

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Nayara Resende Nasciutti

Soroprevalência e fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina em vacas leiteiras mestiças não vacinadas e *Neospora caninum* no município de Uberlândia

UBERLÂNDIA-MG
2017

Nayara Resende Nasciutti

Soroprevalência e fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina em vacas leiteiras mestiças não vacinadas e *Neospora caninum* no município de Uberlândia

Tese apresentada ao Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como exigência parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Elsen Saut.

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Vicente Mundim.

UBERLÂNDIA-MG
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

N244s
2017 Nasciutti, Nayara Resende, 1984
Soroprevalência e fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina em vacas leiteiras mestiças não vacinadas e *Neospora caninum* no município de Uberlândia/ Nayara Resende Nasciutti. - 2017.
66 p. : il.

Orientador: João Paulo Elsen Saut.
Coorientador: Antonio Vicente Mundim.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Bovino de leite - Doenças - Teses. 3. Neosporose - Teses. 4. Aborto nos animais - Teses. I. Saut, João Paulo Elsen. II. Mundim, Antonio Vicente, 1950 . III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. IV. Título.

Soroprevalência e fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina em vacas leiteiras mestiças não vacinadas e *Neospora caninum* no município de Uberlândia

Tese aprovada ao Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como exigência parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Veterinárias.

Uberlândia 01 de junho de 2017.

Prof. Dr João Paulo Elsen Saut, UFU

Prof. Dra Aline Diniz Cabral, USP

Profa Dra Priscilla Fajardo Valente Pereira, UEL

Prof. Dr César Augusto Garcia, UFU

Prof. Dr. Fernando Antônio Ferreira, UFU

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

NAYARA RESENDE NASCIUTTI- Nascida em Araguari, Estado de Minas Gerais em 02 de Julho de 1984, filha de Guilherme Nasciutti e Cristina Araújo Resende Nasciutti. Médica veterinária graduada em agosto de 2009 pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU), com mestrado em Ciências Veterinárias- UFU (2011) e especialização em residência-UFU, na área de clínica de grandes animais e patologia animal (2012). Experiência na área de docência no de 2013, como professora substituta das disciplinas de Semiologia Veterinária e Práticas Hospitalares (grandes animais) da Universidade Federal de Uberlândia. E atuação em 2013-2014 na Faculdade Presidente Antônio Carlos - UNIPAC (disciplinas de Clínica Médica de Grandes Animais e Equinocultura) e na Universidade de Uberaba - UNIUBE (Ano de 2014, disciplina de Prática Hospitalar (grandes animais). No Centro Universitário do Triângulo - UNITRI desde 2014, com as disciplinas de Semiologia Veterinária e Clínica Médica de Ruminantes, além de ser orientadora dos estágios curriculares supervisionados I e II, também no Instituto Master de Ensino Presidente Antônio Carlos- IMEPAC Araguari em 2017, com as disciplinas de Semiologia Veterinária e Diagnóstico por Imagem.

A Deus que me permite realizar grandes sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus meu Criador, a Jesus meu amigo e ao Espírito Santo por sempre me iluminar.

A minha mãe, Cristina Araújo Resende que não mediu esforços para me ajudar nos meus estudos e em toda minha vida.

Ao meu pai, Guilherme Nasciutti por todo incentivo.

A minha irmã, Carolina Resende Nasciutti por ser minha melhor amiga em todos os momentos.

Ao meu esposo, Thiago Martins Caetano, por estar ao meu lado e me apoiar com carinho e paciência.

A todos meus familiares que me apoiaram a lutar pelos meus sonhos, em especial aos meus tios Sérgio Araújo Resende, Cláudia Araújo Resende e Humberto Santos Nasciutti.

Ao meus avô, Sebastião Roberto Nasciutti pelo apoio profissional.

A minha avó, Fuensanta Torres Nasciutti (*in memorian*) toda minha gratidão por me ajudar a formar em Medicina Veterinária e por me proporcionar ter momentos inesquecíveis ao seu lado.

A minha avó, Marlene de Fátima Araújo Resende por todo amor e carinho.

Ao meu avô, Márcio Marra de Rezende (*in memorian*), que me mostrou uma convivência maravilhosa de amor e carinho durante a minha infância.

Ao professor João Paulo Elsen Saut minha gratidão pelo incentivo em dedicar a área acadêmica. Muito obrigada por toda paciência na trajetória desde o mestrado e residência.

A professora Anna Monteiro Correa Lima pela amizade.

A professora Dagmar Diniz Cabral pelo incentivo durante a graduação e grande amizade.

A professora Aline Diniz Cabral pelo incentivo.

Ao professor Antonio Vicente Mundim pela colaboração.

Ao professor Fernando Antônio Ferreira, minha admiração e respeito.

Ao professor João Batista Ferreira dos Santos por compartilhar a paixão aos cavalos.

Aos professores Francisco Cláudio Dantas Mota e Cirilo Antonio de Paula Lima que me auxiliaram durante o período de professora substituta da UFU.

A Professora Suzana Akemi Tsuruta por ser um exemplo de atuação com os animais e amizade.

Aos colegas de profissão pelo auxílio na execução do trabalho.

A Secretaria da Agricultura e Abastecimento de Uberlândia.

Aos docentes da Universidade Federal de Uberlândia pelo ensino de excelência.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

A Célia Regina de Oliveira Macedo pelo incentivo.

Ao Felipe Cesar Gonçalves, técnico do Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da UFU, pelo auxílio desde a graduação.

Aos amigos do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

A equipe do Laboratório de Imunoparasitologia “Dr Mário Endsfieldz Camargo”, pertencente ao Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas da UFU.

A equipe do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina.

A todos meus amigos que fazem parte da minha vida.

Aos animais em especial, meu respeito e admiração.

Tudo posso

*Posso, tudo posso Naquele que me fortalece
Nada e ninguém no mundo vai me fazer desistir
Quero, tudo quero, sem medo entregar meus projetos
Deixar-me guiar nos caminhos que Deus desejou pra mim e ali estar*

*Vou perseguir tudo aquilo que Deus já escolheu pra mim
Vou persistir, e mesmo nas marcas daquela dor
Do que ficou, vou me lembrar*

*E realizar o sonho mais lindo que Deus sonhou
Em meu lugar estar na espera de um novo que vai chegar
Vou persistir, continuar a esperar e crer
E mesmo quando a visão se turva e o coração só chora
Mas na alma, há certeza da vitória*

*Posso, tudo posso Naquele que me fortalece
Nada e ninguém no mundo vai me fazer desistir*

*Vou perseguir tudo aquilo que Deus já escolheu pra mim
Vou persistir, e mesmo nas marcas daquela dor
Do que ficou, vou me lembrar*

*E realizar o sonho mais lindo que Deus sonhou
Em meu lugar estar na espera de um novo que vai chegar
Vou persistir, continuar a esperar e crer ...
Eu vou sofrendo, mas seguindo enquanto tantos não entendem*

*Vou cantando minha história, profetizando
Que eu posso, tudo posso... em Jesus!*

Celina Borges

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
CAPÍTULO 1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
1.1 Herpesvírus bovino tipo 1(BoHV-1)	15
1.1.1 <i>Epidemiologia no Brasil e mundo</i>	16
1.1.2 <i>Fatores de risco associados ao BoHV-1</i>	17
1.1.3 <i>Patogenia e sinais clínicos</i>	18
1.1.4 <i>Diagnóstico</i>	18
1.1.5 <i>Prevenção</i>	19
1.2 Vírus da diarreia viral bovina (BVDV)	20
1.2.1 <i>Epidemiologia no Brasil e mundo</i>	20
1.2.2 <i>Fatores de risco associados ao BVDV</i>	21
1.2.3 <i>Patogenia e sinais clínicos</i>	21
1.2.4 <i>Diagnóstico</i>	22
1.2.5 <i>Prevenção</i>	22
1.3 <i>Neospora caninum</i>	22
1.3.1 <i>Etiologia e ciclo de vida</i>	22
1.3.2 <i>Transmissão</i>	23
1.3.3 <i>Epidemiologia no Brasil e mundo</i>	23
1.3.4 <i>Fatores de risco associados ao Neospora caninum</i>	25
1.3.5 <i>Sinais clínicos</i>	26
1.3.6 <i>Diagnóstico sorológico</i>	26
1.3.7 <i>Prevenção</i>	26
1.4 JUSTIFICATIVA	27
REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO 2 Soroprevalência e fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas em Uberlândia, Minas Gerais	
Resumo	34
Abstract	35
Introdução	36
Material e Métodos	37

	Resultados	39
	Discussão.....	42
	Conclusão.....	45
	Referências.....	45
CAPÍTULO 3	Soroprevalência e fatores de risco associados ao <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras mestiças em Uberlândia, Minas Gerais	
	Resumo.....	49
	Abstract.....	50
	Introdução.....	51
	Material e Métodos.....	52
	Resultados	54
	Discussão.....	56
	Conclusão.....	58
	Referências.....	58
ANEXO	Normas da Revista: Semina Ciências Agrárias-UEL.....	62

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2: Tabela 1: Soroprevalência para o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e ambos (BoHV-1 e BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, pela técnica de vírusneutralização.....	39
CAPÍTULO 2: Tabela 2: Distribuição percentual dos possíveis fatores de risco associados a soroprevalência para o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e ambos (BoHV-1 e BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, pela técnica de vírusneutralização.....	41
CAPÍTULO 2: Tabela 3: Fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e ambos (BoHV-1/BVDV) utilizando o modelo de Regressão Logística Binária, em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia-MG, Brasil.....	42
CAPÍTULO 3: Tabela 1: Distribuição percentual dos possíveis fatores de risco associados a soroprevalência para <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras mestiças no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.....	55
CAPÍTULO 3: Tabela 2: Fatores de risco associados a soroprevalência para <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras mestiças no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.....	55

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: Figura 1: Modelo conceitual.....	38
CAPÍTULO 1: Figura 2: Porcentagem de soropositivos para o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e ambos (BoHV-1 e BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

BoHV-1- herpesvírus bovino tipo 1.

BoHV-1.1- herpesvírus bovino tipo 1, subtipo 1.

BoHV-1.2a- herpesvírus bovino tipo 1, subtipo 2a.

BoHV-1.2b- herpesvírus bovino tipo 1, subtipo 2b.

BVD- Diarréia Viral Bovina.

BVDV- vírus da diarréia viral bovina.

ELISA- Ensaio Imunoenzimático.

IA- inseminação artificial.

IBR-Rinotraqueite Infeciosa Bovina.

IBR/IPV-Rinotraqueite Infeciosa Bovina/Vulvovaginite pustular infecciosa bovina.

MN- monta natural.

PI- persistentemente infectado.

RIFI-Reação de Imunoflorescência Indireta.

SN-Soroneutralização.

VN- Virusneutralização.

RESUMO

O herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina e *Neospora caninum* estão frequentemente associados a casos de abortamento em bovinos de leite. A tese foi fracionada em três capítulos, sendo o primeiro referente às considerações gerais dos tópicos abordados nos demais capítulos. O segundo capítulo objetivou verificar os fatores de risco associados à soroprevalência do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e de ambos agentes virais (BoHV-1 e BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas do município de Uberlândia, Minas Gerais, por meio do teste de vírusneutralização. O terceiro capítulo objetivou verificar os fatores de risco associados à soroprevalência do *Neospora caninum* no município de Uberlândia, Minas Gerais em vacas leiteiras mestiças pela técnica de ELISA. No período de janeiro a julho de 2013 foram colhidas 264 amostras de sangue para determinações dos títulos de anticorpos contra o BoHV e BVDV e 740 amostras para o *Neospora caninum*.

Palavras-chave: Abortamento. Bovinos. Neosporose. Vírusneutralização.

