

Karina Leite Miranda

T636.089 69

H 672 P

2005



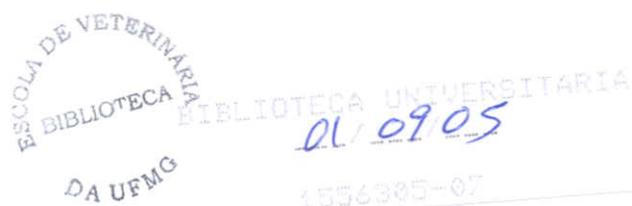
PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Campylobacter fetus* EM BOVINOS DE CORTE NO BRASIL - 2000

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Andrey Pereira Lage

Belo Horizonte
UFMG – Escola de Veterinária
2005



374875

M672 p Miranda, Karina Leite, 1979-

Prevalência da infecção por *Campylobacter fetus* em bovinos de corte do Brasil - 2000 / Karina Leite Miranda. - 2005.

38 p. : il.

Orientador: Andrey Pereira Lage

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

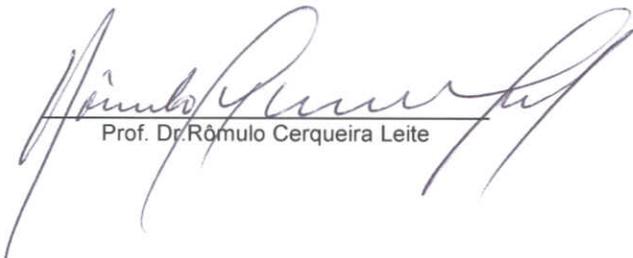
Inclui bibliografia

1. Bovino de corte - Doenças - Teses. 2. Infecções por *Campylobacter* - Diagnóstico - Teses. I. Lage, Andrey Pereira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD - 636.213 089 692

Dissertação defendida e aprovada em 14 de fevereiro de 2005, pela Comissão Examinadora constituída por:


Prof. Dr. Andrey Pereira Lage
(Orientador)


Prof. Dr. Rômulo Cerqueira Leite


Prof. Dr. Francisco Carlos Faria Lobato


Prof. Dr. Henrique César Pereira Figueiredo

*Para meu pai, meu forte exemplo.
Para minha mãe, Daniel, Caio e Marina pelo amor e incentivo.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades que tenho tido.

Ao meu pai, que sempre foi meu maior exemplo e incentivador.

À minha mãe, Eliane, meus irmãos, Daniel, Caio e Marina, pelo amor incondicional, carinho e apoio.

Ao Prof. Andrey Pereira Lage, pelos ensinamentos, pela amizade e apoio incondicional.

A toda família Leite, pelo amor e união.

Ao Robertinho, pelo carinho, amor, apoio e incentivo.

À Aiesca, pelas infinitas contribuições, amizade e exemplo de profissional.

Aos colegas do laboratório pela contribuição direta neste trabalho, Carol, Cid e Josely.

À Ana Paula, Telma, Ana Cláudia, Silvia, Flu, Kika e Luciana pela amizade, compreensão, companheirismo, amigas fundamentais em todo o processo.

À Fabrícia, Olívia, Paula, Camila, Bel, Cláudia, Antônio e Luciano pela amizade e momentos de descontração.

Aos estagiários do laboratório, que fazem parte da equipe, Bruno, Michelle, Adriano, Bárbara e Roberta.

À família Pinheiro, que me incentivou e acompanhou em grande parte desse processo.

Aos colegas de curso, bolsistas, estagiários e todos os funcionários do DMVP e da FEP-MVZ, que direta ou indiretamente colaboraram no trabalho, especialmente à Nádia, Renata, Jorge e Mirli, pelos constantes socorros.

À Pfizer pelo financiamento do projeto e coleta de material.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

À FEP-MVZ pelo apoio financeiro e infra-estrutura para realização dos experimentos.

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	9
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. LITERATURA CONSULTADA	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Local de realização do estudo	14
3.2. Amostragem	14
3.3. Local de realização dos testes	17
3.4. Lavados Prepuciais	17
3.5. Imunofluorescência Direta	17
3.6. Questionário	17
3.7. Análise Estatística	17
4. RESULTADOS	19
4.1. Perfil das propriedades	19
4.2. Estudo de prevalência	22
5. DISCUSSÃO	24
6. CONCLUSÕES	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
8. ANEXO	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Estudos de frequência de campilobacteriose genital bovina no Brasil no período de 1955 a 1998.	12
Tabela 2.	Distribuição da população bovina nos estados brasileiros no ano do delineamento amostral, 1999, destacando-se os estados que compõem a amostra e seu peso relativo na amostra.	15
Tabela 3.	Especificidade de rebanho e sensibilidade de rebanho, para uma amostra de dez animais, em rebanhos com diferentes números de touros e três pontos de corte.	18
Tabela 4.	Perfil das propriedades estudadas quanto a tamanho de rebanho por categoria, área e práticas reprodutivas.	19
Tabela 5.	Distribuição de idades dos touros em relação à infecção por <i>C. fetus</i> .	20
Tabela 6.	Caracterização das propriedades estudadas em relação à área, tamanho do rebanho, raça predominante, controle zootécnico e tipo de escrituração, e origem dos touros em relação à presença de infecção por <i>C. fetus</i>	20
Tabela 7.	Vacinações contra doenças da reprodução realizadas nas propriedades estudadas em relação à presença de infecção por <i>C. fetus</i> .	21

Tabela 8.	Características de manejo reprodutivo das propriedades estudadas em relação à presença de infecção por <i>C. fetus</i> .	22
Tabela 9.	Prevalência de rebanhos de corte com campilobacteriose genital bovina nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul e no total da área amostrada.	23
Tabela 10.	Prevalência de touros com campilobacteriose genital bovina em rebanhos de corte nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul e no total da área amostrada.	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Sumário do delineamento experimental.	16
Figura 2.	Prevalência de rebanhos e de touros de corte com campilobacteriose genital bovina por região, 2000.	24

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo principal estimar a prevalência de rebanhos e de animais com infecção por *Campylobacter fetus* em propriedades de bovinos de corte dos principais estados produtores do país: Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia, São Paulo e Tocantins. A área amostrada correspondeu a 65,5% de todo o território nacional e a 89,1% da produção de bovinos do país. Foram examinados, utilizando a técnica de imunofluorescência direta, 1191 touros, de 120 propriedades, distribuídos nos 12 estados amostrados. Em cada propriedade foi aplicado um questionário para coleta de informações de manejo, características da propriedade e de animais. A prevalência de rebanhos e de animais com infecção por *C. fetus* foram, respectivamente, 50,8% (IC95%: 41,6% - 60,1%) e 19,7% (IC95%: 13,3% - 25,1%). Nenhuma das variáveis levantadas pelo questionário nas propriedades mostrou associação com a infecção por *C. fetus*.

Palavras-chave: Campilobacteriose, bovinos, corte, prevalência

ABSTRACT

The aim of the present study was to estimate the prevalence, general and regional, of beef herds and animals infected by *Campylobacter fetus*. Samples were collected from bulls in the most important beef cattle raising States in Brazil: Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia, São Paulo and Tocantins. The study area corresponds to 65.5% of Brazilian surface and to 89.1% of the beef cattle production in the country. Direct fluorescence antibody test was performed in preputial washings from 1191 bulls from 120 beef herds in the 12 sampled States. A questionnaire was applied in each farm to collect information on herds and animals. The prevalences of infected herds and animals were, respectively, 50.8% (95%CI: 41.6% - 60.1%) and 19.7% (95%CI: 13.3% - 25.1%). None of the herd variables studied showed association with *C. fetus* infection.

Key-words: Campylobacteriosis, bovine, livestock, prevalence

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, além de possuir o maior rebanho bovino comercial, é o maior exportador de carne bovina do mundo (Anualpec, 2004). No entanto sabe-se que os índices reprodutivos e produtivos da pecuária brasileira estão aquém do desejado, o que compromete em parte a competitividade da atividade.

Dentre os diversos fatores estão associados à rentabilidade da pecuária de corte, mas podemos destacar a reprodução, que afeta diretamente o nível de produtividade, estando esta diretamente relacionada a outros fatores como nutrição, genética, sanidade e manejo. A eficiência reprodutiva pode ser mensurada por algumas variáveis como número de serviços por concepção, duração do período de serviço, intervalo de partos, taxa de não retorno ao cio e taxa de parição, variáveis estas que são afetados pelas doenças da reprodução.

Dentre as doenças da reprodução enquadra-se a campilobacteriose genital bovina, antigamente conhecida como Vibriose, uma doença infecciosa sexualmente transmitida causada pelo *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*, que leva a fêmea à infertilidade temporária, decorrente de repetições de cio e aborto, de onde advêm as perdas econômicas, enquanto o macho é portador assintomático. A campilobacteriose genital bovina, também conhecida por Infertilidade Enzoótica dos Bovinos, apresenta caráter endêmico, acometendo diversos animais de um mesmo rebanho.

Campylobacter fetus subsp. *venerealis* são bastonetes Gram-negativo, espiralados em forma de vírgula, "S" ou asa de gaivota. São microrganismos microaerofílicos e possuem um ou dois flagelos polares. Seu habitat natural é o trato reprodutivo dos bovinos; no touro colonizam a mucosa prepucial e na vaca a mucosa vaginal, cérvix, útero e ovidutos. Sob condições

naturais a campilobacteriose genital bovina é transmitida de macho à fêmea, ou vice-versa, pelo coito, ou pelo uso de sêmen contaminado.

A transmissão do *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* é venérea, mas também é possível que haja transmissão, além da cópula, pela utilização de fômites, nos machos principalmente pela utilização de utensílios de coleta de sêmen contaminados ou ainda cama contaminada. É uma doença importante em países onde a monta natural é amplamente utilizada, como é o caso do Brasil.

Nas últimas décadas, a pesquisa em campilobacteriose genital bovina foi pouco representativa, principalmente no Brasil. Aparentemente acreditava-se que esta doença já estivesse controlada, entretanto, mesmo com todas as tecnologias para seu controle disponíveis, os levantamentos epidemiológicos ainda indicam a sua presença no rebanho brasileiro.

O objetivo deste trabalho foi estimar a prevalência de rebanhos e de animais com infecção por *Campylobacter fetus* em propriedades de bovinos de corte dos principais estados produtores do país: Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia, São Paulo e Tocantins. Além disto, foi avaliada a associação de algumas variáveis à ocorrência da infecção.

2. LITERATURA CONSULTADA

A campilobacteriose genital bovina é uma doença venérea que causa falhas na concepção, caracterizando-se por apresentar quadros de repetição de cio e intervalos entre partos prolongados. É causada pelo *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*, espécie esta que está taxonomicamente dividida em duas subespécies, *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* e *Campylobacter fetus* subsp.

fetus. *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* é encontrado no trato gastrointestinal, podendo causar abortos ocasionais em bovinos. O habitat natural do *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*, na fêmea infectada, é a mucosa da vagina, da cérvix, do útero e da tuba uterina. No macho, o microorganismo está albergado nas criptas epiteliais do prepúcio (Clark, 1971).

Quando *Campylobacter* sp. foi primeiramente identificado como agente causador de abortos (McFadyean e Stockman, 1909 e 1913), a bactéria foi descrita, mas não nomeada. Em 1919, Smith e Taylor estudaram organismo semelhante sob aspecto morfológico e de patogenicidade, nomeando o agente de "*Vibrio fetus*". Em 1963, Sebald e Véron propuseram a criação de um novo gênero, no qual se enquadraria o "*Vibrio fetus*", passando a chamar-se então *Campylobacter fetus*.

