outubro	750,00	492,25	991,75	188,00	1495,00	543,50	294,00	932,25	117,00	1440,00
Novembro	736,00	489,75	986,50	185,00	1489,00	541,00	289,75	930,75	119,00	1444,00

Tabela 7. Média \pm desvio-padrão da área sobre a curva (AUC) do log da produção de leite de bovinos segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Grupo	Média \pm desvio-padrão
Negativos	14,13 \pm 1,12 ^b
Positivos	13,54 \pm 1,50 ^a

Estatística: medianas seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste t de Student.

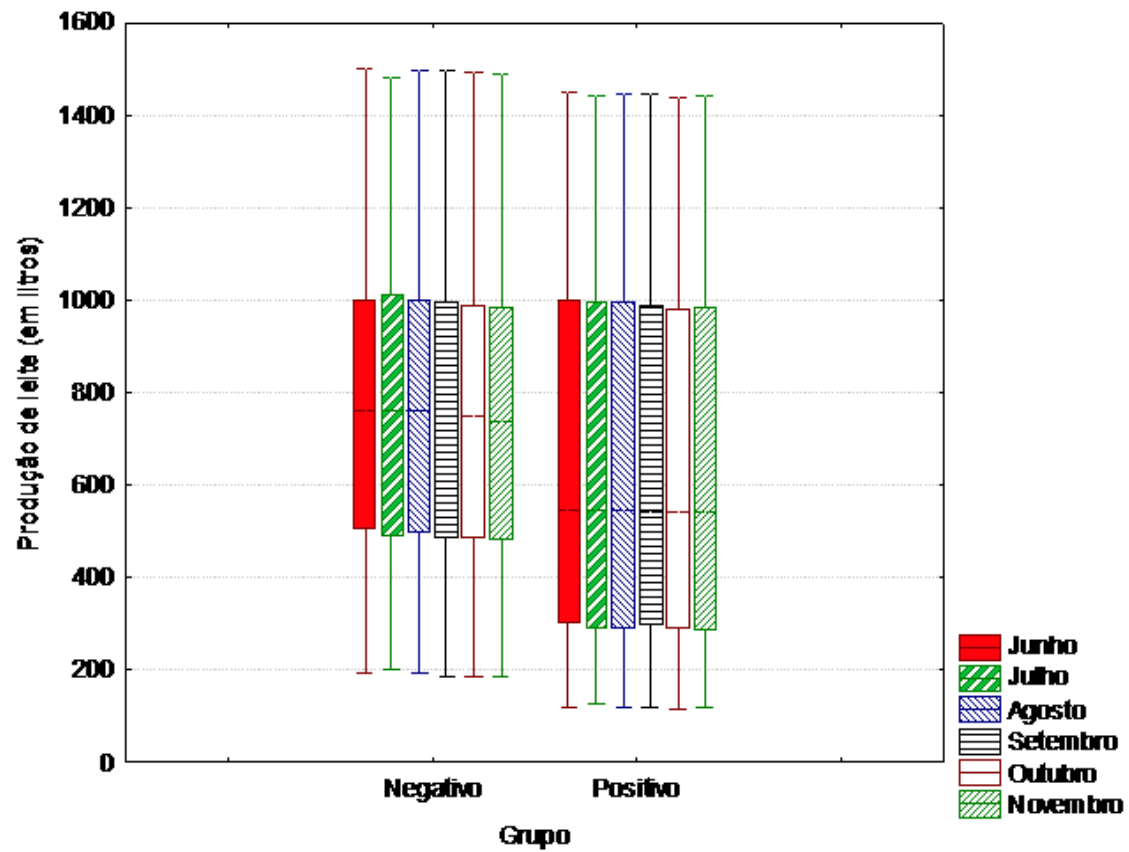


Figura 1. Valores mínimos e máximos, mediana e percentis (P25 e P75) da produção de leite de vacas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp nos diferentes meses. Botucatu, 2009.

Tabela 8. Idade dos animais, em meses, ao primeiro parto. Botucatu, 2009.

Grupo 1		Grupo 2	
Animal	Idade (meses)	Animal	Idade (meses)
275	23	444	23
490	23	539	24
523	24	540	23
575	23	658	23
745	25	719	23
937	23	972	23
1028	25	1122	23
1077	24	1188	26
1099	24	1193	25
1123	23	1207	24
1124	23	1212	24
1127	22	1231	26
1144	23	1243	25
1146	23	1273	23
1170	24	1329	23
1209	23	1370	23
1237	23	1409	23
1238	23	1498	23
1240	23	1504	23
1280	24	1527	22
1312	23	1569	24
1316	23	1587	23
1327	23	1613	23
1331	23	1630	25
1339	25	1638	25
1345	23	1651	23
1355	23	1674	23
1371	23	1693	23
1380	23	1703	24
1396	24	1720	23
Média	23,36	Média	23,6

Tabela 9. Mediana e percentis (P25 e P75) da idade ao primeiro parto, em meses, de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Grupo	Mediana	P25	P75
Negativos	23,00 ^a	23,00	23,00
Positivos	23,00 ^a	24,00	24,00

Estatística: medianas seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney.

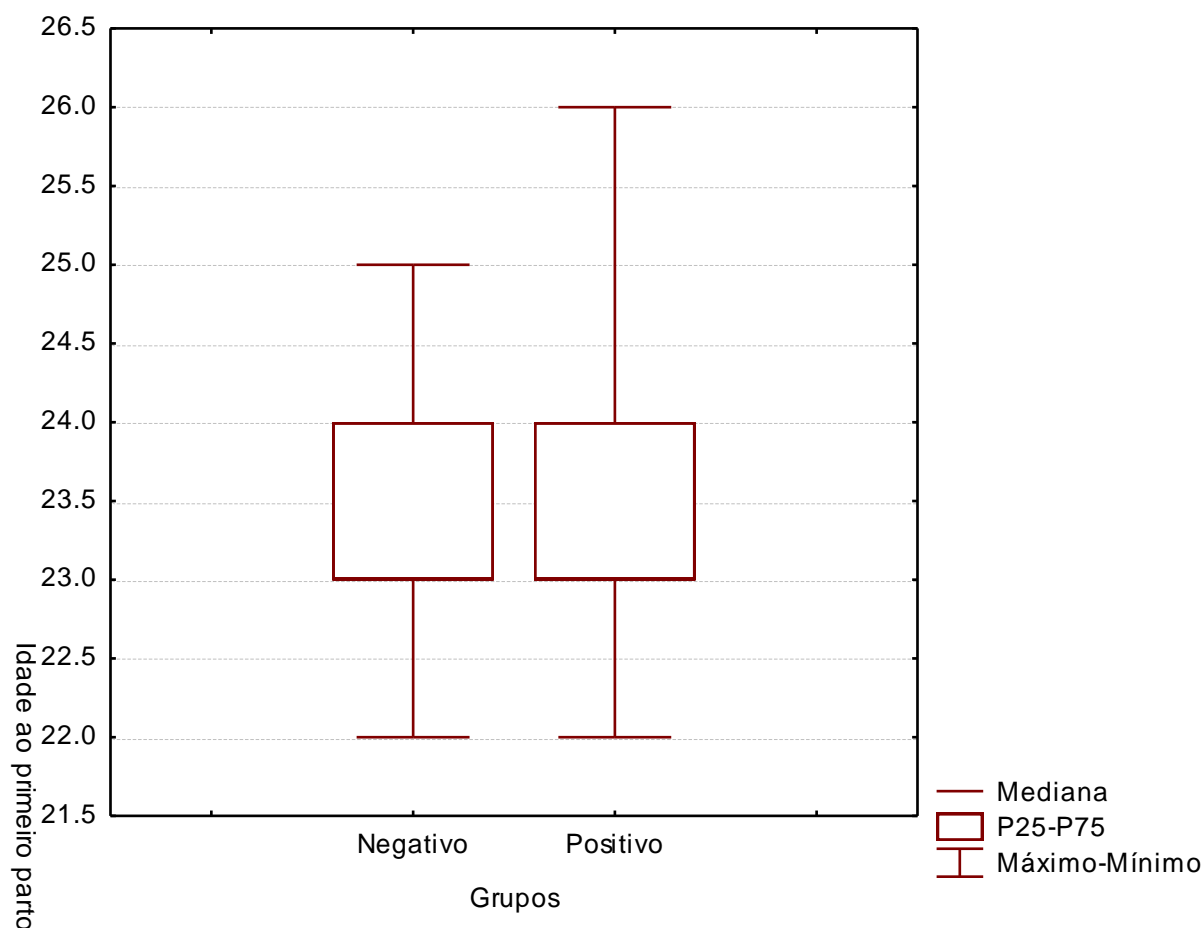


Figura 2. Mediana (traço), percentis P25 e P75 (caixa) da idade ao primeiro parto, em meses, de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Tabela 10. Intervalo entre partos, em meses, dos animais dos Grupos 1 e 2 referente ao último parto.