ABSTRACT

Bovine herpesvirus 1, bovine viral diarrhea virus and *Neospora caninum* are often associated with cases of abortion in dairy cattle. The thesis was fractionated into three chapters, the first one relating to the general considerations about the topics discussed in the following chapters. The second chapter aimed verify the risk factors associated with seroprevalence of bovine herpesvirus 1 (BoHV-1), virus bovine viral diarrhea (BVDV) and both viral agents (BoHV-1 and BVDV) in unvaccinated crossbred dairy cows from the county of Uberlândia, Minas Gerais, through virus neutralization test. The third chapter aimed to verify the risk factors associated with the seroprevalence of *Neospora caninum* from the county of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil, in crossbred dairy cows using the ELISA technique. From January to July 2013, 264 blood samples were collected for determinations of antibody titers against BoHV and BVDV and 740 samples for *Neospora caninum*.

Keywords: Abortion. Cattle. Neosporosis. Vírusneutralization.

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

A produção brasileira de leite vem crescendo a cada ano, mas grande parte desse crescimento se deve mais ao aumento do número de vacas ordenhadas do que ao aumento da produtividade, sendo que a produção nacional é capaz de fornecer à população brasileira aproximadamente 170 litros de leite/habitante/ano, quantidade inferior aos 210 litros recomendados pelos órgãos de saúde nacionais e internacionais (BRASIL, 2014).

Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (United States Department of Agriculture - USDA) (USDA, 2015), o Brasil foi o sexto maior produtor mundial de leite em 2015, atrás de União Europeia, Estados Unidos, Índia, China e Rússia. No Brasil a produtividade média foi de 1 609 litros/vaca/ano, com um crescimento de 5,5% em relação a 2014 (IBGE, 2015).

Perdas embrionárias e abortamentos causam impacto negativo na produtividade leiteira e os prováveis agentes etiológicos devem ser investigados (SARTOR et al., 2005), dentre os principais causadores desses problemas reprodutivos estão o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e o herpesvírus bovino 1 (BoHV-1) (RUFINO; SENEDA; ALFIERI, 2006) e o *Neospora caninum* (SARTOR et al., 2005).

O BoHV-1 é um vírus responsável por prejuízos econômicos para a pecuária no mundo. Os aspectos clínicos são complexos e a gravidade da infecção e patogênese dependem da virulência e o desenvolvimento da latência é uma característica do vírus (BISWAS et al., 2013).

1.1 Herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1)

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) é classificado na ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus* (ICTV, 2016). A espécie BoHV-1 é conhecida como o vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) (DAVISON et al., 2009). O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) pode ser dividido em 3 subtipos: BoHV-1.1 relacionado a IBR e os subtipos BoHV-1.2a e BoHV-1.2b envolvendo os casos de vulvovaginite pustular infecciosa bovina (VPI) (WHETSTONE et al., 1989) e Balanopostite. O BoHV-1 subtipo BoHV-1.2a também tem sido associado à doença respiratória (SPILKI et al., 2004).

1.1.1 Epidemiologia no Brasil e mundo

A presença do BoHV-1 está disseminada nos rebanhos leiteiros brasileiros (TAKIUCHI; ALFIERI; ALFIERI, 2001) e com alta prevalência demonstrada em pesquisas de vários estados, com índices de 51,9% (3596/6932) (BARBOSA; BRITO; ALFAIA, 2005) e de 83% (656/790) (VIEIRA et al., 2003) no Estado de Goiás e 71,3% (656/920) no estado do Maranhão (BEZERRA et al., 2012).

No Sul do Brasil há descrições no estado do Paraná com soroprevalência de 43,7% (540/1235) em rebanhos de leite e de corte (MÉDICI; ALFIERI; ALFIERI, 2000), 64,41% (190/295) (DIAS et al., 2008) e 71,3% (1481/2078) (DIAS et al., 2013) nos rebanhos bovinos. No estado do Rio Grande do Sul encontraram-se prevalências de 18,8% (1495/7956) (LOVATO et al., 1995) e 92,85% (22/28) (POLETO et al., 2004) em propriedades leiteiras.

Na região Sudeste do Brasil encontrou-se no Espírito Santo a frequência de 66,75% (775/1161) (SANTOS et al., 2014). Nos estados de São Paulo e Minas Gerais também há presença do BoHV-1 difundido nas propriedades de diferentes tipos de exploração (ALEXANDRINO et al., 2011). No estado de Minas Gerais, no período de 1990 a 1999, houve uma detecção de anticorpos contra BoHV-1 com prevalência de 58,17% (3206/5511) (ROCHA et al., 2001). Em vacas leiteiras com histórico de problemas reprodutivos na região do Triângulo Mineiro, foram descritas soroprevalências de 86% (150/174) e 39% (22/56) em dois rebanhos estudados (MINEO et al., 2006).

A presença de anticorpos contra o BoHV-1 em rebanhos leiteiros também foi descrito em outros países, com soroprevalências encontradas na América do Sul, na Colômbia, 17,65% (42/238) (QUEVEDO et al., 2011) e 31,1% (246/791) (VÁSQUEZ et al., 2016). Na América Central, em rebanhos não vacinados verificados na Costa Rica, de 48% (238/496) (RAIZMAN et al., 2011). Na América do Norte foram recentemente descritas altas prevalências no México de 64,5% (624/968) (ROMERO-SALAS et al., 2013) e 64,4% (250/385) (SEGURA-CORREA et al., 2016).

Em países de outros continentes, soroprevalências para o BoHV-1 na Europa, ocorridos na Inglaterra, 42,5% (WOODBINE et al., 2009), na Espanha em 79,1% (462/584) (EIRAS et al., 2009) e 77,3% em propriedades da Irlanda do Norte (COWLEY et al., 2014). Na Ásia, foram encontradas prevalências de 60,84% (362/595) na Índia (TRANGADIA et al., 2010), no Irã de 58,74% (289/492) (BAHARI et al., 2013) e na Arábia Saudita de 17,4% (80/460) para o BoHV-1 (MAHMOUD; ALLAM, 2013).

1.1.2 Fatores de risco associados ao BoHV-1

Em propriedades na Inglaterra encontraram maior soropositividade associada ao BoHV-1 em compras de gado de leite acima de 2 anos e com o tamanho do rebanho, relacionado possivelmente ao fato de que os rebanhos maiores possuem maior contato de transmissão (WOODBINE et al., 2009).

Fatores como a aquisição de animais sem triagem apropriada e ausência de quarentena na propriedade foram associados a soroprevalência do BoHV-1 em propriedades leiteiras na Índia (TRANGADIA et al., 2010).

Na Colômbia fatores como a utilização de monta natural na propriedade em relação a utilização de inseminação artificial foi um fator de risco (QUEVEDO et al., 2011).

No México, fatores de risco associados à infecção pelo BoHV-1 foram encontrados em bovinos de dupla aptidão em relação ao gado de corte, bovinos de 6 anos de idade e em animais de diferentes fases reprodutivas (gestantes e paridas) em comparação aos animais na puberdade. Nos animais de dupla aptidão do país, a inseminação artificial de vacas é raramente utilizada e conseqüentemente, a monta natural poderia estar contribuindo para a disseminação da doença (ROMERO-SALAS et al., 2013).

Foram descritos no Brasil, no estado do Goiás, fatores como a idade dos animais associada a soropositividade do BoHV-1, pois animais mais velhos têm mais oportunidades de exposição ao agente, em especial quando estes entram na fase reprodutiva (BARBOSA; BRITO; ALFAIA, 2005). Em fêmeas bovinas leiteiras, no estado do Maranhão, criadas em regime semi-intensivo, a ausência de assistência veterinária apresentou risco de 7,714 para a ocorrência da infecção (SOUSA et al., 2013).

Comparando rebanhos de corte e de leite no estado do Paraná, foi observado que os animais soropositivos ao BoHV-1 foi superior nos bovinos de aptidão de corte em relação aos de aptidão leiteira. Segundo os autores, as práticas de manejo intensivo dos bovinos de aptidão leiteira, possibilitam uma maior facilidade de transmissão de várias enfermidades infecciosas, em relação aos bovinos criados extensivamente (MÉDICI; ALFIERI; ALFIERI, 2000).

Em rebanhos bovinos da região oeste do Paraná foram encontrados fatores de risco para a infecção pelo BoHV-1 em propriedades com número ≥ 13 de fêmeas com idade ≥ 24 meses em relação a propriedades com rebanhos menores, compra de reprodutores decorrente das propriedades abertas apresentarem maior risco, uso de pastagens comuns, histórico de

abortamento nos últimos 12 meses e presença de animais silvestres, por serem reservatórios (DIAS et al., 2008).

E fatores de risco descritos também no Paraná como a presença de piquete parição e histórico de abortamento foram descritos recentemente (DIAS et al., 2013). Apesar da presença de piquete parição ser utilizada como boa prática de manejo que facilita a assistência ao parto e o manejo do bezerro, segundo os autores, seria uma maior chance quando esta prática é realizada de forma inadequada, pois facilita a transmissão de microorganismos.

1.1.3 Patogenia e sinais clínicos

A porta de entrada natural do BoHV-1 é a mucosa do trato genital e vias respiratórias superiores. O contato através da mucosa nasal é o modo preferencial de transmissão do BoHV-1 (MUYLKENS et al., 2007) e a infecção latente do BoHV-1 e consequente soropositividade representa a presença de um animal portador e potencial disseminador do vírus no rebanho por toda a vida (BARBOSA; BRITO; ALFAIA, 2005).

O período de incubação varia de 10 a 20 dias em condições naturais, sendo que os sinais clínicos relacionados ao BoHV-1 envolvem os sistemas respiratório e genital. Na forma respiratória, a IBR ocorre como uma doença subclínica, leve ou grave e na forma genital o sêmen contaminado com BHV-1 pode causar VPI, cervicite com secreção mucopurulenta, endometrite em vacas e epididimite em touros, além do BoHV-1 estar associado à má qualidade do sêmen (NANDI et al., 2009), sendo geralmente contaminado durante a ejaculação, por contato com o vírus presente na mucosa prepucial (TAKIUCHI; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

A forma respiratória apresenta sinais clínicos como traqueíte, rinite e febre (KAHRS, 1977), sendo que os quadros clínicos do sistema respiratório associados à infecção pelo BoHV-1, devem ser diferenciados de quadros ocasionados por outros patógenos que estão agrupados no Complexo Respiratório Bovino, como o vírus respiratório sincicial bovino (BRSV), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus parainfluenza tipo 3 (PI-3) (MAHMOUD; ALLAM, 2013).

1.1.4 Diagnóstico

Os sinais clínicos não permitem a elaboração de um diagnóstico clínico conclusivo da infecção ocasionada pelo BoHV-1, mesmo nos casos de vulvovaginite, onde as lesões são

características, o diagnóstico é apenas presuntivo e o histórico sanitário do rebanho, relacionado com as taxas de produtividade, programas de vacinação e manejo alimentar, pode ter fundamental importância na elaboração do diagnóstico conclusivo da infecção pelo BoHV-1 realizado por técnicas laboratoriais (TAKIUCHI; ALFIERI; ALFIERI, 2001), sendo a detecção de anticorpos contra o BoHV-1 padrão pela técnica de vírusneutralização (VN).

Os animais infectados pelo BoHV-1, portadores permanentes do vírus, podem ser identificados por testes sorológicos através da detecção de anticorpos específicos (VIDOR et al., 1995) e as técnicas mais utilizadas incluem a VN e os ensaios imunoenzimáticos (ELISA), que podem ser inviabilizadas como recurso diagnóstico em rebanhos que adotam a vacinação profilática, pois os animais apresentam conversão sorológica e estas metodologias são incapazes de diferenciar os títulos provenientes da exposição ao vírus vacinal, daqueles oriundos da exposição natural ao vírus de campo (TAKIUCHI; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

A soropositividade está diretamente ligada a idade dos animais, pois a dosagem de anticorpos anti BoHV-1 em bezerros com idade ≤ 6 meses, provavelmente correspondem à imunidade materna vinda do colostro. E os anticorpos diminuem com um ano de idade e começam a aumentar aos dois anos de idade por causa da infecção ativa (WOODBINE et al., 2009).