Campylobacter fetus subsp. *venerealis*, agente etiológico da campilobacteriose genital bovina, é um bastonete Gram-negativo, móvel, pequeno, em forma de vírgula, asa de gaivota ou "S". Possui um ou dois flagelos polares. Sua motilidade pode ser melhor visualizada em microscopia de contraste de fase ou de campo escuro. São microrganismos microaerofílicos, necessitando de uma atmosfera com cerca de 10% de CO₂ e 5% de O₂ para seu crescimento (Vandamme, 2000).

A campilobacteriose genital bovina é responsável por perdas econômicas por descarte e necessidade de reposição de animais subférteis (fêmeas repetidoras de cio e touros contaminados), custo de sêmen, queda na produção de bezerros e aumento do intervalo de partos (Stoessel, 1982; Dekeyser, 1984).

A campilobacteriose genital bovina é uma doença de distribuição mundial e na década de 1970 já havia sido registrada ou sua presença suspeita nos rebanhos bovinos de 41% dos 168 países

informantes da Organização Mundial de Saúde Animal – OIE (Stoessel, 1982), sendo de grande importância naqueles países onde existem grandes efetivos bovinos em regime de monta natural como na Austrália (Clark, 1971; Hum, 1987), Argentina (Soto e Di Roco, 1984) e Brasil (Pellegrin et al., 2002a). A importância desta doença como causa de infertilidade foi também citada, mais recentemente, na Nigéria (Bawa et al, 1991), Hungria (Varga, 1990) e Colômbia (Griffith et al., 1984), dentre outros.

D'Ápice, em 1956, foi o primeiro pesquisador que isolou o então denominado "*Vibrio fetus*" do conteúdo estomacal de um feto abortado, relatando a presença da "Vibriose" no rebanho brasileiro. Esta doença foi muito pesquisada até o final da década de 1980 quando foram realizados vários trabalhos de levantamento epidemiológico no país (Tabela 1).

Apesar desses estudos, ainda são escassos os dados a respeito da frequência da campilobacteriose genital bovina em nossos rebanhos bovinos, bem como dos reais prejuízos que causa, sendo de extrema importância a realização de estudos sobre a prevalência da campilobacteriose genital bovina no país.

É importante destacar na epidemiologia desta doença que o touro é portador assintomático permanente do *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*, não apresentando sinais clínicos, mas também não adquirindo imunidade contra o agente (Stoessel, 1982 e Corbeil e Bon Durant, 2001). Desta forma, o touro é o grande responsável pela disseminação da doença no rebanho. A subfertilidade das fêmeas infectadas é demonstrada pela repetição de cio, que acomete mais comumente as novilhas e vacas jovens, sendo que o aborto, por volta do quinto mês, ocorre em apenas 10% das fêmeas infectadas (Newsan, 1960; Garcia e Brooks, 1993). A taxa de prenhez de fêmeas infectadas pode estar em torno de 20% (Newsan, 1960).

Tabela 1. Estudos de frequência de campilobacteriose genital bovina no Brasil no período de 1955 a 1998.

Ano ¹	Estado	Referência	Propriedades	Animais	DA ²	TD ³	Índice (%)
1955	SP	D'Apice (1956)	-	-	-	I ⁶	Primeiro relato
1960 - 1961	RJ	Guida et al. (1960/61)	-	109	H ⁴	MA ⁷	3,5
1960	RS	Mies Filho (1960)	22	311	H	MA	27
1967	SP	Castro et al. (1967)	17	400	H	MA	8,2
1976	BA	Costa (1976)	10	148	H	MA	66,9
1974 a 1977	MG	Leite (1977)	10	156	H	IFD ⁸	28,9
1969 a 1976	RJ	Ramos e Guida (1978)	251	4092	A ⁵	MA	12,0
1986	SP	Genovez et al. (1986)	23	46	H	I	23,9
1976 a 1996	MG	Lage et al. (1997)	-	942	H	IFD	27,9
1995 a 1996	MS	Pellegrin et al. (2002)	19	327	A	IFD	52,3
1996 a 1997	MG	Jesus et al. (1999)	7	32	H	MA	46,9
1996 a 1997	RJ	Jesus et al. (1999)	14	170	H	MA	22,3
1996 a 1997	MG	Jesus et al. (1999)	6	6	H	I	16,7
1996 a 1997	RJ	Jesus et al. (1999)	14	40	H	I	42,3
1998	MG	Stynen et al. (2003)	9	157	H	IFD	25,5

Fonte: Lage, 2001, modificada.

1 - Ano de realização do estudo

2 - DA - Delineamento amostral

3 - TD - Técnica diagnóstico

4 - H - Propriedades com histórico de problemas reprodutivos

5 - A - Amostragem aleatória

6 - I - Isolamento

7 - MA - Muco - aglutinação

8 - IFD - Imunofluorescência direta

Os fatores de risco considerados mais importantes para a infecção por *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* são a utilização de manejo reprodutivo com monta natural, uso de touros com idade superior a 4-5 anos no rebanho, presença de touros sem controle sanitário para campilobacteriose genital bovina (Stoessel, 1982), manejo reprodutivo que utiliza monta o ano inteiro ao invés de um período limitado de estação de monta (Ball et al, 1987) e utilização de touros de repasse (Stynen et al., 2003).

A presença de animais velhos no rebanho constitui um dos principais fatores que levam a campilobacteriose genital bovina a permanecer no sistema, pois se sabe que quanto mais velho o touro, maior será a profundidade das criptas da mucosa prepucial, local onde o *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* encontra as condições ideais de microaerofilia para o seu

desenvolvimento (Clark, 1971; Stoessel, 1982).

O sistema extensivo de produção, aliado ao sistema de monta o ano inteiro, constitui importante fator para manutenção da doença em um rebanho, visto que a difusão da campilobacteriose genital bovina em propriedades que utilizam a monta natural é dependente da porcentagem de touros infectados utilizados na monta e da relação touro/vaca, ou seja, do número de coberturas realizadas.

As fêmeas infectadas são, geralmente, capazes de eliminar a infecção após um período de repouso sexual de cerca de 90 dias (Stoessel, 1982). No entanto, tem sido descrita na literatura a existência de fêmeas persistentemente infectadas, permanecendo portadoras do agente. Ainda não se sabe ao certo como ocorre, mas há, provavelmente, uma falha no desenvolvimento de

imunidade local. Nestas situações, a fêmea portadora apresenta importante papel na manutenção da doença no rebanho. Cipolla et al. (1994) demonstraram que novilhas infectadas experimentalmente podem transmitir o agente por um período que varia de 6 a 24 meses.

Em sistemas de produção de gado de corte o impacto da campilobacteriose genital bovina recai principalmente sobre o intervalo de partos, reflexo do grande número de vacas que falham em conceber ou concebem tardiamente no período de monta (Kasari & Gleason, 1996). As perdas econômicas são representadas ainda por descarte e necessidade de reposição de animais (fêmeas repetidoras de cio e touros infectados), queda na produção de bezerros, devido à absorção embrionária e abortamentos (Pellegrin, 1999a).

O histórico da propriedade, o desempenho reprodutivo e os sinais clínicos apresentados pelas fêmeas podem sugerir a presença do *C. fetus* subsp. *venerealis* no rebanho. Entretanto, essas observações não são conclusivas para o diagnóstico, pois os sinais comuns à campilobacteriose genital bovina se assemelham aos da Tricomonose Bovina e de outras doenças infecciosas e não infecciosas do trato genital. Logo, é necessário se estabelecer o diagnóstico diferencial.

O diagnóstico da campilobacteriose genital bovina é bastante difícil por ser o *C. fetus* subsp. *venerealis* uma bactéria microaerofílica, de crescimento demorado, com baixa taxa de sobrevivência fora do hospedeiro, sendo assim de difícil isolamento (Clark e Dufty, 1972; Lander, 1990).

No Brasil, a dificuldade de diagnóstico se amplia devido às grandes distâncias entre a propriedade e o laboratório e raros são os estudos que objetivam reduzir tais dificuldades (Genovez et al., 1989).

Os testes de diagnóstico são realizados utilizando-se esmegma prepucial de touros, muco vaginal de fêmeas e fetos abortados, além de placentas e outros materiais de

aborto (Clark, 1971). O diagnóstico é realizado principalmente em touros, por serem portadores assintomáticos do agente e responsáveis pela disseminação do organismo no rebanho.

O esmegma prepucial pode ser coletado por raspado, "swab" ou lavado prepucial. A sensibilidade de detecção do *C. fetus* subsp. *venerealis* é maior se forem realizadas três coletas intervaladas de 15 dias, estando o animal sob repouso sexual (Lage e Leite, 2000). O material coletado pode ser levado ao laboratório em meio de transporte para ser semeado ou ser transportado sob refrigeração para ser analisado por imunofluorescência direta (Mellick et al., 1963; Winter et al., 1967).

O teste de imunofluorescência direta tem se mostrado como a técnica de maior aplicabilidade dentre aquelas disponíveis, pois apresenta grandes vantagens por ser prático e econômico, o que facilita o estudo epidemiológico da campilobacteriose genital bovina (Leite, 1977). A imunofluorescência direta apresenta boa sensibilidade, especificidade e alta sensibilidade analítica, ou seja, é capaz de detectar *C. fetus* mesmo em baixas concentrações no lavado prepucial (Figueiredo et al., 2002). É um teste de realização fácil, sendo factível sua realização na maioria dos laboratórios e seu resultado pode ser fornecido pelo laboratório em até 12 horas. É o teste de diagnóstico recomendado pela OIE (Wagnenaar et al., 2000).

O isolamento e identificação é um método dispendioso, difícil e requer laboratório e técnicos especializados para sua realização. Por isso, só são realizados por uma minoria de laboratórios, tornando difícil sua utilização em nosso meio. Uma vantagem deste método é que permite a diferenciação entre *C. fetus* subsp. *venerealis* e *C. fetus* subsp. *fetus*. O material enviado sob refrigeração pode ser utilizado para realização das demais técnicas de diagnóstico como a imunofluorescência direta.

A aglutinação do muco cérvico-vaginal é uma técnica utilizada para diagnóstico de

rebanho. Já foi muito empregada, no entanto sua sensibilidade e especificidade não são boas, além de apresentar muitos resultados falso negativos quando o material é coletado na fase do estro. Esta técnica está em desuso (Jepsen, Windekilde, 1951; Hughes, 1953; Kendrick, 1967).

Outras técnicas têm sido desenvolvidas como o ensaio imunoenzimático (ELISA) (Hum et al., 1991) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Hum et al., 1997; Stynen, 2000), no entanto ainda não são empregadas na rotina.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de realização do estudo

Este estudo epidemiológico transversal foi realizado nos 12 estados brasileiros de maior peso na produção de bovinos de corte: Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia, São Paulo e Tocantins.

Os estados que fazem parte do estudo correspondem a 89,1% da produção de bovinos do país (IBGE), como mostra a tabela 2, além disso, a área amostrada, 5.575.933 Km², corresponde a 65,5 % de todo o território nacional.

3.2 Amostragem

Este estudo objetivou estimar a prevalência da campilobacteriose genital bovina em dois níveis: prevalência de rebanhos e prevalência de animais, porém foram estabelecidos parâmetros de amostragem em função da prevalência de rebanhos, o objetivo principal. Para isso, foi utilizada a amostragem por conglomerado.