Grupo 1		Grupo 2	
Animal	Intervalo entre partos (meses)	Animal	Intervalo entre partos (meses)
275	12,9	444	12,9
490	16,2	539	14
523	12,2	540	11,7
575	11,7	658	12,5
745	21,5	719	14,9
937	11,8	972	18,1
1028	11,1	1122	13,3
1077	16,5	1188	13,5
1099	18,1	1193	11,4
1123	11	1207	14,6
1124	15,8	1212	21,2
1127	12,8	1231	16,9
1144	10,9	1243	20,5
1146	21,2	1273	12,1
1170	12,8	1329	12,6
1209	13,3	1370	16,9
1237	11	1409	17,4
1238	11,1	1498	14,9
1240	11,4	1504	11,3
1280	16,5	1527	27,1
1312	12,2	1569	13,8
1316	12,1	1587	16
1327	17,7	1613	12,5
1331	16,9	1630	13,2
1339	13,3	1638	11,9
1345	11,4	1651	14,6
1355	11,4	1674	16,7
1371	12,5	1693	15,2
1380	12,3	1703	15,6
1396	16,9	1720	12,7

Tabela 11. Mediana e percentis (P25 e P75) do intervalo entre partos, em meses, de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Grupo	Mediana	P25	P75
Negativos	12,00 ^a	11,25	12,00
Positivos	14,00 ^b	16,00	16,00

Estatística: medianas seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney.

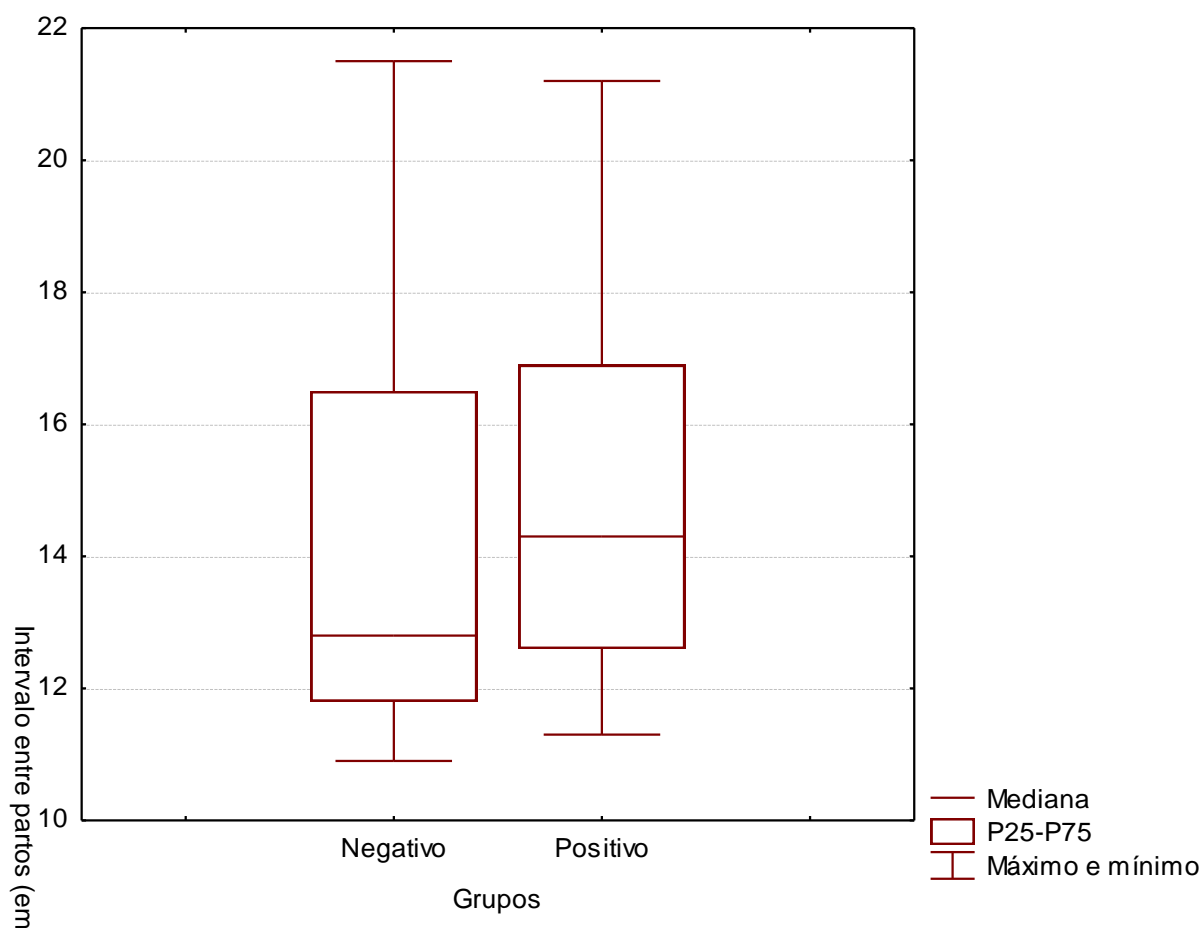


Figura 3. Mediana (traço), percentis P25 e P75 (caixa) do intervalo entre partos, em meses, de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Tabela 12. Intervalo entre parto e concepção dos animais dos Grupos 1 e 2. Botucatu, 2009.

Grupo 1		Grupo 2	
Animal	Intervalo entre parto a concepção (meses)	Animal	Intervalo entre parto a concepção (meses)
275	2	444	7
490	3	539	7
523	3	540	4
575	3	658	3
745	7	719	12
937	7	972	3
1028	5	1122	5
1077	6	1188	8
1099	3	1193	9
1123	5	1207	2
1124	3	1212	7
1127	11	1231	11
1144	7	1243	5
1146	3	1273	12
1170	3	1329	3
1209	11	1370	4
1237	3	1409	3
1238	7	1498	2
1240	6	1504	3
1280	9	1527	10
1312	7	1569	3
1316	3	1587	3
1327	2	1613	4
1331	4	1630	8
1339	4	1638	2
1345	10	1651	2
1355	4	1674	2
1371	3	1693	12
1380	7	1703	3
1396	3	1720	8

Tabela 13. Mediana e percentis (P25 e P75) do intervalo entre parto e concepção, em meses, de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Grupo	Mediana	P25	P75
Positivos	5,00 ^a	3,00	8,00
Negativos	4,00 ^a	3,00	7,00

Estatística: medianas seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney.