1.1.5 Prevenção

Importante como medida preventiva a detecção de animais portadores do vírus em latência, mas a identificação não é possível de ser realizada por meio de métodos sorológicos tradicionais uma vez que os animais podem apresentar baixo título de anticorpos para o BoHV-1 (TAKIUCHI; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Avaliou-se a eficácia de manejo sanitário para erradicação do BoHV-1 em rebanho leiteiro criado extensivamente por meio da hiperimunização, sendo que os bezerros filhos de mães sororeagentes tornaram-se não reagentes após o desaparecimento da imunidade colostrar. O combate do BoHV-1 utilizando o monitoramento de indivíduos não reagentes, hiperimunização e descarte progressivo dos sororeagentes, associado a outras medidas profiláticas, como utilização de sêmen livre de vírus e controle de trânsito de animais, racionalizou o descarte gradual dos animais infectados até obter-se a erradicação (DEL FAVA et al., 2003).

Existem diferentes tipos de vacinas contra infecções em bovinos por BoHV-1, como as vacinas de vírus vivos (MLV), vacinas inativadas, vacinas com subunidades e vacinas

marcadoras. As vacinas MLV de origem de origem de tecido bovino podem causar abortamento e não podem ser usadas em fêmeas bovinas gestantes não imunes, mas conferem imunidade melhor que as vacinas inativas (NANDI et al., 2009).

1.2 Vírus da diarreia viral bovina (BVDV)

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) pertence a ordem *Unassigned*, família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*, BVDV-tipo1 e tipo 2 (ICTV, 2016). De acordo com a característica biológica de produzir ou não efeito citopatogênico em cultivo celular, os isolados de campo do BVDV podem ser classificados em biotipo citopático (CP) e biotipo não-citopático (NCP) (DEZEN et al., 2013).

1.2.1 Epidemiologia no Brasil e mundo

No Brasil tem-se a presença de anticorpos contra o BVDV em várias regiões (FLORES et al., 2005). Verifica-se uma importante dispersão destes vírus no país, com prevalências de 57,18% a 61,5% para o BVDV (CHAVES et al., 2010; SAMARA; DIAS; MOREIRA, 2004). No Rio Grande do Sul, soroprevalência de 66,32% (1150/1734) nos bovinos (QUINCOZES et al., 2007).

Na região Sudeste em rebanhos leiteiros pertencentes aos estados de Minas Gerais e São Paulo, soroprevalência de 57,18% (215/376) (DIAS; SAMARA, 2003). Em vacas leiteiras com histórico de problemas reprodutivos na região do Triângulo Mineiro, foram relatadas soroprevalências de 62% (108/174) e 49% (34/69) em dois rebanhos estudados (MINEO et al., 2006).

Tem-se a presença de anticorpos contra o BVDV descrita recentemente na bovinocultura de vários países, na Ásia, foram encontradas prevalências na Turquia em 58,2% (81/139) (GÜR, 2011) e em 26% (120/460) na Arábia Saudita (MAHMOUD; ALLAM, 2013). Na Europa, na Irlanda do Norte em 98,4% das propriedades (COWLEY et al., 2014). Soroprevalências na América do Norte, no México em 47,8% (SEGURA-CORREA et al., 2016) e na América do Sul em rebanhos leiteiros na Colômbia de 32,77% (QUEVEDO et al., 2011) e em 75,7% (VÁSQUEZ et al., 2016).

1.2.2 Fatores de risco associados ao BVDV

Fatores de risco associados à soroprevalência do BVDV foram descritos recentemente na China, relacionado ao tamanho do rebanho ser menor (50-100), médio (100-150) ou maior (>150) e o tipo de manejo (intensivo, semi-intensivo, extensivo). Rebanhos maiores, acima de 150 bovinos apresentaram mais risco quando comparado a rebanhos menores. Além disso, as fazendas com sistema de manejo extensivo foram mais do que duas vezes mais suscetíveis de adquirir a infecção em comparação com as fazendas com sistema de manejo intensivo (SUN et al., 2015).

Em vacas de leite na Colômbia, abortamento e aquisição de novos animais foram fatores de risco associados ao BVDV (QUEVEDO et al., 2011). No Vietnã em vacas de leite importadas e mestiças encontrou-se o risco em ter animais PI (DUONG et al., 2008).

Foram descritos no Brasil, no Rio Grande do Sul, fatores como utilização de piquetes separados para fêmeas nas fases de parto e/ou pós-parto e aglomeração de animais (QUINCOZES et al., 2007).

No estado do Maranhão, fêmeas bovinas leiteiras em sistema de produção semi-intensivo, tiveram fatores como os animais com produção de leite de 1 a 5 litros/dia/vaca apresentaram associação a infecção pelo BVDV, com 2,850 de risco (SOUSA et al., 2013).

Nos estados de Minas Gerais e São Paulo, associou-se que em qualquer tipo de rebanho e independentemente de raça, manejo e produção poderiam encontrar a infecção pelo BVDV (SAMARA; DIAS; MOREIRA, 2004).

1.2.3 Patogenia e sinais clínicos

As infecções por BVDV podem resultar em uma ampla gama de manifestações clínicas que vão desde infecções subclínicas até uma forma grave e altamente fatal, referida como doença das mucosas (BAKER, 1995), além de problemas respiratórios, digestórios, síndrome hemorrágica, imunodepressão e perdas reprodutivas como natimortalidade, malformação fetal, nascimento de bezerros fracos, persistentemente infectados (PI) e imunotolerantes ao vírus (DIAS; SAMARA, 2003; SOUSA et al., 2013).

A infecção fetal por um biotipo não-citopático (NCP) entre 40 e 120 dias de gestação resulta no nascimento de um animal persistentemente infectado (PI) (BAKER, 1995).

1.2.4 Diagnóstico

Em rebanhos não vacinados contra o BVDV os métodos de diagnósticos sorológicos tradicionais apenas indicam a presença da infecção e não são utilizados para o estabelecimento do diagnóstico conclusivo. A soroconversão pós-vacinal em animais imunizados, não permite diferenciar os resultados sorológicos positivos ocasionados pela infecção natural, daqueles resultantes da vacinação (PILZ; ALFIERI; ALFIERI, 2005).

A detecção de anticorpos contra o BVDV pela técnica padrão é a de vírusneutralização (VN), em que os resultados sorológicos demonstram que a prática de rastreamento de animais persistentemente infectados (PI) em rebanhos apenas por meio de exames sorológicos pode falhar na identificação do PI (DEZEN et al., 2013).

1.2.5 Prevenção

O manejo está relacionado ao controle da propagação do vírus BVDV (SUN et al., 2015), principalmente no controle dos animais persistentemente infectados (PI) que eliminam grande quantidade do vírus, servindo como fonte de infecção (DEL FAVA et al., 2003).

Considerando a diversidade de cepas de BVDV circulantes nos rebanhos bovinos brasileiros são necessários, no campo da vacinologia, estudos que incluam a análise comparativa da proteção contra viremia e, conseqüentemente, proteção fetal em animais vacinados com imunógenos constituídos por cepas padrão do BVDV em relação aos vacinados com cepas autóctones (DEZEN et al., 2013).

1.3 *Neospora caninum*

1.3.1 Etiologia e ciclo de vida

Neospora caninum é um protozoário de muitos hospedeiros, com estrutura e ciclo de vida similar ao *Toxoplasma gondii*, mas com duas diferenças importantes: a neosporose é principalmente uma doença de bovinos e cães e os canídeos são os hospedeiros definitivos do *N. caninum*, enquanto que a toxoplasmose é principalmente uma doença de humanos, ovinos e caprinos, e os felídeos são os únicos hospedeiros definitivos do *T. gondii* (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

O ciclo de vida do *N. caninum* é tipificado pelos três estágios contagiosos: taquizoítos, cistos teciduais e oocistos (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). Os taquizoítos e os cistos teciduais são os estágios encontrados nos hospedeiros intermediários, que ocorrem intracelularmente (DUBEY et al., 2002). O estágio resistente do parasita, os oocistos, são excretados nas fezes de cães e coiotes em um estágio não esporulado (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999; MCALLISTER et al., 1998). O oocisto quando esporulado contém dois esporocistos e cada esporocisto possui quatro esporozoítos (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999).

Os oocistos são a chave na epidemiologia da neosporose, mas pouco se sabe da biologia dos oocistos de *N. caninum* e os cães eliminam os oocistos 5 dias ou mais após a ingestão de tecidos de animais experimentalmente ou naturalmente infectados (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999).

1.3.2 Transmissão

Todos os três estágios do *N. caninum* (taquizoítos, bradizoítos e oocistos) estão envolvidos na transmissão do parasita. Os carnívoros provavelmente são infectados pela ingestão de tecidos contendo bradizoítos e os herbívoros provavelmente são infectados pela ingestão de alimentos ou água contaminados por oocistos esporulados de *N. caninum*. A infecção transplacentária pode ocorrer quando os taquizoítos são transmitidos da mãe infectada para o feto durante a gestação (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

O *N. caninum* é transmitido no gado por rotas horizontal e vertical, desempenhando um papel vital na infecção para a sobrevivência do parasita. A transmissão horizontal ocorre quando há ingestão de oocistos esporulados de *N. caninum* e a transmissão vertical é responsável pela disseminação da infecção para o feto PI durante a gestação (DUBEY; BUXTON; WOUDA, 2006). Ambas as transmissões vertical e horizontal são importantes rotas de transmissão para o *N. caninum* (CORBELLINI et al., 2006).

1.3.3 Epidemiologia no Brasil e mundo

Foram detectados anticorpos contra *N. caninum* em soros de bovinos leiteiros pertencentes a rebanhos localizados em vários estados brasileiros, prevalência de 21,7% (5/23) no Mato Grosso do Sul, 34,4% (43/126) em Minas Gerais, 21,3% (16/75) no Paraná,

22,7% (17/75) no Rio de Janeiro, 18,6% (13/70) no Rio Grande do Sul e 27,3% (41/150) no estado de São Paulo (RAGOZO et al., 2003).

Na região Nordeste, foi encontrada prevalência no Maranhão de 50,4% (412/812) (TEIXEIRA et al., 2010) e em Alagoas, 7,67% (77/1004) em bovinos de leite (SOUSA et al., 2012).

Na região Centro-Oeste, em bovinos leiteiros no estado de Mato Grosso, foi encontrado em 53,5% (499/932) (BENETTI et al., 2009). Em microrregiões no estado de Goiás, 30,4% (283/647) de soroprevalência em rebanhos de leite, corte e dupla aptidão (MELO et al., 2006).

Na região Sudeste, no estado de Minas Gerais, em rebanhos produtores de leite A/B, tiveram soropositividade variando de zero a 72,73% e, uma variação de 3,70 a 25% para produtores de leite tipo C (MELO et al., 2001). No Sul de Minas, 91,2% (510/559) de vacas reagentes para anticorpos anti- *N. caninum* nas propriedades (GUEDES et al., 2008). Na microrregião de Lavras, Minas Gerais, identificou-se uma soropositividade em fêmeas bovinas com menos de 24 meses de idade de 43,66% (93/213) e 47,97% (154/321) presentes em dois rebanhos leiteiros (SANTOS et al., 2009).