A amostragem foi realizada em duas etapas. Primeiramente, determinou-se o número de rebanhos suficiente para ser obtida uma estimativa da prevalência de rebanhos com a precisão desejada. Para classificar estes rebanhos quanto à positividade à campilobacteriose genital bovina, realizou-

se uma seleção aleatória de animais em cada um deles. Uma vez que a amostragem é realizada em dois níveis, a estimativa de prevalência também deve considerar estes níveis, obtendo-se então uma prevalência de conglomerado, neste caso, rebanhos, e uma prevalência individual. A prevalência de conglomerados indica a proporção de conglomerados infectados e a individual a proporção de animais em todos os conglomerados que estão infectados.

Esta metodologia de amostragem possibilita a redução de custos, o que representa grande vantagem do ponto de vista prático. O número de conglomerados (unidades primárias) e o número de elementos por conglomerado (unidades secundárias) podem variar, a fim de se obter uma maior precisão da estimativa. Em grande parte dos casos, para se obter determinado resultado, é mais simples e menos oneroso examinar um maior número de animais em um menor número de propriedades, por meio da amostragem de conglomerados. Deve-se ressaltar que, quanto mais animais puderem ser examinados, menor será o erro da amostra, entretanto, ocorrerá uma implicação direta no aumento dos custos do levantamento. Logo, é importante que seja encontrado o equilíbrio entre o erro amostral e orçamento.

Neste estudo a amostra foi calculada com objetivo de estimar a prevalência de animais e rebanhos com campilobacteriose genital bovina em toda a área estudada, composta pelos doze Estados amostrados e em cada região do país, não fazendo parte dos objetivos determinar as prevalências individual e de rebanho para cada Estado amostrado.

Para estes cálculos, utilizou-se uma prevalência estimada de 52% (Pellegrin et al, 2002), 95% de confiança e 15% de erro (Bennet et al., 1991). A média de animais amostrados por conglomerado foi estimada em 10. Para o cálculo do efeito de delineamento foi utilizado um coeficiente de correlação intraconglomerado de 0,20 (Otte & Gumm, 1997).

Tabela 2. Distribuição da população bovina nos estados brasileiros no ano do delineamento amostral, 1999, destacando-se os estados que compõem a amostra e seu peso relativo na amostra.

Estados	População Bovina	% País ¹	Peso Relativo ²
Acre	929.999	0,56	-
Alagoas	815.472	0,50	-
Amapá	76.734	0,05	-
Amazonas	826.025	0,50	-
Bahia	9.170.680	0,57	6,3
Ceará	2.167.525	1,32	-
Distrito Federal	110.157	0,07	-
Espírito Santo	1.881.831	1,14	-
Goiás	18.297.357	11,11	12,5
Maranhão	3.966.430	2,41	2,7
Mato Grosso	17.242.935	10,47	11,8
Mato Grosso do Sul	21.576.384	13,11	14,7
Minas Gerais	20.082.067	12,20	13,7
Pará	8.862.649	5,38	6,0
Paraíba	886.349	0,54	-
Paraná	9.472.808	5,75	6,5
Pernambuco	1.420.449	0,86	-
Piauí	1.756.268	1,07	-
Rio de Janeiro	1.866.061	1,13	-
Rio Grande do Norte	754.965	0,46	-
Rio Grande do Sul	13.663.893	8,30	9,3
Rondônia	5.441.734	3,31	3,7
Roraima	480.500	0,29	-
Santa Catarina	3.052.952	1,85	-
São Paulo	13.068.672	7,94	8,9
Sergipe	936.972	0,57	-
Tocantins	5.813.170	3,53	4,0
TOTAL AMOSTRADO	146.658.779	89,1	100
TOTAL	164.621.038	100	100

Fonte: IBGE (<http://www.sidra.ibge.gov.br>) para o ano de 1999.

1 – Peso relativo do número de bovinos de corte de cada estado em relação ao total de bovinos de corte do país.

2 – Peso relativo do número de bovinos de corte de cada estado em relação ao total de bovinos de corte amostrados no estudo. Este peso amostral foi utilizado para a ponderação da prevalência.

O tamanho da amostra foi calculado de acordo com Cochran (1977), utilizando-se a fórmula:

$$n = (t \cdot s^2 / L)^2 \quad (1)$$

onde,

t= 1,96 (valor de Z para 95% de nível de confiança);

L a precisão absoluta representada por 15%;

s é o desvio padrão calculado para amostragem aleatória simples:

$$s^2 = \sqrt{P(1-P)}$$

A correção para amostragem por conglomerado utilizou a fórmula (Cochran, 1977):

$$1 + (m-1) \rho \quad (2)$$

onde,
 m = número de animais amostrados por conglomerado e ρ = ao coeficiente de correlação intra-conglomerado, estimado em 0,20.

Em epidemiologia, conglomerado ou *cluster* significa um agrupamento de indivíduos de onde se retira uma subamostragem. Neste estudo, cada rebanho representa um conglomerado. O número de conglomerados foi calculado utilizando-se a fórmula (Otte & Gumm, 1977):

$$c = \frac{P(1-P)D}{s^2 n} \quad (3)$$

Onde:

c é o número de conglomerados;

P é a prevalência esperada (52 %);

D é o efeito de delineamento;

s é o desvio padrão

n é o número de animais por conglomerado (10).

O efeito de desenho é um elemento que tem influência no tamanho amostral. Ele é obtido pela razão entre os erros padrão de uma amostragem por conglomerado e uma amostragem aleatória simples. Um valor de $D = 1$ significa que a conglomeração não tem nenhum efeito sobre o tamanho amostral quando comparada com a amostragem aleatória simples. O D funciona como

um tributo pago pelo pesquisador por ter sua tarefa facilitada ao investigar apenas os conglomerados sorteados, aumentando sua imprecisão devido às possíveis correlações das unidades amostrais dentro e entre os conglomerados. Assim, pode-se simplificar o cálculo do tamanho amostral usando a teoria da amostragem aleatória simples quando o estudo deve ser feito por conglomeração, corrigindo a imprecisão maior deste devido a este desenho amostral através de algum valor para o D (a correção para a amostragem). O D pode assumir valores entre 0 e infinito (Medronho, 2003).

Isto resultou numa amostra de 1200 animais em 120 propriedades.

Para o estudo foram escolhidos os 12 estados com maior população bovina e com tendência a pecuária de corte segundo os dados do Banco de Dados Agregados do IBGE (<http://www.sidra.ibge.gov.br>) para os anos de 1999 e 2000: Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia, São Paulo e Tocantins.

Foram amostradas 10 propriedades por estado, no período de fevereiro a outubro de 2000. As propriedades foram escolhidas por sorteio dentre aquelas cadastradas no Programa de Sanidade para Bovinos (Probov) dos Laboratórios Pfizer. As propriedades sorteadas deveriam atender a dois critérios: ser exclusivamente produtora de bovinos de corte e possuir no mínimo 10 touros. Caso a propriedade sorteada não atendesse a esses critérios, seria selecionada a próxima.

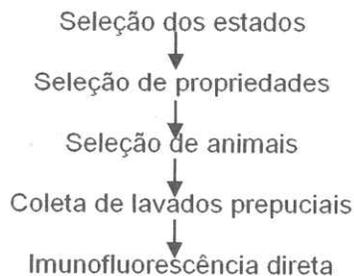


Figura 1 - Sumário do delineamento experimental

3.3 Local de realização dos testes

O diagnóstico de campilobacteriose genital bovina foi realizado por imunofluorescência direta no Laboratório de Bacteriologia Aplicada da Escola de Veterinária da UFMG, no período de fevereiro a novembro de 2000.

3.4 Lavados Prepuciais

De cada touro foi coletado lavado prepucial segundo Leite et al. (1995) em solução salina fosfatada (PBS, pH 7,4). Estes lavados foram armazenados a 4° C até o momento do exame. As coletas foram realizadas após um período de repouso sexual de, no mínimo, 15 dias.

3.5 Imunofluorescência Direta

A imunofluorescência direta (IFD) foi realizada conforme as recomendações de Mellick et al. (1963) e Winter et al. (1967). Os lavados prepuciais foram submetidos a duas centrifugações: a primeira a 600 x g, por 10 min, obtendo-se um sobrenadante que era então centrifugado a 13000 x g por 30 minutos. O sedimento da segunda centrifugação foi ressuspenso em 500 µL de PBS (pH 7,4), homogeneizado e 20 µL da suspensão foram então colocados, em duplicata, nas demarcações da lâmina para imunofluorescência. As lâminas foram secas à temperatura ambiente e fixadas em acetona a -20° C por 30 min. Após a fixação as lâminas foram cobertas com 20 µL de uma diluição 1/128 de soro anti-*C. fetus* subsp. *venerealis* preparado em coelho com a amostra *C. fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354 e conjugado com fluoresceína (Sigma, USA) segundo Ruckerbauer et al. (1974). Após incubação por 30 min à 37° C em câmara úmida, as lâminas foram submetidas a três lavagens com PBS (pH 7,4) por 10 min, para a retirada do excesso de conjugado. Para a montagem das lâminas foi utilizada glicerina tamponada (pH 9,2) e o material foi coberto com lamínula. Como controle positivo foi utilizado o *C. fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354 cultivado em ágar BHI (Difco, USA) por 48 h a 37° C em atmosfera de microaerofilia. Os esfregaços foram examinados em microscópio de epifluorescência (Carl Zeiss, Germany) com objetivas de 40x e 100x. Foram considerados positivos os lavados

prepuciais que apresentavam bactérias fluorescentes com morfologia típica de *C. fetus*, ou seja, bactérias espiraladas em forma de "S", vírgula ou asa de gaivota.

3.6 Questionário

O questionário (Anexo I) foi elaborado, seguindo referencial teórico de Obiaga et al. (1979), Astudillo (1984), Thrusfield (1986) e Noordhuizen et al. (1997), com objetivo de obter dados sobre o manejo reprodutivo e sanitário, com ênfase nas doenças ligadas à reprodução, caracterização da propriedade e demografia animal, de modo a caracterizar as propriedades.

3.7 Análise Estatística

A prevalência de rebanhos com campilobacteriose genital bovina e o intervalo de confiança da prevalência foram calculados para amostragem simples, pelo método binomial exato (Wayne, 1987) pelo software Epi Info (Dean et al., 1995).

A prevalência, o intervalo de confiança, o efeito do delineamento e o coeficiente de correlação intraconglomerado foram calculados segundo Putt et al., (1987) e Bennett et al. (1991). Em função da amostragem, que foi fixa por propriedade e por estado, o cálculo da prevalência foi realizado ponderando-se os dados obtidos pelo número total de animais por propriedade e por estado (Bennet et al., 1991). Como o número de animais por rebanho não é o mesmo em todas as propriedades, é importante que seja calculada a prevalência de animais ponderada, ou seja, é importante considerar o peso que cada propriedade tem, em número de animais, em relação às demais propriedades do estrato.

A determinação do ponto de corte a ser utilizado foi realizada utilizando-se o software Herdacc® (Jordan, 1995). Sensibilidade de rebanho e especificidade de rebanho foram simuladas para propriedades com 10, 50, 100, 150, 500 e mais que 1000 touros, três pontos de corte (um, dois ou três touros positivos ao teste) e prevalência estimada variando de 30% a 70%, considerando uma amostragem fixa de 10 animais por conglomerado. A tabela 3 mostra que o melhor equilíbrio entre

sensibilidade de rebanho e especificidade de rebanho se deu quando o ponto de corte foi dois ou mais animais positivos por propriedade. Logo, ficou estabelecido para esse estudo que o ponto de corte seria este, ou seja, seriam necessários no mínimo dois animais positivos ao teste para classificar o rebanho como positivo. Pela simulação de ponto de corte realizada, estabeleceu-se o mínimo de dois touros positivos à IFD para campilobacteriose genital bovina por rebanho para classificar o rebanho como

positivo, tendo sido este, o melhor ponto de equilíbrio entre sensibilidade e especificidade de rebanho (Tabela 3).