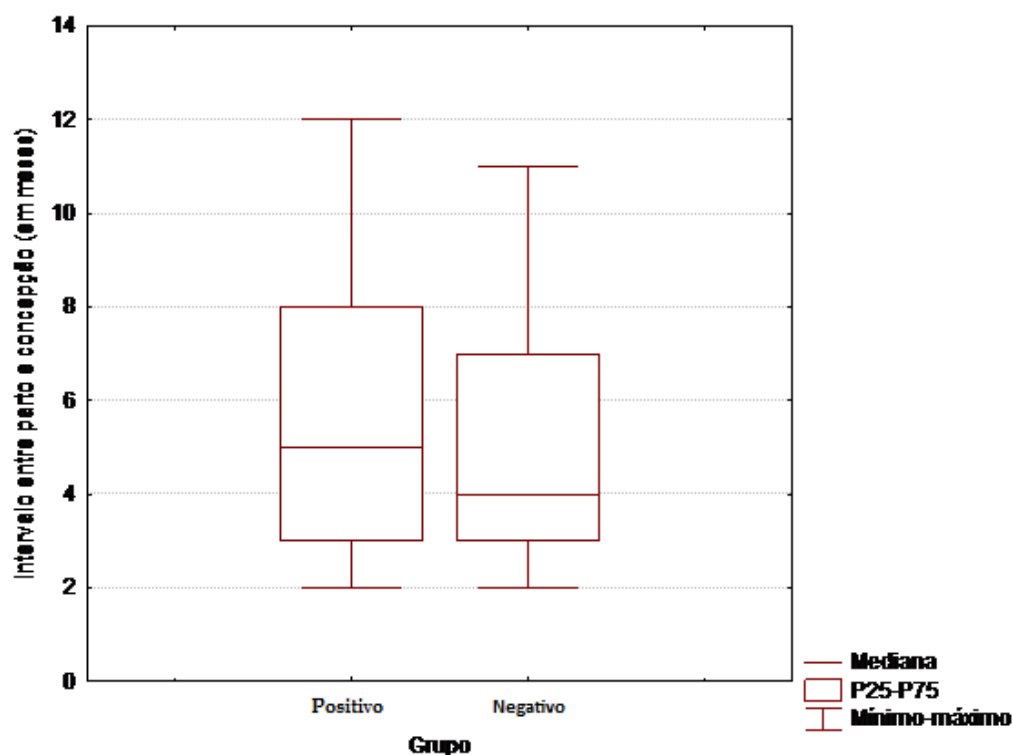


Figura 4. Mediana (traço), percentis P25 e P75 (caixa) do intervalo entre parto e concepção, em meses, de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Tabela 14. Número de serviços (inseminações artificiais) por concepção. Botucatu, 2009.

Grupo 1		Grupo 2	
Animal	Número de IA	Animal	Número de IA
275	2	444	1
490	4	539	5
523	1	540	1
575	1	658	2
745	6	719	8
937	1	972	2
1028	1	1122	4
1077	4	1188	2
1099	4	1193	1
1123	1	1207	1
1124	1	1212	1
1127	5	1231	9
1144	4	1243	3
1146	6	1273	3
1170	4	1329	5
1209	2	1370	5
1237	1	1409	1
1238	1	1498	3
1240	0	1504	7
1280	5	1527	9
1312	3	1569	6
1316	1	1587	1
1327	4	1613	1
1331	7	1630	2
1339	4	1638	2
1345	4	1651	5
1355	1	1674	2
1371	5	1693	1
1380	2	1703	3
1396	1	1720	2

Tabela 15. Mediana e percentis (P25 e P75) do número de inseminações de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Grupo	Mediana	P25	P75
Negativos	3,50 ^a	1,00	4,00
Positivos	2,00 ^a	1,00	5,00

Estatística: medianas seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney.

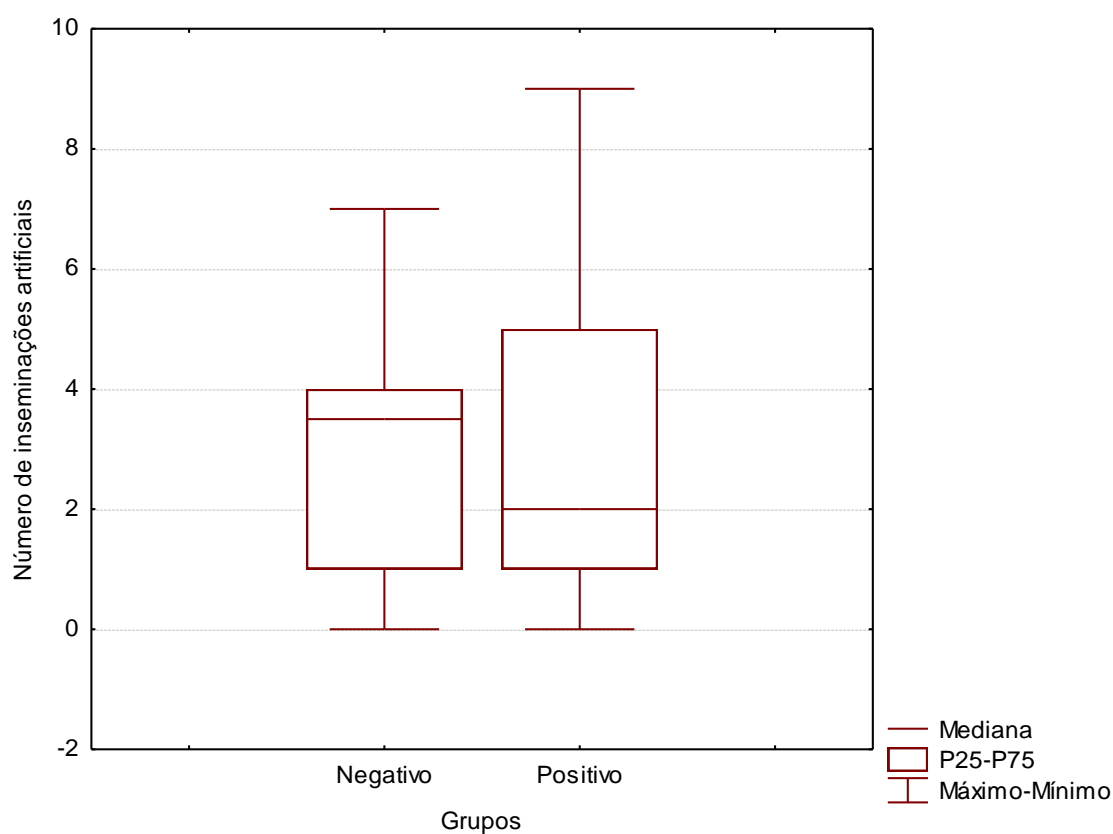


Figura 5. Mediana (traço), percentis P25 e P75 (caixa) do número de inseminações de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Tabela 16. Idade, em anos, dos animais do Grupo 1 e Grupo 2. Botucatu, 2009.

Idade			
Grupo 1		Grupo 2	
Nome/Número	Idade (anos)	Nome/Número	Idade (anos)
275	10	444	5
490	9	539	9
523	9	540	9
575	8	658	11
745	10	719	10
937	9	972	9
1028	8	1122	7
1077	7	1188	7
1099	7	1193	7
1123	5	1207	7
1124	7	1212	7
1127	7	1231	6
1144	7	1243	7
1146	7	1273	8
1170	7	1329	6
1209	7	1370	6
1237	6	1409	6
1238	6	1498	5
1240	6	1504	3
1280	8	1527	5
1312	6	1569	5
1316	6	1587	4
1327	6	1613	4
1331	6	1630	4
1339	6	1638	4
1345	6	1651	4
1355	6	1674	4
1371	6	1693	4
1380	6	1703	4
1396	6	1720	4

Tabela 17. Mediana e percentis (P25 e P75) da idade, em anos, de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Grupo	Mediana	P25	P75
Negativos	7,00 ^b	6,00	7,75
Positivos	6,00 ^a	4,00	6,00

Estatística: medianas seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney.