No estado de São Paulo em soros de bovinos leiteiros, prevalência de 35,54% (145/408) através do método de ELISA (SARTOR et al., 2005). Em vacas abatidas em frigorífico pertencentes a rebanhos dos estados de São Paulo e de Minas Gerais, soroprevalência de 16,83% (101/600) (COSTA et al., 2001).

A presença de anticorpos contra *N. caninum* em rebanhos leiteiros no Rio Grande do Sul também foram descritos, com soroprevalência de 17,8% (276/1549) (CORBELLINI et al., 2006).

A soroprevalência de *Neospora caninum* está descrita em vários países, em rebanhos leiteiros na América do Norte, nos Estados Unidos, 10,34% (9/87) a 32,11% (105/327) (ORTEGA; TORRES; MENA, 2007) e no México em rebanhos de leite, corte e misto, 26,0% (224/863) (ROMERO-SALAS et al., 2010).

Na América do Sul, na Venezuela, 11,3% (52/459) em bovinos de dupla aptidão (LISTA-ALVES et al., 2006) e no Paraguai, 29,8% (262/879) em bovinos de leite e de corte (OSAWA et al., 2002). Na Europa, na Hungria, em bovinos de leite e corte, prevalência de 2,5% (27/1063) (HORNOK; EDELHOFER; HAJTÓS, 2006).

No continente asiático, soroprevalências em vacas de leite na Tailândia 5,49% (30/549) (KYAW et al., 2004), no Japão, em 7% (139/2420) (KOIWA et al., 2006), no Vietnã, 19% (25/130) (DUONG et al., 2008), na Jordânia, em 35,2% (236/671) (TALAFHA;

AL-MAJALI, 2013) e na China em bovinos de leite e de corte, 17,14% (769/4487) (SUN et al., 2015). E na África, descrições em fazendas de leite na Argélia 19,64% (157/799) (GHALMI et al., 2012) e no Marrocos, 8,52% (15/176) (LUCCHESI et al., 2016) em vacas de leite.

1.3.4 Fatores de risco associados ao *Neospora caninum*

A presença de cães na fazenda (hospedeiro definitivo para o *N. caninum*) é um fator de risco (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999).

Fatores de risco como qualidade da água foram descritas na China em bovinos como uma possível fonte de infecção, pois a água corrente poderia ter oocistos de *N. caninum* provenientes de fezes de cães infectados. O acesso à água para beber e ao mesmo tempo a defecação dentro ou perto da região de fonte de água e um possível consumo de água contaminada pelos animais (SUN et al., 2015).

Na Argélia em bovinos de leite, a soroprevalência foi associada à presença de cães na propriedade, histórico de abortamento e condições sanitárias ruins que aumentaram o risco. A presença de cães foi relacionada à probabilidade de ingestão de oocistos pelos animais (GHALMI et al., 2012).

Em rebanhos de leite, corte e dupla aptidão no México, a soroprevalência em relação a idade dos animais, constatou uma alta prevalência em fêmeas acima de 5 anos e mais baixa em fêmeas abaixo de um ano de idade, sugerindo que a transmissão horizontal está presente juntamente com a transmissão transplacentária. Além disso, prevalências altas em fêmeas com histórico de abortamento, confirmam o papel importante do *N. caninum* em perdas gestacionais no rebanho (ROMERO-SALAS et al., 2010).

Em rebanhos leiteiros em um estudo na Tailândia houve associação entre o tamanho do rebanho e a soropositividade associada ao *N. caninum*, com risco duas vezes maior nos rebanhos maiores do que em propriedades pequenas (KYAW et al., 2004).

No Brasil, em vários estados houve descrição de fatores de risco associados a soroprevalência de *N. caninum* e a ocorrência da neosporose pode variar com o tipo de exploração, manejo dos rebanhos e a presença de hospedeiros definitivos (SARTOR et al., 2005).

Foram descritos problemas reprodutivos como repetição de cio, abortamento e anestro associados a soroprevalência de *Neospora caninum* no sudeste do Brasil em gado leiteiro (BRUHN et al., 2013)

No Sul de Minas Gerais, fatores como o tamanho da propriedade (ha), em que propriedades com menos de 100 ha tiveram 3,25 mais chance de apresentar vacas com uma média de soropositividade acima de 95% se comparado com vacas de fazendas com mais de 100 ha (GUEDES et al., 2008), pois segundo os autores as propriedades menores possuem maior densidade de animais, o que favorece a transmissão horizontal dentro do rebanho.

Animais de propriedades onde os fetos abortados não são adequadamente enterrados têm risco 3,04 vezes maior de infecção do que animais de propriedades onde é feito o destino adequado dos mesmos (SOUSA et al., 2012).

1.3.5 Sinais clínicos

A principal manifestação clínica de bovinos infectados com *N. caninum* é o abortamento (HUSSIEN et al., 2012), podendo apresentar-se de forma esporádica, endêmica ou epidêmica, geralmente entre o 3º e o 9º mês de gestação, sendo mais frequente em torno do 5º e 6º mês (MELO et al., 2006). Em um estudo com infecção experimental de *N. caninum*, as vacas infectadas após 110 de gestação podem ter a morte dos fetos e os resultados sugerem que a gravidade das lesões placentárias e a resposta imune ao controlar a alta parasitemia, poderia, de fato, ser a causa da morte fetal (ALMERÍA et al., 2010). Através da transmissão vertical os bezerros podem estar clinicamente normais, porém persistentemente infectados (SARTOR et al., 2005).

1.3.6 Diagnóstico sorológico

O método mais utilizado em estudos epidemiológicos é a RIFI. A ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliados pelos métodos ELISA e RIFI em um estudo, mostrou o teste ELISA com maior sensibilidade na detecção de anticorpos em abortamentos (SARTOR et al., 2003).

1.3.7 Prevenção

O controle da presença de cães sem procedência em torno de fazendas é importante para a prevenção da neosporose (SUN et al., 2015). Evitar o contato entre bovinos e cães na fazenda, permitirá bloquear o ciclo natural biológico do parasita. Além da importância da

eliminação de fetos e placentas abortados para evitar a contaminação dos cães (GHALMI et al., 2012).

1.4 JUSTIFICATIVA

Na região do Triângulo Mineiro há um levantamento realizado no ano de 2006 (MINEO et al., 2006), onde se relata a prevalência de anticorpos anti BVDV e BoHV-1, em 2 propriedades de vacas leiteiras com histórico de problemas reprodutivos, além da prevalência de anticorpos anti *Neospora caninum*. Neste contexto, buscou-se atualizar a prevalência destes agentes virais e do *Neospora caninum*, considerando o município de Uberlândia, Minas Geras, Brasil, localizado na região do Triângulo Mineiro. Foi feita a distribuição dos distritos pertencentes ao município de Uberlândia para uma maior amostragem na região. Além disso, estes agentes foram associados a possíveis fatores de risco. Sabe-se a importância dos vírus BoHV-1 e BVDV e do *Neospora caninum* envolvidos nos problemas reprodutivos dos animais, além das perdas econômicas na bovinocultura.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRINO, B. et al. Herpesvirus bovino associado à diarreia viral bovina e à leucose enzoótica bovina. **Ars Veterinaria**, v. 27, n. 3, p. 168–174, 2011.
- ALMERÍA, S. et al. Fetal death in cows experimentally infected with *Neospora caninum* at 110 days of gestation. **Veterinary Parasitology**, v. 169, p. 304–311, 2010.
- BAHARI, A. et al. Serological study of bovine herpes virus type 1 in dairy herds of Hamedan province, Iran. **Veterinary Research**, v. 4, n. 2, p. 111–114, 2013.
- BAKER, J. . The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infections. **The Veterinary Clinics of North America. Food animal practice**, v. 11, n. 3, p. 425–445, 1995.
- BARBOSA, A. C. V. DA. .; BRITO, DE W. M. E. .; ALFAIA, B. . Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no Estado de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1368–1373, 2005.
- BENETTI, A. H. et al. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, p. 29–33, 2009.
- BEZERRA, D. . et al. Prevalência e fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 158–162, 2012.

BISWAS, S. et al. Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) – a re-emerging concern in livestock : a revisit to its biology , epidemiology , diagnosis , and prophylaxis. **Veterinary Quarterly**, v. 33, n. 2, p. 68–81, 2013.

BRASIL. Plano mais pecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano mais pecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Disponível em:** < www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/Publicacao_v2.pdf >. **Acesso em:** 11/01/15., 2014.

BRUHN, F. R. P. et al. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in southeastern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, p. 1093–1098, 2013.

CHAVES, N. P. et al. Frequência de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região amazônica maranhense , Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1448–1451, 2010.

CORBELLINI, L. G. et al. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 74, p. 130–141, 2006.

COSTA, G. H. . . et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 61–66, 2001.

COWLEY, D. J. B. et al. Aspects of bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus herd-level seroprevalence and vaccination in dairy and beef herds in Northern Ireland. **Irish Veterinary Journal**, v. 67, n. 18, p. 1–5, 2014.

DAVISON, A. J. et al. The Order Herpesvirales. **Archives of Virology**, v. 154, n. 1, p. 171–177, 2009.

DEL FAVA, C et al. Modelo de manejo sanitário para erradicação do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em rebanho bovino leiteiro. **Boletim de Indústria Animal**, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 163–171, 2003.

DEZEN, S. et al. Perfil da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em um rebanho bovino leiteiro de alta produção e com programa de vacinação contra o BVDV. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 141–147, 2013.

DIAS, F. C.; SAMARA, S. I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina no soro sanguíneo , no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 161–168, 2003.

DIAS, J. A. et al. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná 1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 161–168, 2008.

DIAS, J. A. et al. Seroprevalence and Risk Factors of Bovine Herpesvirus 1 Infection in

Cattle Herds in the State of Paraná, Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 60, p. 39–47, 2013.

DUBEY, J. P. et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 929–946, 2002.

DUBEY, J. P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of Bovine Neosporosis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 134, p. 267–289, 2006.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323–367, 2007.

DUONG, M. C. et al. Prevalence of *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in Southern Vietnam. **The Veterinary Journal**, v. 175, p. 390–394, 2008.

EIRAS, C. et al. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 in cattle in Galicia (NW Spain). **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 7, n. 4, p. 800–806, 2009.

FLORES, E. F. et al. A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil-histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 125–134, 2005.

GHALMI, F. et al. Study of the risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in Algerian cattle populations. **Research in Veterinary Science**, v. 93, p. 655–661, 2012.

GUEDES, M. H. P. et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do Sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 189–194, 2008.

GUIMARÃES, P. L. et al. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina em bovinos do entorno de Goiânia , em regime de criação semi-extensivo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 137-142, 2000.

GÜR, S. Prevalence of bovine viral diarrhoea , bovine herpesvirus type 1 and 4 infections in repeat breeding cows in Western Turkey. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 3, p. 228–233, 2011.

HORNOK, S.; EDELHOFER, R.; HAJTÓS, I. Seroprevalence of neosporosis in beef and dairy cattle breeds in northeast Hungary. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 54, n. 4, p. 485–491, 2006.

HUSSIEN, M. O. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in Sudan. **Veterinary World**, v. 5, n. 8, p. 465–468, 2012.

IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal. **Disponível em:** < http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf >. Acesso em: 19/04/17., 2015.

ICTV. Virus Taxonomy. **International Committee on Taxonomy of Viruses**, 2016.

KAHRS, R. F. Infectious bovine rhinotracheitis: a review and update. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 171, n. 10, p. 1055–1064, 1977.

KOIWAI, M. et al. Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 175–179, 2006.

KYAW, T. et al. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle in central Thailand. **Veterinary Parasitology**, v. 121, p. 255–263, 2004.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 327–333, 1999.

LISTA-ALVES, D. et al. Serological evidence of *Neospora caninum* in dual-purpose cattle herds in Venezuela. **Veterinary Parasitology**, v. 136, p. 347–349, 2006.