A sensibilidade de rebanho é a probabilidade de um rebanho infectado ser corretamente classificado como positivo pelo teste aplicado nos animais. A especificidade de rebanho é a probabilidade de um rebanho livre de infecção ser corretamente classificado como negativo pelo teste aplicado aos animais.

Tabela 3. Especificidade de rebanho e sensibilidade de rebanho, para uma amostra de dez animais, em rebanhos com diferentes números de touros e três pontos de corte.

Touros ¹	Ponto de Corte ²	ESP-R ³	Sensibilidade de Rebanho (%)				
			P30% ⁴	P40% ⁴	P50% ⁴	P60% ⁴	P70% ⁴
10	1	0,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	2	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	3	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
50	1	24,2	99,4	99,9	100,0	100,0	100,0
	2	65,6	94,5	98,4	99,6	99,9	100,0
	3	91,4	78,8	91,4	97,3	99,4	99,9
100	1	29,4	99,1	99,8	100,0	100,0	100,0
	2	69,8	93,4	97,9	99,5	99,9	100,0
	3	92,2	77,3	90,1	96,6	99,1	99,9
150	1	28,9	98,9	99,8	100,0	100,0	100,0
	2	68,4	92,4	99,7	99,4	99,9	100,0
	3	91,2	75,4	89,7	96,3	99,0	99,8
500	1	30,8	98,8	99,7	99,9	100,0	100,0
	2	69,7	92,2	97,4	99,3	99,8	100,0
	3	91,4	75,4	88,9	95,8	98,8	99,8
≥1000	1	30,7	98,8	99,7	99,9	100,0	100,0
	2	69,3	92,0	97,3	99,2	99,8	100,0
	3	91,1	75,0	88,6	95,8	98,8	99,8

1 – Número de touros na propriedade

2 – Número de animais positivos na IFD para se considerar a propriedade como positiva

3 – ESP-R – Especificidade de rebanho em percentagem

4 – Nível de prevalência (%)

A prevalência real foi estimada de acordo com Martin et al. (1987) ajustando-se o valor de prevalência de animais infectados obtida para uma especificidade de 88,9% e sensibilidade de 92,6% determinadas anteriormente para o teste de imunofluorescência direta (Figueiredo et al., 2002).

Para testar se houve diferença significativa entre as distribuições de frequência de propriedades com touros positivos à IFD para *C. fetus* e as variáveis levantadas pelo

questionário foram utilizados os testes do qui-quadrado ou de Fisher, empregando-se erro $\alpha = 0,05$ (Sampaio, 1998), com os ajustes propostos por Donald e Donner (1988). Foram analisadas as seguintes variáveis por propriedade: origem dos touros, número de touros, total de fêmeas, total de animais, área, grupo racial, presença e tipo de escrituração, vacinações, utilização dos touros jovens, presença e duração da estação de monta, utilização de inseminação artificial e utilização de touro

de repasse. Também foi analisada a influência da idade de cada touro na infecção por *C. fetus* subsp. *venerealis*. As variáveis qualitativas foram agrupadas em categorias lógicas para permitir a análise dos possíveis fatores associados à presença de campilobacteriose genital bovina no rebanho. As variáveis quantitativas foram agrupadas até o terceiro quartil (até o terceiro quartil versus acima do terceiro quartil) para realizar esta análise.

Os fatores de risco são variáveis associadas com aumento do risco de determinada doença, quando há exposição prévia a esses fatores. Cabe salientar que neste estudo não se buscou uma associação entre causa e efeito, mas uma associação entre determinadas características do rebanho e o risco de ocorrer a campilobacteriose genital bovina. Cada variável presente no questionário foi agrupada e avaliada quanto à sua relação com presença ou ausência da doença (Bennet et al., 1991; Noordhuizen et al., 1997; Medronho, 2002).

4. RESULTADOS

4.1 Perfil das propriedades

Da amostra planejada, foram coletadas amostras em 120 propriedades de corte dos

12 Estados (Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Rio Grande do Sul, Rondônia, São Paulo e Tocantins), sendo 10 propriedades por Estado. Entretanto, não foi possível a análise de material dos 1200 touros amostrados, pois houve perda de material coletado em três propriedades de Rondônia (um touro em cada), em duas do Mato Grosso (dois touros em um rebanho e um em outro), em uma de Minas Gerais (dois touros) e em uma do Rio Grande do Sul (um touro). Portanto, foram testados 1191 touros.

O perfil das propriedades estudadas em relação a variáveis numéricas de tamanho de rebanho, número de fêmeas e número de touros, duração da estação de monta e idade dos touros amostrados está apresentado na Tabela 4.

A distribuição da idade dos touros estudados em faixas etárias definidas pelos quartis (25%, 50%, 75% e maior que 75%) em relação à presença de infecção por *C. fetus* é apresentada na Tabela 5.

Cento e treze das 120 propriedades estudadas apresentavam algum tipo de escrituração zootécnica, sendo que em 66,4% delas era utilizado o computador na rotina da escrituração (Tabela 6).

Tabela 4. Perfil das propriedades da amostra quanto as variáveis numéricas estudadas

Variáveis	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Q1 ¹	Q3 ²
Touros ³	113,1	70	10	2000	40	120
Fêmeas ⁴	3426	2465	740	18000	1800	3987
Animais ⁵	3539	2520	765	18400	1905	4095
Área (ha)	8787	4000	700	110000	2361	8150
Estação de monta – MN ⁶	100,7	90	60	210	90	120
Estação de monta – IA ⁷	86,2	90	30	210	60	112,5
Idade touros (meses) ⁸	71,6	70	28	192	53	84

1 – Q1 – primeiro quartil (25%)

2 – Q3 – terceiro quartil (75%)

3 – Total de touros no rebanho

4 – Total de fêmeas no rebanho

5 – Total de animais no rebanho

6 – Duração da estação de monta no regime de monta natural (dias)

7 – Duração da estação de monta no regime de inseminação artificial (dias)

8 – Idade dos touros amostrados

Tabela 5 – Distribuição de idades dos touros em relação à infecção por *C. fetus*

Idade dos touros	NI ¹	I ²	Total
Idade dos touros			
Até 53 meses	241	62	303
De 54 a 70 meses	245	60	305
De 71 a 84 meses	261	44	305
Superior a 84 meses	219	58	277

Tabela 6 – Caracterização das propriedades estudadas em relação à área, tamanho do rebanho, raça predominante, controle zootécnico e tipo de escrituração, e origem dos touros em relação à presença de infecção por *C. fetus*

Características	NP ¹	NI ²	I ³	Total
Área da propriedade	120			
Até 2361 há		17	15	32
De 2362 a 4000 ha		17	16	33
De 4001 a 8150 ha		12	14	26
Maior de 8150 ha		17	12	29
Total de animais	120			
até 1905		17	13	30
1906 a 2520		10	20	30
2521 a 4095		19	11	30
maior 4095		17	13	30
Total de touros	120			
até 40		16	16	32
41 a 70		17	16	33
71 a 120		15	11	26
maior 120		15	14	29
Total de fêmeas	120			
até 1800		17	14	31
1801 a 2465		10	19	29
2466 a 3987		20	10	30
maior 3987		16	14	30
Raça predominante	120			
Europeu		3	5	8
Mestiço		2	9	11
Zebu		58	43	101
Controle Zootécnico	120			
Realiza		59	54	113
Não realiza		4	3	7
Tipo de Escrituração	119			
Caderno ou ficha		18	19	37
Computador		20	24	44
Ambos		20	11	31
Reposição de Touros	104			
Próprio rebanho		39	37	76
Outro rebanho		3	2	5
Leilão		1	0	1
Todos		11	11	22

1 – NP – número de propriedades que responderam à questão

2 – NI – propriedade sem infecção por *C. fetus*3 – I – propriedade com infecção por *C. fetus*

Nenhuma das propriedades vacinava contra campilobacteriose genital bovina ou tricomonose bovina. As frequências de propriedades que vacinavam contra brucelose, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia bovina a vírus (BVD) e leptospirose em relação a presença de infecção por *C. fetus* estão na Tabela 7.

Todas as propriedades amostradas utilizavam manejo com monta natural, mas 74,2% delas também utilizam a tecnologia de inseminação artificial. Nenhuma das propriedades amostradas utilizava apenas inseminação artificial. Das propriedades que empregavam a inseminação artificial, 95,6% também possuíam touro de repasse. A estação de monta era utilizada como prática

exclusiva de manejo em 91,5% das propriedades amostradas (Tabela 8).

Nenhuma das variáveis testadas – origem dos touros de reposição, número de touros, total de fêmeas, total de animais, área das propriedades, grupo racial predominante, presença e forma de escrituração zootécnica, vacinações, utilização exclusiva de touros jovens em novilhas ou não, presença de estação de monta, duração da estação de monta (com monta natural ou com inseminação artificial), utilização de inseminação artificial, utilização de touro de repasse e idade dos touros – apresentou associação significativa com a presença de campilobacteriose genital bovina.

Tabela 7 – Vacinações contra doenças da reprodução realizadas nas propriedades estudadas em relação à presença de infecção por *C. fetus*

Vacinas	NP ¹	NI ²	I ³	Total
Brucelose	119			
Vacinavam		55	55	110
Não vacinavam		7	2	9
IBR e BVD	119			
Vacinavam		18	21	39
Não vacinavam		44	36	80
Leptospirose	119			
Vacinavam		19	27	46
Não vacinavam		43	30	73

1 – NP – número de propriedades que responderam à questão

2 – NI – propriedade sem infecção por *C. fetus*

3 – I – propriedade com infecção por *C. fetus*

Tabela 8 – Características de manejo reprodutivo das propriedades estudadas em relação à presença de infecção por *C. fetus*

Características	NP ¹	NI ²	I ³	Total
Inseminação artificial - IA	90			
Emprega		45	44	89
Não emprega		1	0	1
Estação de monta – EM	117			
Emprega		57	50	107
Não emprega		2	5	7
Emprega em parte dos animais		1	2	3
Duração EM com monta natural	104			
Até 90		35	33	68
91 a 100		0	0	0
101 a 120		14	8	22
maior 120		6	8	14
Duração EM com IA	80			
Até 60 dias		16	18	34
De 61 a 90 dias		14	12	26
De 91 a 113 dias		0	0	0
Mais de 113 dias		11	9	20
Touros de repasse	90			
Emprega		42	44	86
Não emprega		4	0	4
Utilização de touros jovens	110			
Só em novilhas		16	19	35
Só em vacas		4	6	10
Em novilhas e em vacas		35	30	65

1 – NP – número de propriedades que responderam à questão

2 – NI – propriedade sem infecção por *C. fetus*

3 – I – propriedade com infecção por *C. fetus*

4.2 Estudo de prevalência

Os resultados da prevalência total e prevalência regional de rebanhos infectados com campilobacteriose genital bovina são apresentados na Tabela 9.

A prevalência total de animais infectados por *Campylobacter fetus* e a prevalência de

animais infectados em cada uma das cinco regiões do país são apresentados na tabela 10.

A Figura 2 apresenta os dados de prevalência de campilobacteriose genital bovina de animais e de rebanhos estimadas para as cinco regiões brasileiras.

Tabela 9. Prevalência de rebanhos de corte com campilobacteriose genital bovina nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul e no total da área amostrada.