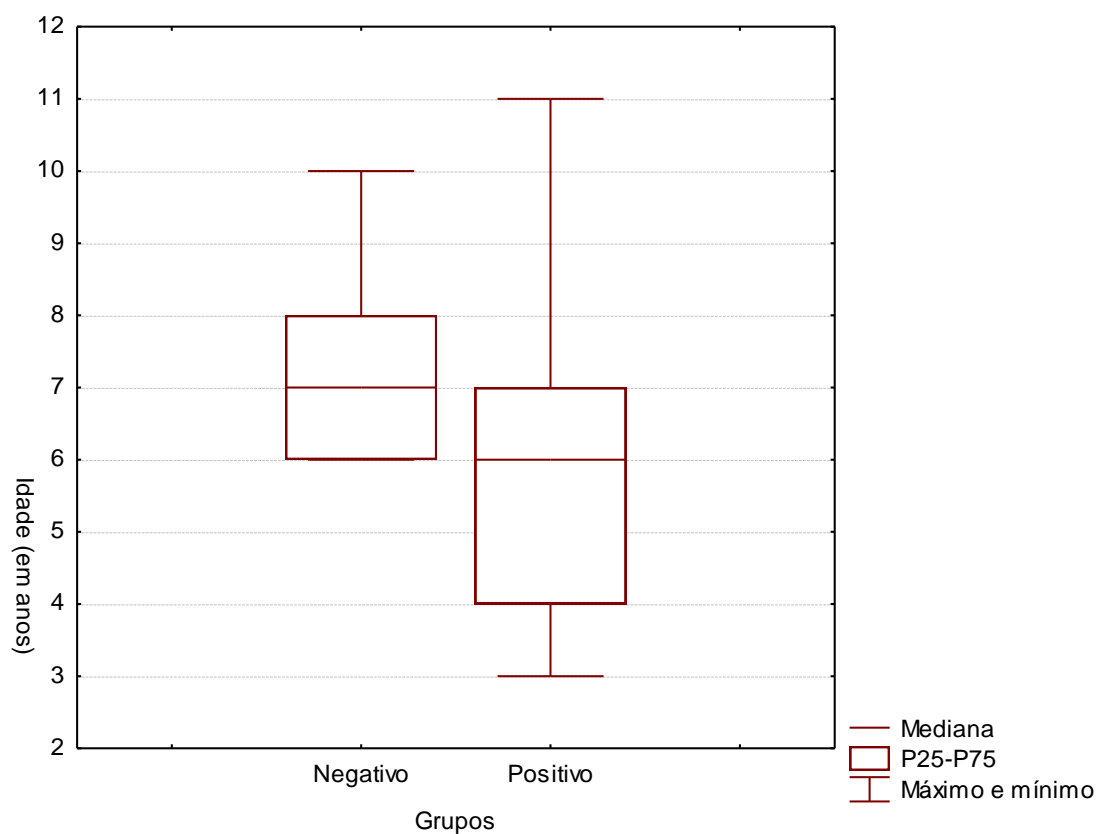


Figura 6. Mediana (traço), percentis P25 e P75 (caixa) da idade, em anos, de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Tabela 18. Número de lactações dos animais do grupo 1 e 2. Botucatu, 2009.

Grupo 1		Grupo 2	
Animal	Número de lactações	Animal	Número de lactações
275	9	444	4
490	7	539	7
523	8	540	8
575	7	658	10
745	7	719	9
937	8	972	6
1028	7	1122	6
1077	4	1188	6
1099	4	1193	6
1123	4	1207	5
1124	5	1212	4
1127	6	1231	4
1144	6	1243	4
1146	4	1273	7
1170	6	1329	5
1209	6	1370	3
1237	5	1409	4
1238	5	1498	3
1240	5	1504	1
1280	6	1527	3
1312	7	1569	4
1316	5	1587	2
1327	4	1613	3
1331	4	1630	3
1339	5	1638	3
1345	5	1651	2
1355	5	1674	3
1371	5	1693	2
1380	5	1703	2
1396	4	1720	3

Tabela 19. Mediana e percentis (P25 e P75) do número de lactações de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Grupo	Mediana	P25	P75
Negativos	5,00 ^b	5,00	6,75
Positivos	4,00 ^a	3,00	6,00

Estatística: medianas seguidas de letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos, pelo teste de Mann-Whitney.

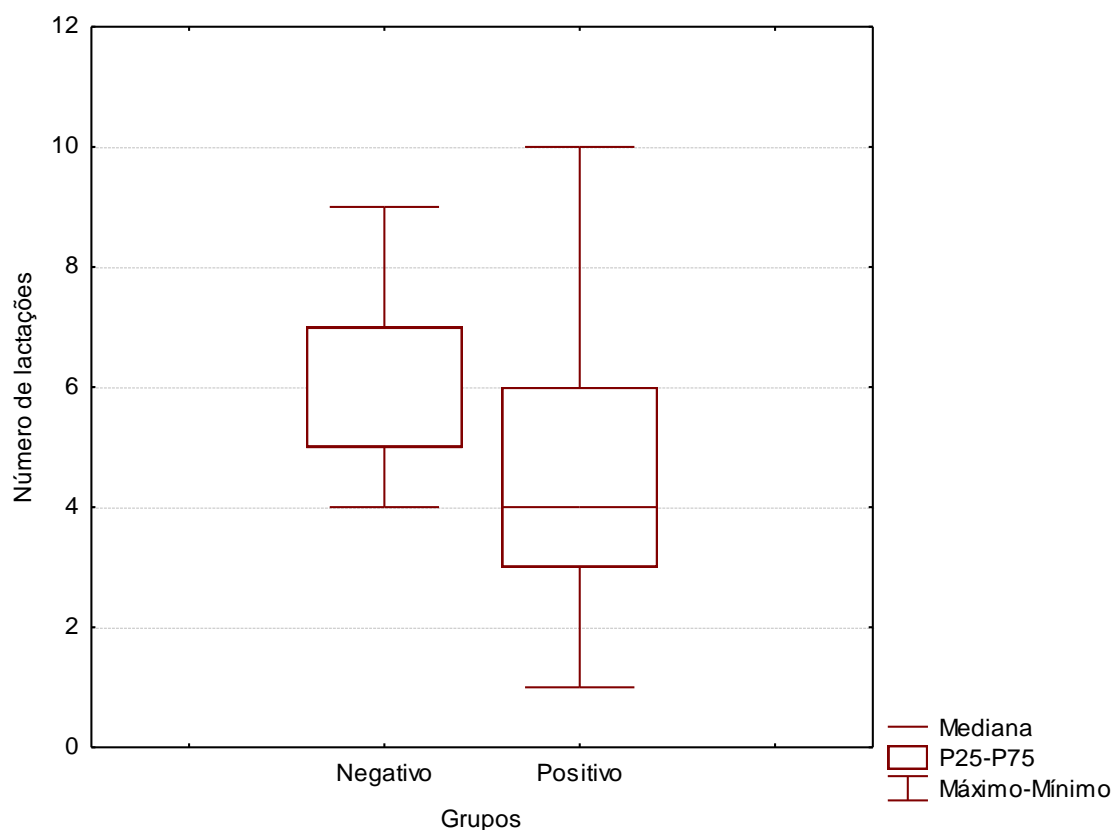


Figura 7. Mediana (traço), percentis P25 e P75 (caixa) do número de lactações de fêmeas bovinas segundo a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, Botucatu, 2009.

Tabela 20. Perdas embrionárias e abortamentos durante o período de experimento. Botucatu, 2009.