LOVATO, L. T. et al. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB 1): inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 25, n. 3, p. 425–430, 1995.

LUCCHESI, L. et al. Seroprevalence study of the main causes of abortion in dairy cattle in Morocco. **Veterinaria Italiana**, v. 52, p. 13–19, 2016.

MAHMOUD, M. A.; ALLAM, A. M. Seroprevalence of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Bovine Herpes Virus Type 1 (BHV-1), Parainfluenza Type 3 Virus (PI-3V) and Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) among non Vaccinated Cattle. **Global Veterinaria**, v. 10, n. 3, p. 348–353, 2013.

MCALLISTER, M. M. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1473–1478, 1998.

MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. . Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 347–350, 2000.

MELO, D. P. G. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 105–109, 2006.

MINEO, T. W. P. et al. Distribution of antibodies against *Neospora caninum*, BVDV and BHV-1 among cows in brazilian dairy herds with reproductive disorders. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 4, p. 188–192, 2006.

MUYLKENS, B. et al. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**, v. 38, p. 181–209, 2007.

NANDI, S. et al. Bovine herpes virus infections in cattle. **Animal Health Research Reviews**, v. 10, n. 1, p. 85–98, 2009.

ORTEGA, Y. R.; TORRES, M. P.; MENA, K. D. Presence of *Neospora caninum* specific

antibodies in three dairy farms in Georgia and two in Texas. **Veterinary Parasitology**, v. 144, p. 353–355, 2007.

OSAWA, T. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. **Veterinary Parasitology**, v. 110, p. 17–23, 2002.

PILZ, D.; ALFIERI, A. .; ALFIERI, A. . Comparação de diferentes protocolos para a detecção do vírus da diarreia viral bovina por RT-PCR em grupos de sangue total e de soro sangüíneo , artificialmente contaminados. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 219–228, 2005.

POLETO, R. et al. Prevalência de tuberculose , brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo , RS. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 595–598, 2004.

QUEVEDO, D. C et al. Seroprevalence and risk factors associated to BHV-1 and DVBV in dairy herds in Pasto , Colombia , in 2011. **Revista Lasallista de investigación**, v. 8, n. 2, p. 61–68, 2011.

QUINCOZES, C. G. et al. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 2, p. 269–276, 2007.

RAGOZO, A. M. A. et al. Ocorrência de anticorpos anti -*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 33–37, 2003.

RAIZMAN, E. A. et al. Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhea virus type 1 and type 2 in non-vaccinated cattle herds in the Pacific Region of Central Costa Rica. **Tropical Animal Health and Production**, v. 43, n. 4, p. 773–778, 2011.

ROCHA, M. A. et al. Pesquisa de anticorpos para IBR em amostragem de demanda no Estado de Minas Gerais, 1990-1999. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 6, p. 645–647, 2001.

ROMERO-SALAS, D. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* Antibodies in cattle in Veracruz, México. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 10, p. 1445–1451, 2010.

ROMERO-SALAS, D. et al. Seroprevalence and risk factors associated with infectious bovine rhinotracheitis in unvaccinated cattle in southern Veracruz , Mexico. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 17, p. 1716–1722, 2013.

RUFINO, F. A.; SENEDA, M. M.; ALFIERI, A. . Impacto do herpesvírus bovino 1 e do vírus da diarreia viral bovina na transferência de embriões. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 78–84, 2006.

SAMARA, S. I.; DIAS, F. C.; MOREIRA, S. P. G. Ocorrência da diarreia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 6, p. 396–403, 2004.

SANTOS, M. R. et al. Antibodies against Bovine herpesvirus 1 in dairy herds in the state of Espírito Santo, Brasil. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 280–283, 2014.

SANTOS, R. R. D. et al. Frequência de anticorpos anti - *Neospora caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, Minas Gerais. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 271–280, 2009.

SARTOR, I. F. et al. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliados pelos métodos ELISA e RIFI no município de Avaré, SP. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 3–10, 2003.

SARTOR, I. F. et al. Ocorrência de anticorpos anti *Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 413–418, 2005.

SEGURA-CORREA, J. C. et al. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in North-Eastern Mexico. **Open Veterinary Journal**, v. 6, n. 2, p. 143–149, 2016.

SOUSA, M. E. et al. Seroprevalence and risk factors associated with infection by *Neospora caninum* of dairy cattle in the state of Alagoas , Brazil 1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1009–1013, 2012.

SOUSA, V. E. DE et al. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 1, p. 21–25, 2013.

SPILKI, F. . et al. Comparative pathogenicity of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) subtypes 1 (BHV-1.1) and (BHV-1.2a). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 43–49, 2004.

SUN, W.-W. et al. Herd-level prevalence and associated risk factors for *Toxoplasma gondii* , *Neospora caninum* , *Chlamydia abortus* and bovine viral diarrhoea virus in commercial dairy and beef cattle in eastern , northern and northeastern China. **Parasitology Research**, v. 114, p. 4211–4218, 2015.

TAKIUCHI, E.; ALFIERI, A.; ALFIERI, A. . Herpesvírus bovino tipo 1 : Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnóstico. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 2, p. 203–209, 2001.

TALAFHA, A. Q.; AL-MAJALI, A. M. Prevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* infection in dairy herds in Jordan. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, p. 479–485, 2013.

TEIXEIRA, W. C. et al. Prevalência de anticorpos anti- *Neospora caninum* (Apicomplexa : Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 9, p. 729–734, 2010.

TRANGADIA, B. et al. Prevalence of brucellosis and infectious bovine rhinotracheitis in organized dairy farms in India. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, n. 2, p. 203–

207, 2010.

USDA. USDA Foreign Agricultural Service. **Disponível em:** < <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/> >. **Acesso em:** 15/01/15., 2015.

VÁSQUEZ, N. F. R. et al. Seroprevalence and risk factors of several bovine viral diseases in dairy farms of San Pedro de los Milagros , Antioquia , Colombia. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 11, n. 1, p. 15–25, 2016.

VIDOR, T. et al. Herpes bovino tipo 1 (BHV 1): sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. **Ciência Rural**, v. 25, n. 3, p. 421–424, 1995.

VIEIRA, S. et al. Anticorpos para o hepersvírus bovino 1 (BHV-1) em bovinos do Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira.**, v. 4, n. 2, p. 131–137, 2003.

VOGEL, F. S. F et al. Magnitude, duração e especificidade da resposta sorológica em bovinos vacinados contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 83–89, 2002.

WHETSTONE, C. . et al. Changes in the bovine herpesvirus 1 genome during acute infection, after reactivation from latency, and after superinfection in the host animal. **Archives of Virology**, v. 106, p. 261–279, 1989.

WOODBINE, K. A. et al. A four year longitudinal sero-epidemiological study of bovine herpesvirus type-1 (BHV-1) in adult cattle in 107 unvaccinated herds in south west England. **Veterinary Research**, v. 5, n. 5, p. 1–12, 2009.

CAPÍTULO 2- Soroprevalência e fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1 e vírus da diarreia viral bovina em vacas leiteiras mestiças não vacinadas em Uberlândia, Minas Gerais

Vinícius de Moraes Barbosa¹; Cristóvão Costa Gondim¹; Nayara Resende Nasciutti^{1*}; Patrícia Magalhães de Oliveira¹; Amauri Alcindo Alfieri²; Juliana Torres Tomazi Fritzen²; Selwyn Arlington Headley³; Ana Maria Saut⁴; Fernando Tobal Berssaneti⁵; João Paulo Elsen Saut¹

Resumo

O herpesvírus bovino tipo 1 e o vírus da diarreia viral bovina estão frequentemente associados a casos de abortamento em bovinos de leite. Objetivou-se verificar os fatores de risco relacionados à soroprevalência do BoHV-1, BVDV e ambos os agentes (BoHV-1/BVDV) em propriedades rurais do município de Uberlândia, Minas Gerais por meio do teste de vírusneutralização (VN) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas. No período de janeiro a julho de 2013 foram colhidas 264 amostras de sangue e as determinações dos títulos de anticorpos contra o BoHV e BVDV foram obtidas pela técnica de VN. As soroprevalências foram de 62,5% (165/264) para o BoHV-1, 45,1% (119/264) BVDV e 31,4% (83/264) para ambos (BoHV-1 e BVDV). Os fatores de risco associados ao BoHV-1 foram as propriedades com número total de fêmeas acima de 100, presença de ordenha mecânica, utilização da monta natural na reprodução e a compra infrequente de animais. No BVDV identificaram-se os fatores, aptidão da fazenda ser mista (leite/corte), presença de ordenha mecânica, ausência de quarentena para os animais recém-adquiridos, presença de piquete de parição e ausência da inseminação artificial. Em ambos (BoHV-1/BVDV) a presença de ordenha mecânica, aumentou o risco em 3,36 vezes e o uso de inseminação artificial reduziu em 56% o risco nas propriedades. Conclui-se que há fatores de risco associados à soroprevalência ao BoHV-1: propriedades com número total de fêmeas acima de 100, presença de ordenha mecânica, não utilização de inseminação artificial na reprodução e a compra de animais infrequente. No BVDV: aptidão da fazenda ser mista, presença de ordenha mecânica, ausência de quarentena para os animais recém-adquiridos, presença de piquete de parição e a não utilização de inseminação artificial e fatores associados aos vírus (BoHV-1/BVDV) foram identificados a presença de ordenha mecânica e a não utilização da inseminação artificial nas propriedades.

Palavras chaves: Bovinos. Doenças reprodutivas. Vírusneutralização.

¹ Médicos veterinários, Laboratório de Saúde em Grandes Animais, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil. Email: nayanarasciutti@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

² Multi-user Animal Health Laboratory, Unidade de Biologia Molecular, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Campus Universitário, PO Box 10.011, Londrina, PR. 86057-970, Brazil.

³ Laboratório de Virologia Animal, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Campus Universitário, PO Box 10.011, Londrina, PR. 86057-970, Brazil. ³ Multi-user Animal Health Laboratory, Unidade de Biologia Molecular, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Campus Universitário, PO Box 10.011, Londrina, PR. 86057-970, Brazil.

⁴ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção, Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

⁵ Prof. Departamento de Engenharia de Produção, Escola politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor para correspondência

Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus type 1 virus and bovine viral diarrhoea virus in crossbreed dairy cows unvaccinated in Uberlândia, Minas Gerais

Abstract

Bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus are often associated with cases of abortion in dairy cattle. The aim of this study was verify the risk factors associated with the prevalence of bovine herpesvirus 1 (BoHV-1), bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and both viral agents (BoHV-1 and BVDV) in city of Uberlândia, Minas Gerais through the virus neutralization assay in unvaccinated crossbred dairy cows. Between the months of January to July 2013 were collected 264 blood samples were collected and determinations of antibody titers against BVDV and BoHV were obtained by VN test. The seroprevalence for BoHV-1 was 62.5% (165/264) and 45.1% (119/264) of the samples were seropositive to BVDV, while, 31.4% (83/264) and of these were seropositive for both agents. The seroprevalence for BoHV-1 was comparatively more elevated than of the BVDV ($P = 0.001$). (Table 1). The risk factors for BoHV-1 were identified in herds with more than 100 cows, and include the presence of mechanical milking, utilization natural mount and the purchase of animals. Risk factors associated with BVDV identified in dual-purpose herds, these include utilization of mechanical milking, absence of quarantine for newly acquired animals, the presence of picket calving and the absence of artificial insemination. For both viruses (BoHV-1 and BVDV) the use of mechanical milking increase the chance of infection 3.36 fold and while the use of artificial insemination reduced the risk of 2.27 times in these herds. In conclusion the risk factors associated with the seroprevalence to BoHV-1: herds with more than 100 cows, utilization of mechanical milking, used of the natural service and purchase animals. And for BVDV identified risk factors, herds with the presence of dual-purpose, used of mechanical milking, no quarantine for newly acquired animals, the presence of picket calving and no used of artificial insemination. For both (BoHV-1/BVDV) the use of mechanical milking and no used of artificial insemination on the herds.