Região	Rebanhos Positivos	Rebanhos Testados	Prevalência	95% IC	
				Min (%)	Max (%)
Norte	12	30	40,0	22,7	59,4
Nordeste	1	20	5,0	0,3	26,9
Centro-Oeste	20	30	66,7	47,2	82,7
Sudeste	14	20	70,0	45,7	88,1
Sul	14	20	70,0	45,7	88,8
TOTAL	61	120	50,8	41,6	60,1

Estados amostrados por região. Norte: Pará, Rondônia e Tocantins; Nordeste: Bahia e Maranhão; Centro – Oeste: Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul; Sudeste: Minas Gerais e São Paulo e no Sul: Paraná e Rio Grande do Sul.

Tabela 10. Prevalência de touros com campilobacteriose genital bovina em rebanhos de corte nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul e no total da área amostrada.

Região	D ¹	rho ²	Touros Positivos	Touros Testados	PR ³	PA ⁴	95% IC (%)	
							Min	Max
Norte	12,26	0,35	42	297	13,6	11,2	4,3	18,1
Nordeste	4,70	0,08	3	200	0,4	0,4	0,0	1,2
Centro-Oeste	14,25	0,42	81	297	31,9	26,1	15,8	36,5
Sudeste	24,77	0,49	51	198	28,5	23,3	10,3	36,4
Sul	13,92	0,26	47	199	24,7	20,2	10,9	29,5
TOTAL	4,76	0,52	224	1191	24,1	19,7	13,3	25,1

1 – D – Efeito de desenho

2 – rho – Coeficiente de correlação intraconglomerado

3 – PR – Prevalência Real

4 – PA – Prevalência Aparente

Estados amostrados por região. Norte: Pará, Rondônia e Tocantins; Nordeste: Bahia e Maranhão; Centro – Oeste: Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul; Sudeste: Minas Gerais e São Paulo e no Sul: Paraná e Rio Grande do Sul.

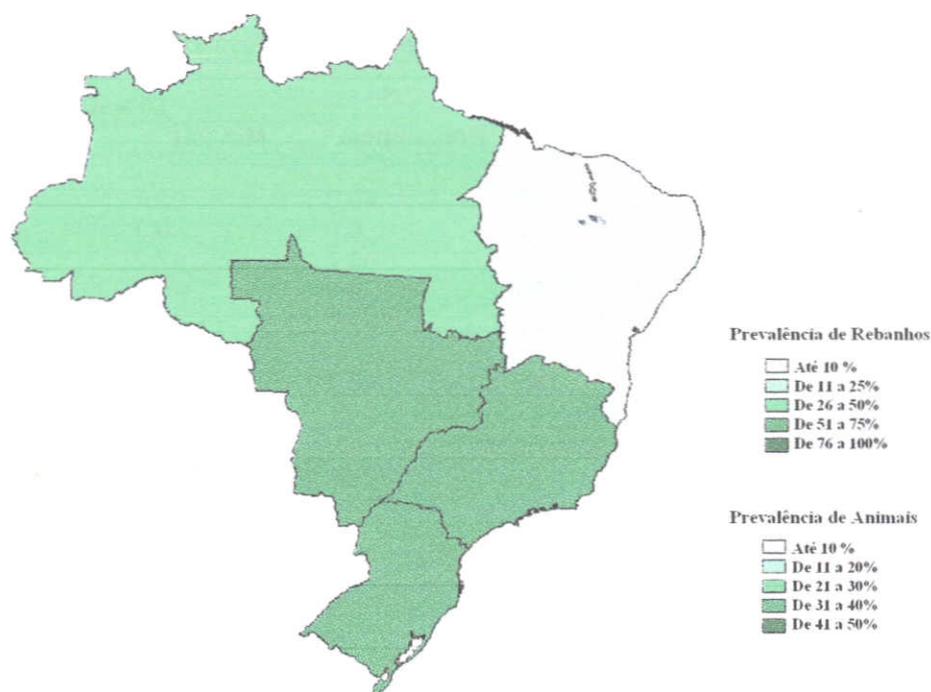


Figura 2. Prevalência de rebanhos e de touros de corte com campilobacteriose genital bovina por região, 2000. Foram amostrados 10 touros por propriedade e 10 propriedades de cada um dos seguintes Estados: Pará, Rondônia e Tocantins – Região Norte; Bahia e Maranhão – Região Nordeste; Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul – Região Centro-Oeste; Minas Gerais e São Paulo – Região Sudeste; Paraná e Rio Grande do Sul – Região Sul.

5. DISCUSSÃO

A estimativa da prevalência de uma doença pode ser baseada no exame de um grupo de animais em determinado momento (prevalência no ponto) ou no exame de grupos de animais durante um intervalo de tempo (prevalência no período). Tanto a prevalência no ponto como a prevalência no período fornecem informações sobre a probabilidade de um animal naquela população ser acometido pela doença (Smith, 1984). Neste estudo, foi estimada a prevalência no período, sendo amostradas 120 propriedades no intervalo de tempo compreendido entre fevereiro e outubro de 2000.

A sensibilidade e especificidade da técnica de imunofluorescência direta, estimadas respectivamente em 92,6% e 88,9% (Figueiredo et al., 2003), tornam a técnica

adequada para uso em testes de triagem de populações e, por conseguinte, apropriada para estudos epidemiológicos. Além disso, observou-se neste estudo um excelente aproveitamento do material coletado para diagnóstico, pois dos 1200 lavados prepucias coletados, apenas 9 foram perdidos. Um aproveitamento tão alto do material coletado, com um custo reduzido, provavelmente não teria sido atingido se fosse empregado o isolamento e identificação, em função das dificuldades de transporte e conservação do material da propriedade ao laboratório que em algumas situações ultrapassou uma semana.

É importante lembrar na epidemiologia da campilobacteriose genital bovina que o touro é portador assintomático permanente do *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*, não apresentando sinais clínicos, mas também não adquirindo imunidade contra o

agente, sendo, desta forma, o disseminador da doença no rebanho, por isso um teste de diagnóstico realizado em touros, como o realizado neste estudo pela IFD, é muito adequado para pesquisa de rebanhos infectados. A recuperação espontânea da infecção nos machos raramente ocorre. Isto se deve, provavelmente devido a pequenas variações antigênicas que a bactéria sofre no curso da infecção e por esta não ter um caráter invasivo nos machos não induzindo uma grande produção de anticorpos. Com isto o macho permanece como portador assintomático disseminando a infecção no rebanho (Stoessel, 1982).

Quando animais são testados individualmente para se determinar o estado do rebanho, a validade do teste diagnóstico (sensibilidade e especificidade) deve ser avaliada de forma agregada (Jordan, 1995; Noordhuizen et al., 1997). O estabelecimento do ponto de corte com dois touros positivos para a classificação do rebanho como infectado permitiu aumentar principalmente a especificidade de rebanho, que variou entre 65,6 e 100%, diminuindo o número de rebanhos falso-positivos e mantendo a sensibilidade alta (Tabela 3). Isto aumentou a confiabilidade do valor médio de prevalência de rebanhos com infecção por *C. fetus*, apesar do intervalo de confiança observado ter sido maior que o estimado no cálculo da amostra (Tabela 9).

Os valores de coeficiente de correlação intraconglomerados encontrados, salvo o encontrado para a Região Nordeste, foram superiores a 0,20, valor sugerido por Otte e Gumm (1997) e McDermott e Schukken (1994) como sendo uma boa estimativa para doenças moderadamente contagiosas. Esses valores também foram superiores ao encontrado por Pellegrin et al. (2002) para a infecção por *C. fetus* em touros no Pantanal sul-matogrossense. Estes achados refletem diferenças na distribuição de animais infectados entre os rebanhos e regiões estudadas. Enquanto no Pantanal sul-matogrossense a quase totalidade das propriedades estudadas apresentava altas taxas de animais positivos à IFD para *C. fetus* (Pellegrin et al., 2002a) e os dados sobre a Região Nordeste no presente

estudo mostrem que a maioria das propriedades estudadas não apresentava animais infectados, o que ocasionou um baixo valor do coeficiente de correlação intraconglomerados, nas outras regiões brasileiras houve grande diversidade em relação a proporção de propriedades com infecção e ao número de animais infectados em cada uma delas, resultando em coeficientes mais elevados.

Em função dos elevados valores de coeficiente de correlação intraconglomerado, o efeito do desenho amostral encontrado também foi alto neste estudo (Tabela 10). Além de ser um importante fator na estimativa apropriada do tamanho da amostra para futuros estudos, o valor do desenho amostral, que representa o aumento da variância por se trabalhar com uma amostra por conglomerados, é imprescindível para se realizar as correções necessárias nas análises dos dados gerados por um experimento com amostragem por conglomerados, pois o erro padrão é maior neste tipo de amostragem (McDermott et al., 1994).

Para o estudo dos fatores de risco neste trabalho foi empregado o ajuste de teste proposto por Donald e Donner (1988) e McDermott et al. (1992), em função da amostragem por conglomerados utilizada, dividindo-se os valores de qui-quadrado encontrados pelo valor do efeito de desenho. Estas análises não evidenciaram nenhuma associação entre as variáveis estudadas e o risco de infecção por *C. fetus*, mesmo em variáveis que já foram observadas como sendo associadas a maior risco de ocorrência da campilobacteriose genital bovina como origem e idade dos touros (Clark, 1971; Philpott, 1968; Soto, Dick, 1983), área da propriedade (Pellegrin et al., 2002a), emprego de estação de monta ou monta o ano todo (Stoessel, 1982; Pellegrin et al., 2002a), utilização de inseminação artificial (Clark, 1971; Stoessel, 1982; Dekeyser, 1984) e utilização de touro de repasse (Stynen et al., 2003).

A ausência de significância entre estas variáveis e a ocorrência de campilobacteriose genital bovina pode estar

ligada a fatores como o próprio desenho experimental. Estudos transversais como o presente estudo não são os mais adequados para se estudar associações de causa e efeito, pois muitos indivíduos podem estar expostos ao fator, ter se infectado, mas não ser possível no momento da coleta de material a sua identificação como infectados (Noordhuizen et al., 1997; Medronho, 2002). Para a melhor elucidação de fatores de risco seriam mais adequados os estudos prospectivos, apesar dos estudos transversais poderem contribuir com informações sobre variáveis que favoreçam a infecção (Smith, 1984; Noordhuizen et al., 1997).

No presente estudo, a própria seleção das propriedades a serem estudadas pode ter contribuído para dificultar a análise de fatores associados à campilobacteriose genital bovina. Só propriedades que possuíam touros e, conseqüentemente monta natural, foram selecionadas, podendo isto ter introduzido um viés na análise. Mesmo as altas taxas de emprego de estação de monta e inseminação artificial encontradas na amostra estudada podem ter tido seus efeitos mascarados em relação à presença de campilobacteriose genital bovina em função de variáveis que poderiam causar confundimento como a presença de touros de repasse e a idade dos touros empregados (Clark, 1971; Stynen et al., 2003).

A alta prevalência de rebanhos de corte com infecção por *C. fetus* encontrada sugere que algumas variáveis do manejo empregado nas propriedades de corte favoreça a transmissão da doença, visto que, desde a década de 1950 (Clark, 1971), formas de controle como implementação de inseminação artificial, adoção de regime de estação de monta, introdução exclusiva no rebanho de touros testados e negativos para esta enfermidade, tratamento de animais infectados, separação de vacas e novilhas e vacinação já foram estabelecidas.