Grupo 1 - Perda embrionária (mês de gestação)							Grupo 2 - Perda embrionária (mês de gestação)						
Animal	junho	julho	agosto	Setembro	outubro	novembro	Nome/Número	Junho	julho	agosto	setembro	outubro	novembro
275	não	não	não	não	não	não	444	não	não	não	não	não	não
490	não	não	não	não	não	não	539	não	não	não	não	não	não
523	não	não	não	não	não	não	540	não	não	não	não	não	não
575	não	não	não	não	não	não	658	não	não	não	não	não	não
745	não	não	não	não	não	não	719	não	não	não	não	não	não
937	não	não	não	não	não	não	972	não	não	não	não	não	não
1028	não	não	não	não	não	não	1122	não	não	não	não	não	não
1077	não	não	não	não	não	não	1188	não	não	não	não	não	não
1099	não	não	não	não	não	não	1193	não	não	não	não	não	não
1123	não	não	não	não	não	não	1207	não	não	não	não	não	não
1124	não	não	não	não	não	não	1212	não	não	não	não	não	não
1127	não	não	não	não	não	não	1231	não	não	não	não	não	não
1144	não	não	não	não	não	não	1243	não	não	não	não	não	não
1146	não	não	não	não	não	não	1273	não	não	não	não	não	não
1170	não	não	não	não	não	não	1329	8 meses	não	não	não	não	não
1209	não	não	não	não	não	não	1370	não	não	não	não	não	não
1237	não	não	não	não	não	não	1409	não	não	não	não	não	não
1238	não	não	não	não	não	não	1498	não	não	não	não	não	não
1240	não	não	não	não	não	não	1504	não	não	não	não	não	não
1280	não	não	não	não	não	não	1527	não	não	não	não	não	não
1312	não	não	não	não	não	não	1569	não	não	não	não	não	não
1316	não	não	não	não	não	não	1587	não	não	não	não	não	não
1327	não	não	não	não	não	não	1613	não	não	não	não	não	não
1331	não	não	não	não	não	não	1630	não	não	não	não	não	não
1339	não	não	não	não	não	não	1638	não	não	não	não	não	não
1345	não	não	não	não	não	não	1651	não	não	não	não	não	não
1355	não	não	não	não	não	não	1674	não	não	não	não	não	não
1371	não	não	não	não	não	não	1693	não	não	não	não	não	não
1380	não	não	não	não	não	não	1703	não	não	não	não	não	não
1396	não	não	não	não	não	não	1720	não	não	não	não	não	não

não = animais que não apresentaram perda embrionária ou abortamentos durante o experimento

Tabela 21. Animais que apresentaram retenção de placenta durante o último parto. Botucatu, 2008-2009.

Grupo 1		Grupo 2	
Animal	Retenção de placenta (sim ou não)	Animal	Retenção de placenta (sim ou não)
275	Não	444	Não
490	Não	539	Não
523	Não	540	Não
575	Não	658	Não
745	Não	719	Não
937	Não	972	Não
1028	Sim	1122	Não
1077	Não	1188	Não
1099	Não	1193	Sim
1123	Não	1207	Sim
1124	Sim	1212	Não
1127	Não	1231	Não
1144	Sim	1243	Sim
1146	Não	1273	Sim
1170	Não	1329	Não
1209	Sim	1370	Sim
1237	Não	1409	Não
1238	Não	1498	Sim
1240	Não	1504	Não
1280	Sim	1527	Não
1312	Não	1569	Não
1316	Não	1587	Não
1327	Sim	1613	Não
1331	Não	1630	Não
1339	Não	1638	Não
1345	Não	1651	Não
1355	Não	1674	Não
1371	Não	1693	Não
1380	Sim	1703	Não
1396	Não	1720	Não

Tabela 22. Frequência absoluta (n) e relativa (%) de negativos e positivos para a presença ou não de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp, de acordo com variáveis reprodutivas. Botucatu, 2009.

Variável	Negativos		Positivos		Total		Valor de P
	N	%	N	%	N	%	
Perda embrionária							
Não	26	44,1	33	55,9	59	98,3	0,5657
Sim	0	0,0	1	100,0	1	1,7	
Retenção de placenta							
Não	20	42,6	27	57,4	47	78,3	0,5301
Sim	6	46,2	7	53,8	13	21,7	

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Diversas doenças da esfera reprodutiva são frequentes e afetam os rebanhos leiteiros e por consequência a produtividade da fazenda, sendo importante a identificação do agente, e compreensão da epidemiologia destas doenças para que medidas profiláticas possam ser implementadas (RADOSTITS et al., 2001).

Desde seu primeiro relato, até os dias de hoje, a neosporose se mostra um grave problema nas espécies bovina e canina. No presente estudo detectou-se apenas um animal positivo, com título 25 para neosporose, entre as 320 amostras de soro testadas. O referido animal foi descartado pelo proprietário, e não foram encontrados outros animais positivos nas demais coletas realizadas. Pelo fato do título detectado ser baixo e impossibilidade de realização de nova coleta para sorologia pareada, não foi possível concluir o resultado da infecção.

A ausência de animais sorologicamente positivos na propriedade contrasta com as altas prevalências de anticorpos anti-*Neospora caninum*, na espécie bovina encontradas em diversos países, variando entre 2,0% a 77,0% (HEMPHILL et al., 2000; DUBEY, 2003). Acredita-se que a ausência de animais infectados na propriedade seja devido a excelente infra-estrutura e ao manejo zoonitário aplicado ao rebanho, bem como a não presença de cães.

O controle da neosporose é bastante complexo e ainda não há profilaxia eficiente contra a infecção. Seu controle baseia-se no descarte de animais doentes, evitar que os cães se alimentem de fetos abortados e que suas fezes contaminem água e alimentos dos bovinos (ANDREWS et al., 2004). Os resultados negativos não significam que o proprietário deva diminuir a atenção em relação ao manejo que aplica a sua produção, pois a neosporose é uma infecção oportunista e a presença de título baixo em um animal pode significar a iminência da introdução da parasitose na propriedade (DUBEY, 2003).

Quanto a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp, os resultados estão expostos nas tabelas 3 e 4 onde pode-se observar animais reagentes para oito sorovares, como: Icterohaemorrhagiae, Wolffi, Pyrogenes, Hardjo, Hardjo (Bovis), Hardjo Prajtno, Mini (CTG), mini. O sorovar Hardjo é considerado o mais importante para a espécie bovina, sendo o mais prevalente

em diversas regiões do mundo (PRESCOTT et al, 1988; RICHARDSON et al. 1995; LANGONI et al., 1999; FAVERO et al., 2001; ANDREWS et al., 2004; LAGE et al., 2007; GUMOSSOY et al. 2009).

A soroprevalência para *Leptospira* spp é variável de acordo com as características de manejo, ambientais e climáticas. Na Tabela 3, referente ao grupo de animais negativos para os 16 sorovares de *Leptospira* spp testados, apenas quatro animais soroconverteram no decorrer do estudo, um para o sorovar Hardjo (Bovis), um para o sorovar Mini (CTG), e dois para o sorovar Pyrogenes. O baixo número de animais com soroconversão para um ou outro sorovar, reflete também no adequado manejo zoonosológico da propriedade, pois sendo os animais mantidos em sistema de *free stall* praticamente confinados por longo período de tempo, as chances de transmissão da infecção são maiores considerando-se a possibilidade do estado de portador renal, principalmente no caso do sorovar hardjo (LANGONI et al., 2000).

De acordo com a Tabela 4, referente ao grupo de animais reagentes para um ou mais sorovares de *Leptospira* spp, o mais frequente foi o Mini (CTG) com 36,66% (11/30) animais reagentes, seguido pelos sorovares Pyrogenes e Hardjo (Prajtno) com 23,33% cada um (7/30), os sorovares Hardjo (Bovis) e Mini com 10% cada um (3/30) e os sorovares Icterohaemorrhagiae, Wolffi e Hardjo com 3,33% (1/30). Esta variação na frequência de sorovares também foi obtida por Juliano et al. (2000), com maior frequência para os sorovares Wolffi e Icterohaemorrhagiae. Genovez et al. (2006), por outro lado detectaram um surto de leptospirose bovina pelo sorovar Canicola, e Hesterberg et al. (2009), observaram uma maior prevalência para o sorovar Pomona, na África do Sul. Estes resultados reforçam a importância dos estudos por meio de inquéritos soropidemiológicos para se conhecer a participação dos diferentes sorovares, independente da espécie animal, apesar do conceito de que há determinados sorovares mais adaptados a determinadas espécies (LANGONI, 1999). Características locais como a participação de outros reservatórios animais na cadeia epidemiológica de transmissão desta enfermidade, pode estar também relacionada com os resultados sorológicos.