Key words: Cattle. Virus neutralization. Reproductive disorders.

Introdução

O Brasil está entre os países de destaque no agronegócio para produção de leite (USDA, 2015), sendo o Estado de Minas Gerais o maior produtor e responsável por 26,4% do total de leite produzido no país (IBGE, 2017). Em Minas Gerais está à mesorregião do Triângulo Mineiro, onde se encontra o município de Uberlândia-MG, um dos destaques no agronegócio (SILVA et al., 2012).

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) são importantes agentes que causam abortamento e repetição de cio (MINEO et al., 2006; GÜR, 2011), sendo que os sinais clínicos relacionados ao BoHV-1 envolvem os sistemas respiratório e genital, causando problemas como vulvovaginite pustular infecciosa bovina, cervicite e endometrite em vacas e epididimite em touros (NANDI et al., 2009) e os sinais relacionados ao BVDV envolvem problemas respiratórios, digestórios, doença das mucosas, síndrome hemorrágica e imunodepressão, (SOUSA et al., 2013; DIAS; SAMARA, 2003).

Estudos sorológicos realizados no Brasil, entre 1971 a 2004, indicam a presença de anticorpos contra o BVDV em rebanhos das diversas regiões do Brasil (Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Sul) (FLORES et al., 2005). Da mesma forma, a presença do BoHV-1 se encontra disseminada nos rebanhos brasileiros (TAKIUCHI et al., 2001).

No Brasil, vários levantamentos sorológicos realizados têm demonstrado alta prevalência de animais e rebanhos soropositivos, com índices que variam entre 51,9% (BARBOSA et al., 2005) a 71,3% (BEZERRA et al., 2012) para o BoHV-1 e entre 57,56% (SAMARA et al., 2004) e 61,5% (CHAVES et al., 2010) para o BVDV, verificando-se importante dispersão destes vírus no país. A presença de anticorpos contra o BoHV-1 e BVDV também são descritos nos países da América do Sul, como nos rebanhos leiteiros da Colômbia com soroprevalências de 17,65% e 32,77% (QUEVEDO et al., 2011) e 31,1% e 75,7% (VÁSQUES et al., 2016) para BoHV-1 e BVDV, respectivamente.

Esta dispersão é também observada em países de outros continentes, descrito na Inglaterra, com soroprevalências para BoHV-1 de 42, % (WOODBINE et al., 2009), na Espanha em 79,1% (EIRAS et al., 2009), Índia de 60,84% (TRANGADIA et al., 2010), Costa Rica de 48% (RAIZMAN et al., 2011), México de 64,5% (ROMERO-SALAS et al., 2013) e 64,4% (SEGURA-CORREA et al., 2016) e no Irã de 58,74% (BAHARI et al., 2013). Presença de anticorpos contra o BVDV verificado em propriedades da Turquia de 58,2% (GÜR, 2011), Arábia Saudita de 26% (MAHMOUD; ALLAM, 2013) e Irlanda do Norte de 98,4% (COWLEY et al., 2014).

A alta soroprevalência destes agentes justifica a preocupação na identificação dos fatores de risco associados ao BVDV e BoHV-1 (BARBOSA et al., 2005; DIAS et al., 2008; CHAVES et al., 2010; DIAS et al., 2013) e propostas de controle e erradicação nos rebanhos brasileiros (DEL FAVA et al., 2003; DEZEN et al., 2013).

Na região do Triângulo Mineiro há um levantamento realizado no ano de 2006 (MINEO et al., 2006), onde se relata a prevalência de 49% e 39%, respectivamente, de anticorpos anti BVDV e BoHV-1, em propriedades de vacas leiteiras com histórico de problemas reprodutivos. Com intuito de atualizar a frequência destes agentes virais e diante da influência destes na saúde geral e reprodutiva, além da importância econômica, objetivou-se verificar os fatores de risco associados à soroprevalência do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), da diarreia viral bovina (BVDV) e de ambos agentes virais (BoHV-1 e BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas do município de Uberlândia, Minas Gerais, por meio do teste de vírusneutralização.

Material e Métodos

Área de estudo

O trabalho foi realizado no município de Uberlândia, situado no estado de Minas Gerais, região Sudeste do Brasil, microrregião do Triângulo Mineiro, entre os meses de janeiro a julho de 2013. Foram visitadas o total de 20 propriedades, distribuídas nos cinco distritos do município, sendo eles Martinésia, Cruzeiro dos Peixotos, perímetro rural de Uberlândia, Tapuirama e Miraporanga.

Critérios de inclusão

Apenas propriedades do município com histórico de problemas reprodutivos, definido por abortamento observado em qualquer fase de gestação e repetição de cio, foram incluídas no experimento. De cada fazenda foram selecionadas, aleatoriamente, no máximo 14 vacas mestiças com aptidão leiteira, adultas, lactantes, nascidas na propriedade e criadas extensivamente. Estes animais nunca haviam sido vacinados para Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e Diarreia Viral Bovina (BVD) na propriedade, no entanto, realizado profilaxia para Brucelose e Febre Aftosa, de acordo com as exigências do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil.

Inquérito epidemiológico

Para identificar possíveis fatores de risco associados, foram colhidas nas propriedades informações referente à característica de exploração pecuária (leite/mista), número total de fêmeas na propriedade (≤ 100 ou > 100 animais), número de fêmeas acima de dois anos (≤ 50 ou > 50 animais), número total do rebanho (≤ 100 ou > 100 animais), tipo de ordenha (manual ou mecânica), manejo reprodutivo: monta natural ou inseminação artificial (não/sim), compra de animais frequente (não/sim), realização de quarentena (não/sim), presença de piquete parição (não/sim), presença de ovelhas (não/sim), presença de ruminantes selvagens (não/sim), presença de abortamento na propriedade (não/sim), abortamento individual (não/sim) e repetição de cio individual (não/sim) e histórico de doenças respiratórias (não/sim).

Sorologia

As propriedades foram visitadas uma única vez para as 264 coletas de sangue. O sangue para obtenção do soro foi coletado por punção da veia caudal de cada animal, sendo as amostras colhidas em tubos a vácuo sem anticoagulante. As alíquotas de soro, devidamente acondicionadas, foram mantidas congeladas e posteriormente utilizadas na técnica de vírus neutralização (VN) para detectar títulos de anticorpos contra o BoHV-1 e BVDV.

Vírus neutralização para BoHV-1 e BVDV

Foram testadas 17 amostras de soro por VN de acordo com o Manual de Teste de Diagnóstico e Vacinas para Animais Terrestres da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE). As amostras padrões utilizadas foram cepa Los Angeles e cepa Singer para BoHV-1 e BVDV, respectivamente. As amostras foram diluídas até 1:128 para BoHV-1 e 1:640 para BVDV. Foram consideradas amostras positivas aquelas que apresentaram diluição final superior ou igual a 2 para BoHV-1 e 120 para BVDV.

Análise Estatística

Para avaliação da diferença na proporção de prevalência entre doenças e distritos, a partir da distribuição amostral, realizou-se uma estimativa intervalar da proporção populacional (SWEENEY et al., 2013). Para verificar a relação dos fatores de risco com cada uma das variáveis de saída, foi realizada a análise de regressão logística usando como benchmark um P-valor menor ou igual a 0,05 e assumindo os pressupostos de Hosmer e Lemeshow (2004) e Hair et al. (2006). O modelo conceitual utilizado está descrito na Figura 1. Utilizou-se a equação logística, segundo o software estatístico Minitab v.17, onde: $P(1) = \exp(Y') / (1 + \exp(Y'))$, sendo $Y' = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_i X_i$; B_i = coeficiente e X_i = variáveis independentes.

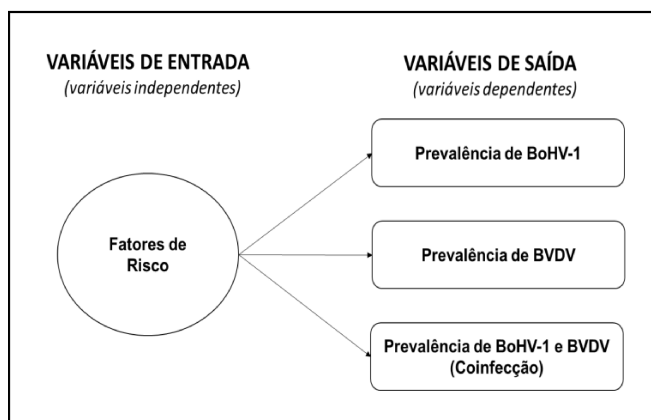


Figura 1. Modelo conceitual

Comitê de ética

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia registro nº 011/13.

Resultados

As soroprevalências foram de 62,5% (165/264) de positivos para o BoHV-1 e de 45,1% (119/264) para BVDV e destes, 31,4% (83/264) apresentaram positividade concomitante. A soroprevalência para BoHV-1 foi significativamente superior a de BVDV ($P=0,001$) (Tabela 1).

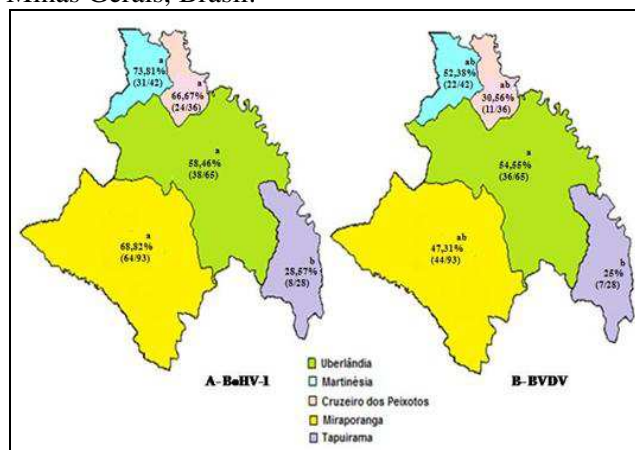
Tabela 1. Soroprevalência para o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e ambos (BoHV-1 e BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, pela técnica de vírusneutralização.

	N (positivos)	PREVALÊNCIA - %
BoHV-1	165/264 ^a	62,5
BVDV	119/264 ^b	45,1
BoHV-1/BVDV	83/264	31,4

*IC-intervalo de confiança ($P \leq 0,05$)

No experimento foram inseridas 20 propriedades e colhidas 264 amostras de sangue, divididas segundo os distritos: Martinésia ($n=42$), Cruzeiro dos Peixotos ($n=36$), perímetro rural de Uberlândia ($n=66$), Tapuirama ($n=28$) e Miraporanga ($n=93$). A porcentagem de soropositivos para o BoHV-1 foi diferente apenas no distrito de Tapuirama em relação aos outros distritos, para BVDV houve diferença na soroprevalência entre os distritos de Tapuirama e perímetro rural de Uberlândia (Figura 2).

Figura 2. Porcentagem de soropositivos para o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), do vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e ambos (BoHV-1 e BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas nos 5 distritos localizados no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.



Nota: ^{a,b} letras diferentes indicam diferença entre os 5 distritos.

Dos 16 fatores analisados (Tabela 2), foram identificados quatro fatores de risco associados à soroprevalência ao BoHV-1: propriedades com número total de fêmeas acima de 100, presença de ordenha mecânica, não utilização de inseminação artificial na reprodução e a compra de animais infrequente (Tabela 3). Observou-se maior probabilidade de ocorrência para o BoHV-1, equivalente a 98,9%, foi com os fatores: número total de fêmeas e tipo de ordenha, presumindo valores comuns para todas as outras variáveis avaliadas.