De fato isso ocorre nas propriedades estudadas, onde, em função do delineamento da amostra, todas tinham

regime de monta natural. Em sua maior parte o manejo reprodutivo era realizado em um período de estação de monta, que, em função do descarte dos animais vazios ao final da estação de monta, minimiza os índices da campilobacteriose genital bovina no rebanho (Pellegrin et al., 2002b). No entanto, em 8,5 % das propriedades amostradas a monta era realizada durante o ano todo. A inseminação artificial, empregada na maioria das propriedades estudadas, parece não estar sendo eficaz no controle da campilobacteriose genital bovina nestes rebanhos. Isto provavelmente ocorre porque 95,6% das propriedades empregam também touro de repasse, o que já foi evidenciado como fator de risco para a manutenção da campilobacteriose genital bovina nos rebanhos (Stynen et al., 2003). Um outro fator a se considerar é que 75% dos touros amostrados tinha idade superior a 4 anos e meio, o que poderia favorecer a manutenção do *C. fetus* subsp. *venerealis* no prepúcio dos animais (Stoessel, 1984; Dekeyser, 1984). Além disto, nenhuma das propriedades testadas tinha diagnóstico anterior ou vacinava contra campilobacteriose genital bovina.

Os sinais da campilobacteriose genital bovina passam muitas vezes despercebidos, principalmente em função da falta de maior controle dos índices reprodutivos. Logo em propriedades onde a escrituração não é bem feita e o controle não é tão minucioso, esta doença pode causar sérias perdas econômicas e de uma forma silenciosa, sem que seja na maior parte dos casos diagnosticada. Apenas 5,8% das propriedades estudadas não possuem escrituração zootécnica e na maioria das que a possuem, o computador é empregado, indicando maior grau de tecnificação. Isto, associado às altas taxas de prevalência da campilobacteriose genital bovina no estudo, sugere que esta escrituração zootécnica não esteja sendo bem realizada ou que os dados levantados não sejam suficientes para a avaliação de índices como a taxa de repetição de cio ou o intervalo de partos, que estão nitidamente alterados em rebanhos com a doença (Stoessel, 1982; Lage, Leite, 2000, Pellegrin, 2001).

Vários indicadores levantados no presente estudo, sugerem que a amostra avaliada seja representativa de propriedades maiores e com maior grau de tecnificação no cenário da pecuária de corte brasileira. A taxa de rebanhos que empregam a inseminação artificial observada neste estudo (74,2%), mesmo que estes rebanhos utilizem também a monta natural e touros de repasse (Tabela 8), foi muito superior a média estimada para propriedades com pecuária de corte com expressão econômica para o ano de 2003 (21%) (Yassu, 1994). O tamanho médio dos rebanhos da amostra também é superior ao calculado para alguns estados com predominância de propriedades com pecuária de corte como Mato Grosso (média de 277 bovinos / propriedades) e Mato Grosso do Sul (média de 387 bovinos / propriedade) (MONITORAMENTO, 2004). Apesar das diferenças de delineamento, pois no presente estudo só propriedades com pecuária de corte foram estudados, o que pode ter elevado a média de bovinos por propriedade, a diferença é marcante. O grau de tecnificação das propriedades também é proeminente, pois, além da maioria utilizar inseminação artificial, escrituração zootécnica é encontrada em 91,2% das propriedades, sendo que dois terço de todas as propriedades utilizam computador. A ausência de uma boa caracterização da pecuária de corte nacional em relação a muitos dos fatores estudados obsta uma melhor comparação dos resultados.

Todavia, essa caracterização da amostra não invalida o estudo, pois se em propriedades com maior grau de tecnificação, onde o controle zootécnico é mais apurado e formas conhecidas de controle da campilobacteriose genital bovina são empregadas (inseminação artificial, estação de monta), as prevalências de propriedades e de animais com infecção por *C. fetus* foram elevadas, provavelmente a prevalência média nacional seja igual ou superior à encontrada. A amostragem dos touros uma única vez, em função de ausência de identificação dos animais, dificuldades de manejo e aumento dos

custos do experimento, decorrentes do retorno à propriedade, corrobora esta hipótese. Mais ainda, alguns touros podem ter sido amostrados sem o repouso sexual adequado, principalmente nas propriedades que utilizavam monta o ano todo. No entanto, o período de coleta correspondeu ao período em que já se encerrara a estação de monta nas propriedades que adotam este regime e a maior parte do período de coleta correspondeu à época de seca, quando as fêmeas geralmente não ciclam, sendo em ambas situações período de repouso sexual. Lage e Leite (2000) recomendam que para se obter uma maior sensibilidade na IFD devem ser efetuadas três coletas repetidas no mesmo animal, em intervalos quinzenais, estando o animal em repouso sexual prévio. A prevalência encontrada poderia, portanto, ter sido superior, se dois ou três lavados prepuciais tivessem sido coletados de cada animal e se o período de repouso sexual antes da coleta de material tivesse sido rigorosamente observado (Stoessel, 1982; Lage, Leite, 2000). Entretanto, no presente estudo foi imprescindível considerar as capacidades operacional e financeira disponíveis para a realização do trabalho de campo, que não permitiam o retorno à propriedade para novas coletas.

A frequência de rebanhos infectados observada no Brasil tem sido mais elevada que a prevalência individual, variando de 27% (Mies Filho, 1960) a 72% (Guida e Langenegger, 1989). Na Argentina, onde o manejo reprodutivo em sua grande parte ainda é por monta natural, também, é elevada a frequência de rebanhos infectados pelo *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*, variando de 20,9 a 43% e de touros portadores variando de 14,6 a 23% (Vilar e Spina, 1982; Cippola et al., 1984; Soto e Di Roco, 1984). Na Argentina Soto e Di Roco (1984) reportam prevalência de 65,2% de campilobacteriose genital bovina em fazendas com problemas de fertilidade e 35,2% em fazendas com índices de fertilidade desconhecidos e consideram que a doença exerce influência direta nos índices reprodutivos daquele país. Os índices lá encontrados são semelhantes a prevalência e aos intervalos de confiança

estimados por esse estudo no Brasil, o que permite inferir que esta doença possa afetar diretamente nossos índices reprodutivos. Pellegrin (2001), em estudo experimental na região do Pantanal sul-matogrossense, encontrou taxas de repetição de cio e de aborto de 44% e 13%, respectivamente, e somente 59% das novilhas pariram. Na Austrália, McCool et al. (1988) apontaram a ocorrência de 87% de rebanhos de corte infectados. Considerando que a Austrália e Argentina são países onde a pecuária ainda é praticada de forma extensiva, com manejo por monta natural, a campilobacteriose genital bovina parece desempenhar importante papel na bovinocultura desses países, assim como no Brasil.

A prevalência em animais é apresentada neste estudo de forma ponderada, pois esta é fundamental, em função de haver um total de animais amostrados, mas cada rebanho tem seu peso dentro do estado, da mesma forma, que cada estado tem seu peso dentro da amostra.

A prevalência geral de animais infectados pelo *C. fetus* encontrada neste estudo, é alta, sugerindo que a campilobacteriose genital bovina seja um sério problema nos rebanhos de corte do país, constituindo-se em uma das prováveis causas dos baixos índices reprodutivos encontrados na pecuária de corte. As prevalências aparentes de touros de corte com infecção por *C. fetus* calculadas no presente estudo para a amostra total e para cada uma das regiões do país não estão superestimadas, pois as prevalências reais calculadas se encontram dentro os limites dos intervalos de confiança (Tabela 6), e podem ser utilizadas como bons indicadores da situação da doença no país.

Até o momento não havia no país um levantamento da infecção por *C. fetus* tão amplo como este realizado. Os índices aqui encontrados não podem ser diretamente comparados aos resultados de levantamentos realizados por outros autores desde 1959 até 1998, nos quais os índices variaram de 3,5 % a 66,9 % (Guida et al., 1959/60, Mies Filho, 1960 e 1963, Castro et al., 1967, Costa, 1976, Castro et al., 1971,

Leite, 1977, Ramos e Guida, 1978, Genovez et al., 1986, Lage et al., 1997, Jesus et al., 1999, Pellegrin et al., 2002a, Stynen et al., 2003). Isto resulta de diferenças nos delineamentos experimentais e na maioria dos estudos os autores não utilizaram um delineamento experimental com objetivo de estimar prevalência. Além disso, as técnicas de diagnóstico empregadas variam; a maioria dos trabalhos emprega a técnica de muco-aglutinação, que hoje está em desuso pela sua baixa especificidade e sensibilidade no diagnóstico individual da doença (Jepsen e Windekilde, 1951; Hughes, 1953; Kendrick, 1967).

As prevalências de animais infectados observadas nas cinco regiões do país apresentaram grande variação (0,4% a 29,3%). No entanto não houve diferença entre as prevalências observadas para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, que apresentaram prevalências muito semelhantes, e mesmo entre as anteriores e a região Norte, visto que há sobreposição dos intervalos de confiança.

A região Nordeste apresentou uma prevalência de touros infectados realmente mais baixa (0,4%), o que foi significativamente diferente das demais regiões. Entretanto não se pode afirmar que a campilobacteriose genital bovina está ausente da região, principalmente ao se observar que a prevalência de rebanhos infectados na região é de 5% (IC95%: 0,3% - 26,9%). Nem mesmo no Estado da Bahia, onde no presente estudo não foi detectado nenhum rebanho ou animal positivo à IFD, pode-se afirmar que a doença não ocorre, pois o intervalo de confiança de rebanhos e de animais com campilobacteriose genital bovina varia de 0% a 30,8% e de 0% a 3,6%, respectivamente. Costa (1976) encontrou 66,9 % de animais reagentes e 90,0% dos rebanhos testados com animais reagentes à muco-aglutinação para campilobacteriose genital bovina dentre 148 animais de 10 rebanhos testados de 8 municípios do Estado da Bahia. Apesar da baixa sensibilidade e baixa especificidade apresentada pela muco-aglutinação para o diagnóstico individual da campilobacteriose genital bovina, esta técnica permite um bom

diagnóstico de rebanhos com a doença (Jepsen, Windekilde, 1951; Hughes, 1953; Kendrick, 1967). Na ausência de qualquer programa regular e intensivo de controle da doença é improvável que a mesma tenha se extinguido no Estado no período entre os estudos.

Na região Sul a campilobacteriose genital bovina já foi observada nos estados do Rio Grande do Sul e do Paraná, onde foram encontrados índices entre 8% (Castro et al., 1971) e 27% de animais infectados (Mies Filho, 1960). Estes dados não diferem muito dos observados no presente estudo.

Na região Sudeste, trabalhos realizados nos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, relatam índices de campilobacteriose genital bovina variando de 8% a 47,9% (Castro et al, 1967 e 1971, Leite, 1977, Ramos e Guida, 1978, Genovez et al 1986, Lage et al, 1997, Jesus et al, 1999, Stynen et al., 2003). A prevalência de touros infectados estimada neste estudo para a região Sudeste concorda com estes estudos anteriores.

Na região Centro-Oeste, a maior produtora bovinos de corte do país, foi observada prevalência de campilobacteriose genital bovina em animais e em rebanhos estimada em 52,3% e 89,5%, respectivamente, na região do Pantanal Sul-Matogrossense (Pellegrin et al., 2002a). A produção bovina na região do Pantanal Sul-Matogrossense se caracteriza por grandes propriedades, com exploração da pecuária bovina de corte embasada no sistema extensivo de produção. Os animais são manejados geralmente apenas duas vezes por ano e é adotado o regime de monta o ano todo, estando os touros permanentemente junto às fêmeas (Cadavid Garcia, 1986). Todas essas condições favorecem a alta prevalência de campilobacteriose genital bovina encontrada na região. Já no presente estudo, as prevalências encontradas para a região Centro - Oeste (amostrando Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), foram inferiores., mas a Região Centro-Oeste apresentou a maior prevalência de animais infectados no presente estudo e a prevalência de rebanho

foi bastante alta (66,7%). Outro dado que chama a atenção é que todos os animais e propriedades testadas do Estado do Mato Grosso foram positivas.