Os títulos variaram entre 1:100 e 1:800, e alguns animais reagiram para mais de um sorovar. Dentre os animais reagentes para mais de um sorovar

observa-se que a maior frequência foi para os sorovares de um mesmo sorogrupo, como os sorovares Hardjo, Wolffi, Hardjo (Prajtno) e Hardjo (Bovis) que pertencem ao sorogrupo Serjoe, e os sorovares Mini e Mini (CTG) que pertencem ao sorogrupo Mini. Tal fato pode indicar resposta cruzada, considerando-se o maior título como o sorovar responsável pela infecção. Com menor frequência observou-se que alguns animais apresentaram títulos de anticorpos para sorovares pertencentes a sorogrupos diferentes e que possivelmente estão infectados por mais de um sorovar.

Resultados discrepantes entre as várias pesquisas podem ocorrer pela dinâmica dos sorovares que muda constantemente por influência de fatores ambientais ligados ao manejo e movimentação dos animais, diferenças na metodologia de estudo como ponto de corte, teste empregado e coleção de antígenos testados. Desta forma, enfatiza-se a importância do estudo sorológico face a problemas reprodutivos como nos casos de abortos, sub-fertilidade e infertilidade, na propriedade para se conhecer qual ou quais sorovares podem ser responsáveis pelo problema, orientando-se desta forma a adoção de medidas de controle.

A produção mensal de cada animal pode ser observada na Tabela 5, com o valor absoluto (em litros) de cada animal durante os seis meses de acompanhamento. A análise estatística destes dados podem ser apreciados na Tabela 6, onde verifica-se diferença significativa entre as medianas de produção de leite segundo a presença ou não de anticorpos anti-*Leptospira* spp dos dois grupos. A produtividade do grupo de animais positivos é inferior a dos animais negativos, de acordo também com a Tabela 7 e Figura 1 pelo cálculo do desvio padrão das medianas de produção mensal com diferença significativa entre eles pelo teste t de Student. Esse achado está de acordo com as informações sobre a queda de produtividade leiteira descritas por Andrews et al. (2004). Ressalta-se, entretanto, que a produtividade dos animais do Grupo 2 mesmo sendo inferior a do Grupo 1, ela se encontra acima da média de produção nacional (EMBRAPA, 2000 e CARNEIRO et al., 2006), que é de aproximadamente 100 litros de leite/vaca/mês.

Nos bovinos é comum existir uma relação equilibrada entre o agente infeccioso e hospedeiro, que muitas vezes significa a não manifestação da

doença clínica, prevalecendo quadros subclínicos ou crônicos de leptospirose (BADKE, 2001; ANDREWS et al., 2004). Deve se destacar o papel importante dos sorovares Hardjo, Hardjo (Bovis) e Hardjo (Prajitno) como causadores de mastites e síndrome da queda da produção de leite (ANDREWS et al., 2004), mesmo estes não sendo os mais frequentes no presente estudo.

A eficiência reprodutiva do rebanho pode ser analisada pelas referências paramétricas apresentadas na Tabela 1. Destes parâmetros foram analisados o intervalo entre partos, intervalo entre parto a concepção, taxa de mortalidade geral do rebanho, serviços por concepção (último serviço), idade ao primeiro parto, número de lactações e taxa de abortamentos e perdas embrionárias. Outra variável avaliada foi a retenção placentária, problema reprodutivo relatado por alguns autores e relacionado à infecção por *Leptospira* spp (JULIANO et al., 2000; FARIA et al., 2008).

Os dados referentes à eficiência reprodutiva do rebanho foram cruzados com os resultados sorológicos para cada grupo. A idade ao primeiro parto e o intervalo entre partos, são importantes medidas da eficiência reprodutiva de um rebanho. Vacas boas produtoras de leite, com baixa idade ao primeiro parto e reduzidos intervalos de partos produzem mais crias, com possibilidade de maior produção durante a vida, sendo mais lucrativas para os sistemas de produção de leite (BALL E PETERS, 2004, JAINDEEN e HAFEZ, 2004). Na Tabela 8 pode-se observar a idade ao primeiro parto de cada animal, e a Tabela 9 e Figura 2 indicam que a mediana nos dois grupos é de 23 meses, não havendo correlação estatística entre a idade ao primeiro parto e a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. Jaindeen e Hafez, (2004), consideram normal uma média de 30 meses (24 a 36 meses), para esta variável estudada.

O intervalo entre partos pode oscilar entre as raças e linhagens de animais, mas de forma geral os valores de referência normais variam de 12 e 13 meses (RADOSTITS et al., 2001). Na Tabela 10 podem ser apreciados os valores do intervalo entre partos dos dois grupos, com mediana do grupo dos animais negativos de 12 meses e do grupo de animais positivos de 14 meses, valor superior ao do período considerado ótimo. Houve ainda uma diferença

estatística significativa entre os dois grupos, pelo teste de Mann-Whitney, de acordo com a Tabela 11 e Figura 3.

Outro parâmetro utilizado para avaliar a eficiência reprodutiva dentro de um rebanho é o intervalo entre parto até a concepção, que consiste no período entre o último parto até o momento da próxima inseminação e geração de um novo descendente. Esse período deve ser de aproximadamente 3 a 4 meses e é considerado como o principal determinante do intervalo entre partos (BALL e PETERS, 2004). O valor por animal pode ser observado na Tabela 12, não havendo correlação estatística significativa entre esse parâmetro e a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp, de acordo com a Tabela 13 e Figura 4. Apesar de não haver correlação estatística, nota-se um intervalo entre parto a concepção menor no grupo de animais negativos em relação aos positivos, estando dentro dos valores esperados para o primeiro e superior para o segundo grupo.

A taxa de concepção por serviço, ou taxa de concepção por inseminação indica o número de inseminações que resultam em prenhez, e deve estar entre 1,7 e 2,2 (RADOSTITS et al., 2001). Na Tabela 14 encontram-se os números absolutos de inseminações por vaca, resultando numa média de 2.8 inseminações/vaca no Grupo 1 e 3.2 inseminações/vaca no Grupo 2. Estes valores se encontram acima dos indicados como ideais, entretanto, os valores encontrados na propriedade são provavelmente melhores que média nacional devido ao alto grau de tecnificação, e adequado manejo reprodutivo e sanitário dos animais. Ao cruzar os dados de taxa de concepção por serviço com os títulos para anticorpos anti-*Leptospira* spp não se observou correlação estatística significativa como pode ser apreciado na Tabela 15 e Figura 5.

A idade dos animais (Tabela 16) variou de seis a dez anos no Grupo 1, e de quatro a onze anos no Grupo 2. A Tabela 17 e a Figura 6 mostram a diferença significativa com relação à idade dos dois grupos e a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp, sendo o grupo dos animais positivos, mais jovem (6 anos de idade) em relação ao grupo das vacas negativas (7 anos de idade). Tal fato pode ser devido à menor produtividade dos animais soropositivos que são repostos com uma maior frequência que os animais negativos, que provavelmente tem maior produção em períodos menores de

tempo, pois os animais foram submetidos às mesmas condições ambientais e de manejo. Outro dado que mostra correlação positiva, e que está diretamente ligado à idade dos animais é o número de lactações (Tabela 18, Tabela 19 e Figura 7). As vacas do Grupo 1 apresentaram uma mediana referente ao número de lactações maior pois o grupo tem idade média maior.