Tabela 2. Distribuição percentual dos possíveis fatores de risco associados a soroprevalência para o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e ambos (BoHV-1 e BVDV) em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, pela técnica de vírusneutralização.

Variáveis	Animais testados	BoHV-1 Positivos/Soroprevalência (%)	BVDV Positivos/Soroprevalência (%)
Aptidão da fazenda			
Leite	211	132 (62,6)	95 (45,0)
Misto	53	33 (62,3)	24 (45,3)
Total de Fêmeas			
≤100	239	145 (60,7)	107 (44,8)
> 100	25	20 (80,0)	12 (48,0)
Total de Fêmeas > 2 anos			
≤50	180	114 (63,3)	79 (43,9)
> 50	84	51 (60,7)	40 (47,6)
Total de animais			
≤100	195	112 (57,4)	89 (45,6)
> 100	69	53 (76,8)	30 (43,5)
Tipo de ordenha			
Manual	110	68 (61,8)	36 (32,7)
Mecânica	154	97 (63,0)	83 (53,9)
Reprodução (IA)			
Não	177	122 (68,9)	83 (46,9)
Sim	87	43 (49,4)	36 (41,4)
Reprodução (MN)			
Não	45	43 (95,6)	36 (80,0)
Sim	219	122 (55,7)	83 (37,9)
Compra de animais – propriedade			
Não	13	11 (84,6)	9 (69,2)
Sim	251	154 (61,4)	110 (43,8)
Quarentena - propriedade			
Não	222	139 (62,6)	103 (46,4)
Sim	42	26 (61,9)	16 (38,1)
abortamento– propriedade			
Não	40	24 (60,0)	16 (40,0)
Sim	224	141 (62,9)	103 (46,0)
Piquete de parição			
Não	127	73 (57,5)	47 (37,0)
Sim	137	92 (67,2)	72 (52,6)
Presença de ovelhas			
Não	238	149 (62,6)	108 (45,4)
Sim	26	16 (61,5)	11 (42,3)
Presença de ruminantes selvagens			
Não	110	67 (60,9)	53 (48,2)
Sim	154	98 (63,6)	66 (42,9)
Doenças respiratórias			
Não	250	159 (63,6)	113 (45,2)
Sim	14	6 (42,9)	6 (42,9)
Abortamento– animal			
Não	250	154 (61,6)	112 (44,8)
Sim	14	11 (78,8)	7 (50,0)
Repetição de cio - animal			
Não	253	158 (62,5)	115 (45,5)
Sim	11	7 (63,6)	4 (36,4)

No BVDV identificou-se cinco fatores (Tabela 3), aptidão da fazenda ser mista, presença de ordenha mecânica, ausência de quarentena para os animais recém-adquiridos, presença de piquete de parição e a não utilização de inseminação artificial. A maior probabilidade de ocorrência ao BVDV foi de 89,9% quando houve apenas a influência dos fatores positivos (variáveis = 1), presumindo valores comuns para todas as outras variáveis avaliadas.

Em ambos (BoHV-1/BVDV), foram identificados dois fatores de risco como a presença de ordenha mecânica, que aumentou o risco em 3,36 vezes e a realização de inseminação artificial que reduziu o risco em 56,1% nas propriedades (Tabela 3). Identificou-se maior risco associado aos vírus BoHV-1/BVDV (50,2%) quando somente a utilização da ordenha mecânica esteve presente na propriedade.

Tabela 3. Fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e ambos (BoHV-1/BVDV) utilizando o modelo de Regressão Logística Binária, em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

	FATORES DE RISCO	Coefficiente	Desvio padrão	P-valor	Odds ratio (IC)
BoHV-1	Constante	2,570	0,839		
	Fr-1. Total de fêmeas	1,377	0,536	0,005	3,961 (1,387-11,317)
	Fr-2. Tipo de ordenha	0,602	0,305	0,045	1,826 (1,003-3,321)
	Fr-3. Reprodução (I.A.)	-1,468	0,335	0,000	0,230 (0,119-0,444)
	Fr-4. Compra de animais	-2,089	0,812	0,003	0,124 (0,025-0,608)
BVDV	Constante	-2,200	0,533		
	Fr-1. Aptidão da fazenda	1,191	0,449	0,007	3,289 (1,366; 7,925)
	Fr-2. Tipo de ordenha	1,519	0,363	0,000	4,567 (2,241; 9,307)
	Fr-3. Reprodução (I.A.)	-0,909	0,336	0,006	0,403 (0,209; 0,779)
	Fr-4. Quarentena	1,087	0,425	0,010	2,965 (1,289; 6,816)
	Fr-5. Piquete de parição	0,593	0,270	0,027	1,81 (1,065; 3,075)
BoHV-1 e BVDV	Constante	-1,205	0,220		
	Fr-1. Tipo de ordenha	1,212	0,311	0,000	3,361 (1,826-6,1839)
	Fr-2. Reprodução (I.A.)	-0,824	0,326	0,010	0,439 (0,2314-0,831)

* Fr-Fator de risco. Nota: **BoHV-1** - $Y' = 2,570 + 1,377 * Fr-1 + 0,602 * Fr-2 - 1,468 * Fr-3 - 2,089 * Fr-4$; Equação da Regressão logística binária - P (BoHV-1 =1) = 0,729; P(Fr1 e Fr2 = 1; Fr3 e Fr4 = 0) = 0,989; P (BoHV-1 =0) = 0,929 - **BVDV** - $Y' = -2,200 + 1,191 * Fr-1 + 1,519 * Fr-2 - 0,909 * Fr-3 + 1,087 * Fr-4 + 0,593 * Fr-5$; Equação da Regressão logística binária - P (BVDV =1) = 0,782; P (Fr-1, Fr-2, Fr-4, Fr-5 = 1 e Fr-3 = 0) = 0,899; - P (BVDV =0) = 0,099 - **BoHV-1 e BVDV** - $Y' = -1,205 + 1,212 * Fr-2 - 0,824 * Fr-3$; Equação da Regressão logística binária - P (BoHV-1 e BVDV =1) = 0,306; P (Fr-1 = 1; Fr-2 = 0) = 0,502; P (BoHV-1 e BVDV =0) = 0,231.

Discussão

A região do Triângulo Mineiro, onde está localizado o município de Uberlândia tem grande importância na pecuária de corte e leiteira. O município é dividido administrativamente em cinco distritos caracterizados pela presença de pequenas propriedades de criação leiteira em regime extensivo, que foram estudadas pela importância da região, que carece de informações epidemiológicas das doenças que acometem os bovinos. Este estudo traz uma importante contribuição

na identificação da soroprevalência na região de Uberlândia que possui um rebanho bovino de 234.490 animais, sendo 78.904 de vacas, 34.336 novilhas entre 12 a 24 meses e 28.244 novilhas acima de 24 meses, segundo dados do Instituto Mineiro Agropecuário (IMA, 2012).

A soroprevalência encontrada para o BoHV-1 de 62,5% (165/264) e de 45,1% (119/264) para BVDV na técnica de vírusneutralização (VN), corroborou com Mineo et al. (2006) que reportaram a presença de anticorpos contra estes agentes na mesma região, com soroprevalência de 62% (108/174) e 86% (150/174) em um rebanho e de 49% (34/69) e 39% (22/56) em outro rebanho, respectivamente, para o BVDV e BoHV-1 através da técnica de ELISA.

A soropositividade maior de anticorpos contra o BoHV-1 em relação ao BVDV em vacas leiteiras não vacinadas, reforça a dispersão e a presença do BoHV-1 no município de Uberlândia. A soropositividade para ambos os vírus (BoHV-1 e BVDV) foi de 31,4% (83/264), reforçando os resultados já relatados por Alexandrino et al. (2011) nos Estados de Minas Gerais e São Paulo através do teste de VN, em que os autores encontraram uma ocorrência de BoHV-1 de 54,7 % (152/278) e BVDV-1 de 69,8 % (194/278) em propriedades com três tipos de exploração (leiteira, corte e misto).

No período de 1990 a 1999, Rocha et al. (2001) avaliaram a frequência de bovinos soropositivos para o BoHV-1 em Minas Gerais e testaram 5.511 soros sanguíneos provenientes de propriedades particulares em 335 municípios, e mostraram que 93,4% (313/335) dos municípios avaliados apresentavam pelo menos um bovino com sorologia positiva através do teste de SN e ELISA. Estes autores também ressaltaram que a presença de anticorpos apenas indicava que o animal manteve contato com o agente em algum momento de sua vida, portanto, nessa situação não houve diferenciação dos resultados sorológicos positivos ocasionados por infecção ou por vacinação.

Resultados superiores foram encontrados no estado de Goiás, em que a presença de anticorpos contra o BoHV-1 em rebanhos que não utilizavam vacinação contra o IBR, foi de 83% (656/790) de índice de soropositividade na técnica de SN (VIEIRA et al., 2003). Ainda no estado de Goiás, em animais em regime semi-extensivo e não vacinados contra BVD, nas técnicas de SN e ELISA, foi demonstrado soroprevalência de anticorpos de 54,11% (112/207) (GUIMARÃES et al., 2000). Estes resultados evidenciam as diferenças de soroprevalências entre os estados brasileiros, possivelmente devido à exposição a diferentes fatores de risco.

Estudo sorológico revelou nos estados de Minas Gerais e São Paulo, uma ocorrência de 51,8% (215/376) das amostras apresentando anticorpos contra o BVDV e os autores mostraram que animais reagentes podem ser encontrados em qualquer tipo de rebanho, independentemente de raça, manejo e produção (SAMARA et al., 2004).

No oeste do estado do Paraná, a prevalência de anticorpos contra o BoHV-1, na sorologia pelo ELISA indireto, foi de 62,50% (100/160) em propriedades com sistemas de exploração de leite (DIAS et al., 2008). Estes resultados foram semelhantes ao presente estudo com soroprevalência para o BoHV-1 de 62,26%. No estado do Paraná Dias et al. (2013) encontraram nas propriedades uma soropositividade para o BoHV-1 de 71,3% (1481/2078).

O número maior de fêmeas no rebanho e a não utilização da técnica de inseminação artificial foram considerados fatores de risco para aumentar a soroprevalência de positivos para o BoHV-1, sendo esta última (I.A.) também significativa para BVDV e a soropositividade para ambos os vírus (BoHV-1 e BVDV), corroborando com Dias et al. (2008) que citaram o sêmen como uma das principais vias de eliminação do vírus. A utilização da monta natural como método de reprodução envolveria maior probabilidade de infecção comparada à inseminação artificial, pois nas centrais de reprodução, normas de controle sanitário são exigidas com o objetivo de garantir a ausência de microorganismos patogênicos no sêmen. A inseminação artificial foi considerada um fator de proteção contra o BoHV-1, quando utilizada com cuidados e isolada (BARBOSA et al., 2005). Em vacas leiteiras na Colômbia, a utilização de touro ao invés da inseminação artificial também foram considerados com fatores de risco associados ao BoHV-1 e BVDV (QUEVEDO et al., 2011).

Fatores de risco associados ao BoHV-1 em propriedades na Inglaterra encontraram maior soropositividade em compras de gado de leite acima de 2 anos e tamanho do rebanho, relacionado possivelmente ao fato de que os rebanhos maiores possuem maior contato de transmissão (WOODBINE et al., 2009).

A realização de compra de animais foi um fator que diminuiu o risco associado ao BoHV-1, o que poderia estar relacionado à reposição e renovação frequente do rebanho, mas sabe-se que há uma chance maior de adquirir animais portadores eliminando o vírus por secreções (BEZERRA et al., 2012). Na Índia, Trangadia et al. (2010) reforçaram que a aquisição de animais sem triagem apropriada estão relacionada à distribuição ampla e alta prevalência de IBR nas fazendas, assim como a ausência de quarentena antes da entrada para o rebanho principal.