Contrastando-se as prevalências e o perfil dos rebanhos encontrados no estudos de Pellegrin et al. (2002a) e o presente estudo, seja a prevalência para a região Centro-Oeste ou para a amostra global de rebanhos ou animais, percebe-se que nas propriedades do presente estudo, que tem implantadas técnicas que possibilitam o controle ou minimizam os índices da doença (estação de monta, inseminação artificial), possuem menores prevalências, podendo ser sugerido que estas técnicas podem ter sido as responsáveis pelos índices de prevalência inferiores observados no presente estudo.

As prevalências de campilobacteriose genital bovina estimadas neste estudo foram bastante altas mostrando que a doença está disseminada em touros de corte no país e sugerem que metade dos rebanhos de corte do país possuem animais com a doença, o que provavelmente tem afetado diretamente os índices reprodutivos. Em função da redução de fertilidade dos rebanhos com presença de touros infectados pelo *C. fetus* subsp. *venerealis* (Newsan, 1960, Pellegrin, 2001), das prevalências da doença em rebanhos e em animais, principalmente na Região Centro-Oeste por possuir a maior população bovina do país e apresentar níveis muito altos de infecção em sua população, o retorno econômico de um programa de controle de campilobacteriose genital bovina em áreas específicas do país, baseado na segregação de animais, implementação de inseminação artificial e estação de monta e introdução de vacinação anual (Clark, 1971; Stoessel, 1982; Lage, Leite, 2001), poderá trazer retorno significativo para a pecuária nacional.

6. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitem concluir que:

1. A prevalência de rebanhos e de animais com infecção por *C. fetus* em bovinos de corte no Brasil é alta;
2. A campilobacteriose genital bovina encontra-se presente em touros de rebanhos de corte em todas as regiões do Brasil;
3. As prevalências de rebanhos e animais infectados nas Regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Norte foram semelhantes;
4. Diferenças regionais importantes foram evidenciadas na região Nordeste, onde a prevalência de rebanhos e animais com campilobacteriose genital bovina foi significativamente inferior a das demais regiões estudadas;

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. FNP. São Paulo. 2004
- ASTUDILLO, V. M. Formas de organização como determinantes de risco de febre aftosa. *Hora Veterinária*, v.3, p.11-20, 1984.
- ÁVILA, J.D.; VARGAS GARCIA, R.; ROSALES ORTEGA, C. et al. I. Trichomoniasis genital bovina: elaboración de un modelo matemático. *Rev. Med. Vet.*, v.72, p.40-44, 1991.
- BALL, L.; DARGATZ, D.A.; CHENEY, J.M. et al. Control of venereal disease in infected herds. *Vet. Clin. North Am.*, v.3, p.561-574, 1987.
- BAWA, E.K.; ADEKEYE, J.O.; OYEDIPE, E.O.; OMOH, J.U. Prevalence of bovine campylobacteriosis in indigenous cattle of three states in Nigeria. *Trop. Anim. Health Prod.*, v.23, p. 157-160. 1991.
- BENNET, S.; WOODS, T.; LIYANAGE, W.M. et al. A simplified general method for cluster surveys of health in developing countries. *Rapp. Trimest. Statist. Sanit. Mond.* v.44, p.98-106, 1991.
- CADAVID GARCIA, E.A. **Estudo técnico-econômico da pecuária bovina de corte do Pantanal Mato-grossense.** Corumbá, EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, 1986, 150 p. (EMBRAPA/CPAP. Documento, 4).
- CASTRO, A.F.P.; GIORGI, W.; ROSA, C.A.S., et al. Vibriose bovina no Estado de São Paulo. Isolamento de novas amostras de *Vibrio fetus* e pesquisa de aglutininas anti-*Vibrio fetus* no muco vaginal. *Arq. Inst. Biol.*, v. 34, p.30-43, 1967.
- CIPPOLA, A. L.; PALLADINO, M. R.; CAMPERO, C.M. et al. Aislamiento y tipificación de *Campylobacter* en toros enviados a faena. *Vet. Arg.* v. 1, p. 353-359, 1984.
- CIPOLLA, A.L.; CASARO, A.P.; TERZOLO, H.R. et al. Persistence of *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis* in experimentally infected heifers. *Vet. Rec.*, v.134, p.628, 1994.
- CLARK, B. L. Review of bovine vibriosis. *Aust. Vet. J.* v. 47, p. 103-107, 1971.
- CLARK, B. L.; DUFTY, B.V. A method for maintaining the viability of *Vibrio fetus* var. *venerealis* in samples of preputial secretion collected from carrier bulls. *Aust. Vet. J.*, v. 48, p. 462-464, 1972.
- COCHRAN, W.G. **Sampling Techniques.** Toronto: Wiley, 1977.
- CORBEIL, L.B.; BON DURANT, R.H. Immunity to bovine reproductive infections. *Vet. Clin. North Am.*, v.17, p.567-584. 2001.
- COSTA, E.A. Vibriose Bovina no Estado da Bahia, pesquisa de aglutininas anti - *Campylobacter fetus* no muco vaginal. *B. IBB.* v.15, p. 14-18, 1976.

DÁPICE, M. Ocorrência de aborto bovino no Estado de São Paulo. **Biológico.**, v.22, p.15-18, 1956.

DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; COULOMBIER, D. et al. Epi Info, Version 6: A Word-Processing, Database, and Statistics Program for Public Health on IBM-compatible Microcomputers. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 1995.

DEKEYSER, J. Bovine Genital Campylobacteriosis. In: Butzler, J. P. (ed). **Campylobacter infection in man and animal**, Boca Raton: CRC Press, 1984, p. 181-191.

DONALD, A., DONNER, A. The analysis of variance adjustment to chi-square tests when there is litter or herd correlation in surveys or field trials. **Acta Vet. Scand. Suppl.**, v. 84, p. 490 - 492, 1988.

FIGUEIREDO, J.F. **Avaliação da imunofluorescência direta no diagnóstico da Campilobacteriose Genital Bovina**. 2001. 34p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária da UFMG.

FIGUEIREDO, J.F.; PELLEGRIN, A.O.; FÓSCOLO, C.B.; MACHADO, R.P.; MIRANDA, K.L.; LAGE, A.P. Evaluation of direct fluorescent antibody test for the diagnosis of Bovine Genital Campylobacteriosis. **Rev. Latinoam. Microbiol.** v.44, p. 118-123. 2002.

GARCIA, M. M.; BROOKS, B. W. Campylobacter. In: GYLES, R.L.; THOEN, C.D. (Ed) **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 2.ed., Ames: Iowa State University Press, 1993.

GARCIA, M.M.; LUTZE WALLACE, C.L.; DENES, A.S.; EAGLESOME, M.D.; HOLST, E; BLASER, M.J. Protein shift and antigenic variation in the S-layer of *Campylobacter fetus* subsp *venerealis* during bovine infection accompanied by genomic rearrangement of sapA homologs. **J. Bacteriol.**, v.177, p.1976-1980, 1995.

GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.; PICONE, A.B.B. Avaliação de dois métodos de coleta de muco prepucial no diagnóstico da Campilobacteriose Genital no touro. **Biológico**, v. 52, p. 7-11, 1986.

GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.; ROJAS, S. Campilobacteriose genital bovina: proposta de um diagnóstico mais sensível em touros. **Arq. Inst. Biol.**, v. 56, p. 5-7, 1989.

GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.; ROJAS, S. Isolamentos bacterianos de fetos abortados bovinos no examinados no Instituto Biológico de São Paulo, no período de 1985 a 1992, **Bras. J. Vet. Res.**, v.30, p.107-112, 1993.

GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.; ROJAS, S. Campilobacteriose Genital Bovina: Proposta de um diagnóstico mais sensível em touros. **Arqu. Inst. Biol.**, v.56, p.5-7, 1989.

GOODGER, W.J.; SKIRROW, S.Z. Epidemiologic and economic analyses of unusually long epizootic of trichomoniasis in a large California dairy herd. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.189, p.772-776, 1986.

GUIDA, H. G.; LANGENEGER, J. Doenças infecciosas da reprodução reduzem produtividade do rebanho leiteiro. **Gado Holandês**, v. 54, p. 67, 1960.

GUIDA, H. G.; GOMES, W. V.; MEDEIROS, P. M.; PIZELLI, G.N. Vibriose Bovina. **Veterinária**. v. 14, p. 37-61, 1960/61

GRIFFITHS, I.B., GALLEGU, M.I., LEON, L.S. Levels of some reproductive diseases in the dairy cattle of Colombia. **Trop. Anim. Hlth. Prod.**, v. 16, p. 219-223. 1984.

HUGHES, D.E. A study of the diagnosis of bovine vibriosis with special reference to the detection of agglutinins in the vaginal secretions. **Cornell Vet.**, v.43, p. 431-444.1953.

HUM, S. Bovine abortion due to *Campylobacter fetus*. **Aust.Vet.J.**,v.64, p. 319-320, 1987.

HUM, S.; STEPHENS, L. R.; QUINN, C. Diagnosis by ELISA of bovine abortion due to *Campylobacter fetus*. **Aust. Vet. J.**, v. 68, p. 272-275, 1991.

HUM, S.; STEPHENS, L.R.; QUINN, C. Diagnosis of bovine campylobacteriosis by ELISA. **Aust. Vet. J.** v, 71, p. 140-143. 1994.

HUM, S., QUINN, C., BRUNNER, J., ON, S.L. Evaluation of a PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter fetus* subspecies. **Aust. Vet. J.**, v. 75, p. 827-831, 1997.

Pecuária. IBGE 2004. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em 20/01/1999.

JESUS, V.L. T.; TRÉS, J. E.; JACOB, J.C.F.; LATORRE, L.B.L.M; SANTOS Jr, J.C.B. Campilobacteriose genital bovina: ocorrência nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Rev.Bras.Ci.Vet.**, v.6, p.133-136, 1999.

JEPSEN, A.; WINDEKILDE, T. The occurrence and significance of agglutinins in the genital organs of brucella-infected cows. **Am. J. Vet. Res.**, v. 12, p. 97-99.1951.

JORDAN, D. Herdacc: a program for calculating herd level (aggregate) sensitivity and specificity. Guelph: University of Guelph, 1995.

KASARI, T.; GLEASON, D. Herd management practices that influence total beef calf production. Part 1. **Compend.Contin. Educ. Pract. Vet.**, v.18, p. 1358-1366, 1996.

KENDRICK, J.W. The vaginal mucus agglutination test for bovine vibriosis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.150, p.495-498. 1967.

LAGE, A.P.; LEITE, R.C. Campilobacteriose Genital Bovina. **Pecuária de corte**. v.10, p.50-54. 2000.

LAGE, A. P.; PELLEGRIN, A. O.; COSTA, G. M. et al. Campilobacteriose genital bovina: 21 anos de diagnóstico na Escola de Veterinária da UFMG. **Rev. Bras. Repr. Anim.**, v. 21, n. 2, p. 164-166, 1997.

LAGE, A.P. Epidemiologia e Controle da Campilobacteriose Genital Bovina. In: SIMPÓSIO PFIZER SOBRE DOENÇAS INFECCIOSAS E VACINAS PARA BOVINOS. 5, 2001, Campo Grande. Anais... Campo Grande: 2001.