Com relação as perdas embrionárias e abortamentos, apenas um animal do grupo 2, o animal número 1329 (Tabela 20), reagente para o sorovar mini (CTG) abortou no oitavo mês de gestação. Os abortamentos por *Leptospira* spp podem acontecer em qualquer período da gestação, sendo mais comum entre o terceiro e nono mês. Na Tabela 22 observa-se a frequência absoluta e relativa de animais que abortaram durante analisado e não se observou correlação significativa com a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp pelo valor de $P > 0.05$ ($P = 0.5657$). O sorovar mais implicado na causa de abortamentos é o sorovar hardjo (ANDREWS et al., 2004), porém o papel do sorovar mini (CTG), como causador de abortamentos não é conhecido. A necropsia do referido feto teria sido importante para a elucidação do diagnóstico, que pode ser concluído por meio de técnicas moleculares, exame histopatológico com coloração por sais de prata como Gomori e Levaditi, ou ainda por imunistoquímica. Contudo, isso não foi possível por não terem enviado o feto para a realização do diagnóstico etiológico..

A ocorrência desta afecção é estimada em 3,5 % em vacas primíparas e 24,4% ao nono parto. Cerca de 72% dos casos de retenção ocorrem em fêmeas com 5 a 7 anos de idade. Os resultados referentes à retenção placentária podem ser apreciados na Tabela 21. Na Tabela 22 pode-se observar uma frequência relativa de 46,2% para os animais negativos e 53,6% para os animais sorologicamente positivos para leptospirose. Apesar da frequência de retenção placentária ser maior no grupo dos animais positivos, não se verificou correlação estatística significativa entre os dois grupos. Peligrino et al. (2008), relatam que a retenção de membranas fetais após o parto resulta da insuficiência das contrações uterinas, que pode ocorrer devido alguns fatores como estresse, falhas de manejo, doenças bacterianas, doenças metabólicas como hipocalcemia, cetose, deficiência de vitaminas A e E, minerais como iodo e selênio, distensão uterina excessiva, intoxicações,

distúrbios hormonais, hereditariedade, sexo do feto, brucelose, leptospirose, rinotraqueite infecciosa bovina. A expulsão placentária deve ocorrer até 12 horas pós parto ou abortamento, podendo tornar-se um problema econômico, pois além de ser um fator predisponente para infecções uterinas, causa um aumento do intervalo entre partos e concepção, ocasionando prejuízo significativo em função das perdas produtivas e reprodutivas.

A taxa de mortalidade geral do rebanho é de 1.0% ao ano, o que está de acordo com Radostits et al. (2001), que preconizam que a taxa de mortalidade de um rebanho não deve ultrapassar 5.0% ao ano. Esse parâmetro reforça a excelência do rebanho em relação a realidade nacional, pois grande contingente de propriedades rurais apresentam altas taxas de mortalidade.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Encontrou-se somente um animal sorologicamente positivo para neosporose, fato que impossibilitou a formação de dois, dos quatro grupos experimentais previstos para se avaliar a provável correlação entre as duas enfermidades. Tal fato mostra a importância do monitoramento dos animais da propriedade, como ação de vigilância, pois há a iminência da soroconversão de outros animais.

Os resultados sorológicos para a infecção por *Leptospira* spp demonstram a resposta a oito diferentes sorovares na propriedade. A baixa taxa de soroconversão no grupo de animais sorologicamente negativos sugere que o manejo zoonosológico instituído é eficiente na prevenção da disseminação da infecção

A infecção por *Leptospira* spp no rebanho causa diminuição nos níveis de produção no entanto esta ainda se encontra acima da média nacional.

Quanto ao impacto reprodutivo da infecção nos animais, nota-se que alguns dos parâmetros avaliados, como intervalo entre partos, idade dos animais e número de lactações estão correlacionados estatisticamente com a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. Quanto ao intervalo entre partos e concepção, idade ao primeiro parto, número de inseminações, perdas embrionárias, abortamentos e retenção de placenta apesar de não ocorrer significância estatística entre os dois grupos, observa-se desempenho inferior no grupo de animais positivos.

Pode-se concluir ainda, que de maneira geral, o impacto da leptospirose nesse rebanho não é tão expressivo, e a infecção se mantém de forma assintomática. O grande risco nesse caso é o aspecto de saúde pública da leptospirose para os trabalhadores que estão em contato direto com os animais.

REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Leptospirosis*. In: ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales*. 3. Ed., v.I, Washington Organización Panamericana de La Salud, 2006., p. 157-168.

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; RODRIGUES, A.A.R.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. *Vet. Parasitol.* v. 142, p. 71-77, 2006.

ANDERSON, M.L.; ANDRIANARIVO, A.G.; CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. *Anim. Reprod. Scien.* v.60, n.61, p.417-431, 2000.

ANDREWS, A.H; BLOWEY, R.W.; BOYD, H.; EDDY, R.G. *Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle*. 2 ed., Oxford, Blackwell Science, 2004. 1232p.

ARDUINO, G.G.C.; GIRIO, R.J.S.; FREIRE, M.M.; MARCHIORI FILHO, M. Anticorpos contra *Leptospira* spp em bovinos leiteiros vacinados com bactéria polivalente comercial. Perfil sorológico frente a dois esquemas de vacinação. *Ciê. Rur.* v.34, n.3, p.865-871, 2004.

ARKER, N. et al. Leptospirosis in pregnancy: an unusual relatively unrecognised cause of intrauterine death in man. *J. Obstet. Gynaecol.*, v. 16, n. 3, p. 163-165, 1996.

ATKINSON, R.; HARPER, P.A.W.; RYCE, C.; MORRISON, D.A.; ELLIS, J.T. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. *Parasitol. Tod.* v.16, n.3, p.110-113, 2000.

BADKE, M.R.T. Leptospirose. In: ENCONTRO TÉCNICO DA ABRAVES-SC. 2001. Concórdia. Memórias 2001 do Encontro Técnico da ABRAVES-SC. Disponível em <http://www.cnpsa.embrapa.br/abrades-sc/pdf/Memorias2001/1_manoelrenato.pdf> Acesso em: 10 nov. 2009.

BALL, P.J.H.; PETERS, A.R. *Reproduction in cattle*. 3 ed. Oxford, Blackwell Publishing, 2004. 250p.

BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; SVERLOW, K.W.; CONRAD, P.A. diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. *Vet. Rec.* v.137, p. 611-613, 1995.

BJERKAS, I.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* v.16, p.214-221, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional e Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. *Manual de Leptospirose*. 2. ed. Brasília: FUNASA, 1995. 98p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Centro de Inteligência do Leite. Panorama do Leite 2009. Disponível em: <<http://www.cileite.com.br>>, Acesso em: 04 jan 2009.

CARNEIRO, T.S.; ALVES, A.A.; AZEVÊDO, D.M.M.R.; BEZERRA, E.E.A.; CATALANO, D. Caracterização da eficiência produtiva de rebanhos bovinos participantes do programa INFOLEITE no Baixo Parnaíba, Piauí. *Ver, Cient. Prod. Anim.* v.8, n.2., p. 9 -14, 2006.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E.M.; GENOVEZ, M.E. Diagnóstico diferencial de doenças da reprodução em bovinos: experiência do Instituto Biológico. *Biológico.* v.69, n.2, p. 73-79, 2007.

DITTRICH, R.L. *Diagnóstico sorológico, isolamento, cultivo e caracterização molecular de Neospora caninum em bovinos leiteiros e eqüinos no Estado do Paraná, Brasil.* 2002. 184p. Tese (Doutorado) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

DUBEY, J.P.; BARR, B.C.; BARTA, J.R.; BJERKAS, I.; BJÖRKNAN, C.; BLAGBURN, B.L.; BOWMAN, D.D.; BUXTON, D.; ELLIS, J.T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D.E.; HOWE, D.K.; JENKINS, M.C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A.E.; MATTSSON, J.G.; McALLISTER, M.M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L.D.; SPEER, C.A.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; UPTON, S.J.; WILLIAMS, D.J.L.; LINDSAY, D.S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. *Int. J. Parasitol.* v.32, p.929-946, 2002.

DUBEY, J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Kor. J. Parasitol.* v.41, n.1, p.1-16, 2003.

EMBRAPA ACRE. Análise do custo da atividade leiteira para a agricultura familiar no Acre. ISSN 0100-8668. Rio Branco. 2000. 2p.

FARIA, P.C., BERGQVIST, R.R., PEREIRA, R.C.; GENOVEZ, M.E.; CASTRO, V.; JESUS, V.L. Prevalência de leptospirose bovina e sua correlação com distúrbios reprodutivos apresentados no Município de Itamonte-MG. In: Congresso Brasileiro de Veterinária – COMBRAVET. Gramado, 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0418-1.pdf>

Acesso em: 30 nov 2009.

FAVERO, M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, E.; 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. *Arq. Bras. Biol.* v. 68, n. 2, p. 29-33, 2001.

GENOVEZ, M.F.; DEL FAVA, C.; CASTRO, V.; GOTTI, T.B.; DIB, C.C.; POZZI, C.R.; ARCARO, J.R.P.; MIYASHIRO, S.; NASSAN, A.F.C.; CIRILLO, S.L. Leptospirosis outbreak in dairy cattle due to *Leptospira* spp serovar canicola: reproductive rates and serological profile after treatment with streptomycin sulfate. *Arq. Inst. Biol.* v.73, n.4, p.389-393, 2006.

GONDIM, L.F.P.; MCALLISTER, M.M; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Paras.* v.34, p. 159-161.

GUMOSSOY, K.S.; OZDEMIR, V.; AYDIN, F., ASLAN, O.; ATABEK, E.; ICA, T.; DOGAN, O.; DUMAN, Z.; OZTURK, A. Seroprevalence of bovine leptospirosis in Kayseri Turkey, and detection of leptospire by polymerase chain reaction. *J. Anim. Vet. Adv.*, v. 8, n.6, p. 1222-1229, 2009.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F.J.; De MEERSCHMAN, F.; ELLIS, J.T.; INNES, E.A.; McALLISTER, M.M.; ORTEGA-MORA, L.M.; TENTER, A.J.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; WILLIAMS, D.J.L.; WOUUDA, W. A European perspective on *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* v.30, p.1669-1776, 2000.

HESTERBERG, U.W.; BAGNALL, R.; BOSCH, B.; PERRETT, K.; HOMER, R.; GUMMOW, B. A serological survey of leptospirosis in cattle of rural communities in the province of KwaZulu-Natal, South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* v. 80, n. 1, p. 45-49. 2009.

JAINDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Ciclos Reprodutivos: Bovinos e bubalinos. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E.: *Reprodução Animal*. Editora Manole, 2004. cap. 11.p. 159-171.

JULIANO, R.S.; CHAVES, N.S.T.; SANTOS, C.A.; RAMOS, L.S.; SANTOS,H.Q.; MEIRELES,L.R.; GOTTSCHALK,S.; CORRÊA FILHO, R.A.C. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na microregião de Goiânia-GO. *Cien. Rur.* v.30, n.5, p.857-862, 2000.

LAGE, A.P.; LEITE, R.M.H.; THOMPSON, J.A.; BANDEIRA, D.A.; HERRMANN, G.P., MOREIRA, E.C.; GONÇALVES, V.S.P. Serology for *Leptospira* sp. in cattle of Paraíba State, Brazil. *Arq. Inst. Biol.* v.74, n.3, p.185-190, 2007.

LANGONI, H. Leptospirose: aspectos de saúde animal e saúde pública. *Rev. Educ. Contin.* V.2, p.52-58, 1999.

LANGONI, H.; MEIRELES, L.R.; GOTTSCHALK, S.; CABRAL, K.G; DA SILVA, A.V. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. *Arq. Inst. Biol.* v.67, n.1, 2000.

LILENBAUM, W. Atualização em leptospiroses bovinas. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.18, n.1, p.9-13, 1996.

LILENBAUM, W.; SOUZA G.N. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Res. Vet. Sci.*, v. 75, p. 249-251, 2003.

McALLISTER, M.M. Do cows protect fetuses from *Neospora caninum* transmission? *Parasitol. Tod.* v.17, n.1, p.6, 2001.

PELIGRINO, R. C.; ANDRADE, L.R.M.; CARNEIRO, L.F.; PINTO, E.A.T. Retenção de placenta em vacas. *Rev. Cient. Eletr. Med. Vet.* n. 10, 2008. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria10/revisao/edic-vi-n10-RL77.pdf>>. Acesso em: 08 dez. 2009.

PRESCOTT, J.F.; MILLER, R.B.; NICHOLSON, V.M. Isolation of *Leptospira hardjo* from kidneys of Ontario Cattle at slaughter. *Can. J. Vet. Res.* v.51, p.229-231, 1988.

PEREGRINE, A.S.; MARTIN, S.W.; HOPWOOD, D.A.; DUFFIELD, T.F.; McEWEN, B.; HOBSON, J.C.; HIETALA, S.K. *Neospora caninum* and *Leptospira* serovar serostatus in dairy cattle in Ontario. *Can. Vet. J.* v.47, p.467-470, 2006.

QUEVEDO, J.; CHAVEZ, A.; RIVERA, H.; CASAS, A.; SERRANO, E. Neosporosis em bovinos lecheros em dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Rev. Int. Vet. Perú.* V.14, n.1, p.33-37, 2003.

RADOSTITS, O.H.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. *Herd health: food animal production medicine*. 3 ed. Philadelphia W.B. Saunders Company, 2001. 884p.

RICHARDSON, G.F.; SPANGLER, E.; MACAULAY, E.B. A serological survey of four *Leptospira* serovars in dairy cows on Prince Edward Island. *Can. Vet. J.* v. 36. p. 769-770, 1995.

SAWADA, M.;KONDO, H.; TOMIOKA, Y.; PARK, C.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; UMEMURA, T. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. *Vet. Parasitol.* v.90, p.247-252, 2000.

SEGHAL, S.C. Epidemiological patterns of leptospirosis. *Ind. J. Med. Microb.* V.24, n.4, p.310-311, 2006.

SILVA, M.V.; NAKAMURA, P.M.; CAMARGO, E.D.; BATISTA, L.; VAZ, A.J.; ROMERO, E.C., BRANDAO, A.P. Immunodiagnosis of human leptospirosis by Dot-Elisa for the detection of IgM, IgG and IgA antibodies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.56, p.650-5, 1997.

TRIOLA, M.F. Introdução à estatística. 9ª Ed. Rio de Janeiro, LTC, 682p. 2005.

VALENZUELA, P. Neosporosis in cattle and dogs. *Mon. Elctr. Patol. Vet.* v.2, n.1, p.17-33, 2005.

VASCONCELLOS, S.A et al. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Período de janeiro a abril de 1996. *Arq. Inst. Biol.*, v. 64, n. 2, p. 7-15, 1997.

WILLIAMS, J.G.K.; HANAFEY, M.K.; RAFALSKI, L.A.; TINGEY, S.V. Genetic analysis using random amplified polymorphic. *Met. Enzym.* v.218, p.705-740, 1993.

WREN, G. Abortion in cattle: BVDV and Neospora. *Bovine Veterinarian*, Shawnee Mission, p.12-17, 1999.

ZUNINO, M. E.; PIZARRO, P.R.; Leptospirosis - Puesta al dia. *Rev. Chil. Infect.*; v. 24, n.3, p.220-226, 2007.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)