LANDER, K.P. The application of transport and enrichment medium to the diagnosis of *Campylobacter fetus* infections in bulls. **Br. Vet. J.**, v.146, p.334-340, 1990.

LEITE, R.C.; REIS, R.; RIVERA, F.E.B. Controle da vibriose bovina através da vacinação. **Arq. Esc. Vet. UFMG**, v.32, p. 259-264. 1980.

LEITE, R.C; HADDAD, J.P; COSTA, G.M; PELLEGRIN, A.O.; RIBEIRO, A.C.C.L. Técnica modificada para coleta de lavado prepucial de touros, para exame de tricomonose e ou campilobacteriose. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 19, p.434, 1995.

LEITE, RC. **Avaliação de alguns métodos de diagnóstico e análise custo/benefício do controle da campilobacteriose bovina.** 1977. 38 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Escola de Veterinária da UFMG.

McCOOL, C.J.; TOWNSEND, M.P.; WOLFE, S.G. SIMPSON, M.A. OLM, T.C.; JAYAWARDHANA, G.A. CARNEY, J.V. Prevalence of bovine venereal disease in the Victoria River District of the Northern Territory likely economic effects and practicable control measures. **Australian Veterinary Journal**, v.65, n.5, p.153-156, 1988.

McDERMOTT, J.J.; ALLEN, O.B.; MARTIN, S.W.; ALVES, D.M. Patterns of stillbirth and dystocia in Ontario cow-calf herds. **Can. J. Vet. Res.**, v. 56, p. 47 - 55, 1992.

McDERMOTT, J.J.; SCHUKKEN, Y.H. A review of methods used to adjust for cluster effects in explanatory epidemiological studies of animal populations. **Prev. Vet. Med.**, v.18, p.155-173, 1994.

McDERMOTT, J.J.; SCHUKKEN, Y.H.; SHOUKRI, M.M. Study design and analytic methods for data collected from clusters of animals. **Prev. Vet. Med.**, v.18, p. 175 - 191, 1994.

McFADYEAN, F.; STOCKMAN, S. **Report of the Departmental Committee Appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to Inquire into Epizootic Abortion Part I.** p.15. 1909.

McFADYEAN, F.; STOCKMAN, S. Report of the Departmental Committee Appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to Inquire into Epizootic Abortion Part II. p.15. 1913.

MARTIN, S.W.; MEEK, A.L.; WILLBERG, P. **Veterinary Epidemiology: Principles and methods.** Ames: Iowa State University Press. 1987, 343p.

MEDRONHO, D. (ed). **Epidemiologia.** São Paulo: Atheneu, 2003, 493p.

MELLIICK, P. W.; WINTER, A. J. ; McENTEE, K. Diagnosis of vibriosis in the bull by the use of the fluorescent antibody technic. **Cornell Vet.**, v. 55, n. 2, p. 280 - 294. 1963.

MIES FILHO, A. Incidência da vibriose bovina em alguns rebanhos leiteiros no Rio Grande do Sul. **Rev. Fac. Agron. Vet. UFRGS**, v. 3, p.195-199, 1960.

MONITORAMENTO da zona livre de febre aftosa com vacinação: atividade de vigilância sanitária realizada em 2004. Brasília: Departamento de Saúde Animal, 2005. 19 p. (Relatório Técnico)

NEWSAN, I.D.B. Experimental *Vibrio fetus* infection in heifers. Part. I . Infection and conception rates, and diagnosis. **Aust. Vet. J.** v.36, p.426-431, 1960.

NOORDHUIZEN, J.P.T.M.; FRANKENA, K.; HOOFD, C.M. et al. **Application of quantitative methods in veterinary epidemiology.** Wageningen: [s.n.]. 1997. 445 p.

OBIAGA, J.A.; ROSENBERG, F.J.; ASTUDILLO, V.M. et al. Las características de la producción pecuaria como determinantes de los ecosistemas de fiebre aftosa. **Boletín del Centro Panamericano Fiebre Aftosa.** v.33-34, p. 32-42, 1979.

OTTE, M.J.; GUMM, I.D. Intracluster correlation coefficient of 20 infections calculated from the results of cluster-sample surveys. **Prev.Vet.Med.**, v.31, p.147-150, 1997.

PELLEGRIN, A.O. A Campilobacteriose e Tricomonose são doenças reemergentes? **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.23, p.523-531. 1999 (a).

PELLEGRIN, A.O.; LAGE, A.P.; BARBOSA, E.F.B et al. Ensaio imunoenzimático para detecção de imunoglobulinas A em muco cérvico- vaginal de fêmeas bovinas. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA**, 20., 1999, Salvador. Anais... , Salvador: CBM, 1999. p.166.

PELLEGRIN, A.O. **Campilobacteriose Genital Bovina na sub-região da Nhecolândia do Pantanal Sul-Mato-Grossense e Proposição de Novas Técnicas de Diagnóstico.** 2001. 76 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária da UFMG.

PELLEGRIN, A.O., LAGE, A.P., SERENO, J.R.B., RAVAGLIA, E., COSTA, M.S., LEITE, R.C. Bovine Genital Campilobacteriosis in Pantanal, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop.** v.. 55, p. 169-173. 2002.

PUTT, S.N.H.; SHAW, A.P.M.; WOODS, A.J. et al., **Veterinary epidemiology and economics in Africa**. London: University of Reading, 1987, 130p.

RAMOS, A.; GUIDA, H.G. Aglutininas anti-*Campylobacter fetus* em mucos vaginais de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 2, p.715, 1978.

RUCKERBAUER, G.M.; MALKIN, K.; MITCHELL, D. et al. Vibriosis: demonstration of *Vibrio fetus* and *Vibrio bubalus* organisms in preputial fluid by immunofluorescence and culture techniques. **Can. J. Comp. Med.**, v.38, p. 321-327,1974.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998, 221p.

SEBALD, M.; VERON, M. Teneur en bases de ADN classification des Vibrions. **Ann. Inst. Pasteur**. v. 105, p. 897-910. 1963.

SKIRROW, S.; BON DURANT, R. Bovine Trichomoniasis. **Vet. Bull.** V.58, p.591-603,1988.

SMITH, R.D. **Veterinary Clinical Epidemiology**. Boca Raton: CRS Press. 1984, 234p.

SMITH, H.J.; TAYLOR, M.S. Some morfolological and biological characteristics of the spirilla associated with disease of fetal membranes in cattle. **J. Exp. Med.** v. 30. P. 299-312. 1919

SOTO, P.; DI ROCO, M.J. Campylobacteriosis Bovina: Prevalência em diversas zonas de la Republica Argentina. **Rev. Invest. Agrop.** v.19, p. 273-279.1984.

STOESSEL, F. **Las enfermedades venereas de los bovinos: Trichomoniasis y vibriosis genital**. Zaragoza Acribia, 1982. 163 p.

STYNEN, A. P. R. **Detecção de *Campylobacter fetus* em lavados**

prepuçiais de touros pela PCR. 2000. 36 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Escola de Veterinária da UFMG.

STYNEN, A. P. R., PELLEGRIN, A. O., FÓSCOLO, C. B., FIGUEIREDO, J.F., CANELLA FILHO, C., LEITE, R. C., LAGE, A.P. Campilobacteriose genital bovina em rebanhos leiteiros com problemas reprodutivos da microrregião de Varginha – Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 55, p. 766-769, 2003.

THRUSFIELD, M. V. **Veterinary Epidemiology**. Butterworths: Great Britain, 1986, 279p.

VANDAMME, P. Taxonomy of the family Campylobacteraceae In: **NACHAMKING, N.; BLASER, M.J.** (Eds.) *Campylobacter*. 2 ed. Washington: American Society for Microbiology, 2000, p. 3-20.

VARGA, J. Occurrence and significance of different Campylobacter types in domestic animals in Hungary. **Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.**, v.97, p.317-321. 1990.

VILLAR, J. A.; SPINA, E. M. Campylobacteriosis (Vibriosis) Bovina. Una recopilación de datos sobre su incidencia en el período 1966-1981. **Gac. Vet. B. Aires**, v. 44, p. 659-657, 1982.

WAGENAAR, J. A., VAN BERGEN, M. A. P., GHÉRIN, B. In: **MANUAL of Standard diagnostic tests and vaccines: list A and B diseases of mammals, birds and bees**. Paris: OIE, 2000, p. 346-358.

WAYNE, W. D. **Biostatistics: a foundation for analysis in the Health Sciences**, 5 ed. John Wiley & Sons, 1987. 73p.

WINTER, A. J. Microbial immunity in the reproductive tract. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 173, p.1069-1073, 1982.

WINTER, A. J.; SAMUELSON, J.D.; ELKANA, M. A comparison of immunofluorescence and cultural techniques for demonstration of *Vibrio fetus*. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 150, n. 8, p. 498-502, 1967.

WINTER, A.J.; McCOY, E.C.; FULLMER, C.S.; BURDA, K.; BIER, P.J. Microcapsule of *Campylobacter fetus*: chemical and physical characterization. **Infect. Immun.** v.22, p.963-971, 1978.

YASSU, F. Vendas de sêmen batem recordes em 1997. **DBO Rur.**, v.209, p.42-44.1998.

YASSU, F. Mercado de sêmen é dos que têm mais avanço no mundo. **DBO Genética.** v. , p.66-67.

8. ANEXO

Questionário

Identificação do rebanho

Propriedade: _____

Proprietário: _____

Município: _____ Estado: _____

Tamanho da propriedade: _____ ha

ANIMAIS

	Novilhas	Vacas	Touros
Raça			
Idade			
< 3 anos			
3 a 6 anos			
6 a 8 anos			
> 8 anos			
Procedência			
próprio rebanho			
outro rebanho			
qual?			
Critérios de seleção			
sanitários			
quais?			
Percentual descarte			
Idade ao descarte			

ESCRITURAÇÃO ZOOTÉCNICA

Faz escrituração zootécnica?

Como? Caderno _____

Sim _____

Ficha _____

Não _____

Computador _____

Manejo reprodutivo

Monta Natural

Inseminação Artificial

Todo o ano
 Estação de monta
 de a (mês)
 Confirmação de gestação
 Com quantos meses?
 São utilizados tourinhos na monta?
 Individualmente
 junto com touros velhos
 em vacas
 em novilhas
 Média de coberturas por prenhez:
 Vacas
 Novilhas

Todo o ano
 Estação de monta
 de a (mês)
 Confirmação de gestação
 Com quantos meses?
 Qual a origem do sêmen?
 Média de doses por prenhez:
 vacas
 novilhas
 Quantas inseminações antes do uso
 do touro de repasse?

	Novilhas	Vacas
Relação touro/vaca		
Taxa de prenhez		
Idade à primeira cria		////////////////////
O que acontece quando passa > de 1 ano sem parir?		
passa > de 2 anos sem parir?		
Sinais de problemas reprodutivos?		
Aborto		
taxa		
idade de gestação		
Repetição de cio		
taxa		
período médio de retorno ao cio		
Aborto / repetição de cio		
após monta		
após IA		

DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS DA REPRODUÇÃO

	Quando?	Como?	Por quê?
Brucelose			
BVD			
Campilobacteriose			
IBR			
Leptospirose			
Tricomonose			

VACINAÇÕES

	Data da última vacinação	Idade à vacinação	ESQUEMA DE VACINAÇÃO
Aftosa			
Brucelose			
BVD			
Campilobacteriose			
IBR			
Leptospirose			