No México, fatores de risco associados à infecção pelo BHV-1 foram encontrados em bovinos de dupla aptidão em relação ao gado de corte, bovinos de seis anos de idade e em animais de diferentes fases reprodutivas (gestantes e paridas) em comparação aos animais na puberdade. Em que nos animais de dupla aptidão do país, a inseminação artificial de vacas é raramente utilizada e consequentemente, a monta natural poderia estar contribuindo para a disseminação da doença (ROMERO-SALAS et al., 2013).

A prática de não separar os animais recém-adquiridos em quarentena, aptidão mista da propriedade e a presença de piquete parição influenciaram a soropositividade para o BVDV, corroborando com Quincozes et al. (2007), que afirmaram um aumento na chance de positividade para o BVDV em 1,49 vezes, quando há utilização de piquetes separados para fêmeas nas fases de parto e/ou pós parto, apesar desses autores descreverem que a separação dos animais poderia impedir a disseminação para o restante do rebanho.

O tipo de ordenha mecanizado foi um fator de risco associado ao BoHV-1, BVDV e ambos (BoHV-1 e BVDV), o que poderia estar associado à aglomeração de animais e assim aumentaria a probabilidade de transmissão do vírus (QUINCOZES et al., 2007).

Estas altas soroprevalências justificam medidas de controle baseadas na literatura e nos fatores de risco identificados na presente pesquisa. Além disso, deve-se considerar estes agentes no diagnóstico diferencial de problemas reprodutivos que ocorrem nas fazendas leiteiras do município de Uberlândia, sendo agentes virais relacionados a distúrbios reprodutivos (GÜR, 2011).

Verifica-se que as propriedades não tinham protocolos de vacinação para IBR e BVD e, portanto os resultados mostram a realidade da região em relação a soroprevalência associada ao BoHV-1 e BVDV, pois a soroconversão pós-vacinal em animais imunizados, não permite diferenciar os resultados sorológicos positivos ocasionados pela infecção natural, daqueles resultantes da vacinação (PILZ et al., 2005). Além disso, não houve manejo específico para o controle da propagação do vírus BVDV (SUN et al., 2015) e nem identificação de animais persistentemente infectados pelo BVDV.

Conclusão

Os fatores de risco associados à soroprevalência ao BoHV-1: propriedades com número total de fêmeas acima de 100, presença de ordenha mecânica, não utilização de inseminação artificial na reprodução e a compra de animais infrequente. No BVDV: aptidão da fazenda ser mista, presença de ordenha mecânica, ausência de quarentena para os animais recém-adquiridos, presença de piquete de parição e a não utilização de inseminação artificial e os fatores associados aos vírus (BoHV-1/BVDV), foram identificados a presença de ordenha mecânica e a não utilização da inseminação artificial nas propriedades.

Referências

- ALEXANDRINO, B.; DIAS, F. C.; OLIVEIRA, M. C.; AFFONSO, I. B.; PEREIRA, G. T.; SAMARA, S. I. Herpesvirus bovino associado à diarreia viral bovina e à leucose enzoótica bovina. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 168-174, 2011.
- BAHARI, A.; GHAREKHANI, J.; ZANDIEH, M., SADEGHI-NASAB, A.; AKBAREIN, H.; KARIMI-MAKHSOUS, A. K.; YAVARI, M. Serological study of bovine herpes virus type 1 in dairy herds of Hamedan province, Iran. *Veterinary Research*, v. 4, n. 2, p. 111-114, 2013.
- BARBOSA, A. C. V. da C.; de BRITO, W. M. E.; ALFAIA, B. T. Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no Estado de Goiás, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1368-1373, 2005.
- BEZERRA, D. C.; CHAVES, N. P.; de SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PERREIRA, H. de M. Prevalência e fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros no estado do Maranhão. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 19, n. 3, p. 158-162, 2012.

BRASIL. Plano mais pecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2014. Disponível em: < www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/Publicacao_v2.pdf. >. Acesso em: 11/01/15.

CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; de SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P. Frequency of antibodies and risk factors of bovine viral diarrhoea virus infection in non-vaccinated dairy cows in the Maranhense Amazon region, Brazil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1448-1451, 2010.

COWLEY, D. J. B.; GRAHAM, D. A.; GUELBEZU, M.; DOHERTY, M. L.; MORE, S. J. Aspects of bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus herd-level seroprevalence and vaccination in dairy and beef herds in Northern Ireland. *Irish Veterinary Journal*, v. 67, n. 18, p. 1-5, 2014.

DEL FAVALA, E. M.; PITUCO, E. M.; de STEPHANO, E.; OKUDA, L. H.; PAULIN, L. M.; REZANDE, F. D.; de OLIVEIRA, J. V.; FADIL, P. A. Modelo de manejo sanitário para erradicação do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em rebanho bovino leiteiro. *Boletim de Indústria Animal*, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 163-171, 2003.

DIAS, F. C.; SAMARA, S. I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 40, p. 161-168, 2003.

DEZEN, S.; OTONEL, R. A. A.; ALFIERI, A. F.; LUNARDI, M.; ALFIERI, A. A. Perfil da infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em um rebanho bovino leiteiro de alta produção e com programa de vacinação contra o BVDV. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 141-147, 2013.

DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; MÉDICI, K. C.; FREITAS, J. C.; FERREIRA NETO, J. S.; MULLER, E. E. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p. 161-168, 2008.

DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; FERREIRA-NETO, J. S.; GONÇALVES, V. S. P.; MULLER, E. E. Seroprevalence and Risk Factors of Bovine Herpesvirus 1 Infection in Cattle Herds in the State of Paraná, Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, Oxford, UK, v. 60, n. 1, p. 39-47, 2013.

EIRAS, C.; DIÉGUEZ, F. J.; SANJUÁN, M. L.; YUS, E.; ARNAIZ, I. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 in cattle in Galicia (NW Spain). *Spanish Journal of Agricultural Research*, Madrid, v. 7, n. 4, p. 800-806, 2009.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P.M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. A infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 25, n. 3, p. 125-134., 2005.

GUIMARÃES, P. L. da S. N.; CHAVES, N. S. T.; da SILVA, L. A. F.; ACYPRESTE, C. S. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina em bovinos do entorno de Goiânia, em regime de criação semi-extensivo. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 1, n. 2, p. 137-142, 2000.

GÜR, S. Prevalence of bovine viral diarrhoea, bovine herpesvirus type 1 and 4 infections in repeat breeding cows in Western Turkey. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 228-233, 2011.

HAIR, J. F., BLACK, W. C., BABIN, B. J., ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. *Multivariate Data Analysis*. 6th. London: Prentice Hall, 2006.

HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. *Applied logistic regression*. 1. USA: A Wiley-Interscience Publication, 2004.

IBGE. Estatística de Pecuária Municipal. Disponível em:
ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201604caderno.pdf. Acesso em: 15 de maio de 2017.

MAHMOUD, M. A.; ALLAM, A. M. Seroprevalence of bovine viral diarrhea virus (BVDV), bovine herpes virus type 1 (BHV-1), parainfluenza type 3 virus (PI-3V) and bovine respiratory syncytial virus (BRSV) among non vaccinated cattle. *Global Veterinaria*, v. 10, n. 3, p. 348-353, 2013.

MINEO, T. W. P.; ALENIUS, S.; NASLUND, K.; MONTASSIER, H. J.; BJORKMAN, C. Distribution of antibodies against *Neospora caninum*, BVDV and BHV-1 among cows in Brazilian dairy herds with reproductive disorders. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 15, n. 4, p. 188, 2006.

MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 347-350, 2000.

NANDI, S.; KUMAR, M.; MANOHAR, M.; CHAUHAN, R. S. Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*, USA, v. 10, n. 1, p. 85-98, 2009.

PILZ, D.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Comparação de diferentes protocolos para a detecção do vírus da diarréia bovina vírus por RT-PCR em grupos de sangue total e de soro sanguíneo, artificialmente infectados. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 26, n. 2, p. 219-228, 2009-06-04 2005.

QUEVEDO, D. C.; BENAVIDES, B. B.; CÁRDENAS, G.; HERRERA, C. Seroprevalence and risk factors associated to BHV-1 and DVBV in dairy herds in Pasto, Colombia, in 2011. *Revista Lasallista de investigación*, Colômbia, v. 8, n. 2, p. 61-68, 2011.

QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G. H.; SILVA, DE O. V, GILBERTO, D´A.; VIDOR, T.; BROD, C. S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.

RAIZMAN, E. A.; POGRANICHNIY, R.; NEGRON, M.; SCHNUR, M.; TOBAR-LOPEZ, D. E. Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis and bovine viral diarrhea virus type 1 and type 2 in non-vaccinated cattle herds in the Pacific Region of Central Costa Rica. *Tropical Animal Health and Production*, Dordrecht, v. 43, n. 4, p. 773-778, 2011.

ROCHA, M. A.; GOUVEIA, A. M. G.; LOBATO, Z. I. P.; LEITE, R. C. Pesquisa de anticorpos para IBR em amostragem de demanda no Estado de Minas Gerais, 1990-1999. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 53, n. 6, p. 645-647, 2001.

ROMERO-SALAS, D.; AHUJA-AGUIRRE, C.; MONTIEL-PALACIOS, F.; GARCÍA-VÁZQUEZ, Z. ; CRUZ-ROMERO, A.; AGUILAR-DOMÍNGUEZ, M. Seroprevalence and risk factors associated with infectious bovine rhinotracheitis in unvaccinated cattle in southern Veracruz, Mexico. *African Journal of Microbiology Research*, v. 7, n. 17, p. 1716-1722, 2013.

SAMARA, S. I.; DIAS, F. C.; MOREIRA, S. P. G. Ocorrência da diarreia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 41, p. 396-403, 2004.

SEGURA-CORREA, J. C.; ZAPATA-CAMPOS, C. C.; JASSO-OBREGÓN, J. O.; MARTINEZ-BURNES, J.; LÓPEZ-ZAVALA, R. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in North-Eastern Mexico. *Open Veterinary Journal*. Tripoli, v. 6, n. 2, p. 143-149, 2016.

SILVA, G. J. C da.; SOUZA, E. C.; MARTINS, H. E. de P. Produção agropecuária em municípios de Minas Gerais (1996-2006): padrões de distribuição, especialização e associação espacial. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, Piracicaba, v. 50, n. 2, p. 333-349, 2012.

SOUSA, V. E. DE et al. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 35, n. 1, p. 21–25, 2013.

SWEENEY, D. J.; WILLAMS, T. A.; ANDERSON, D. R. *Estatística aplicada à administração e economia*. São Paulo: Cengage Learning, 2013.

TAKIUCHI, E.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Bovine herpesvirus type 1: infection and diagnosis methods/ Herpesvírus bovino tipo 1: Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnóstico. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 22, n. 2, p. 203-209., 2001.

TRANGADIA, B.; RANA, S. K.; MUKHERJEE, F.; SRINIVASAN, V. A. Prevalence of brucellosis and infectious bovine rhinotracheitis in organized dairy farms in India. *Tropical Animal Health and Production*, Dordrecht, v. 42, n. 2, p. 203-207, 2010.

USDA. USDA Foreign Agricultural Service. 2015. Disponível em: < <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/> >. Acesso em: 15/01/15.

VÁSQUEZ, N. F. R.; ARGAIZ, D. V.; SILVA, J. A. F.; PINO, J. L.; GUTIÉRREZ, J. J. C.; ÁNGEL, M. E. O. Seroprevalence and risk factors of several bovine viral diseases in dairy farms of San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, Colombia, v. 11, n. 1, p.15–25, 2016.

VIEIRA, S.; de BRITO, W. M. E. D.; SOUZA, W. J.; ALFAIA, B. T.; LINHARES, D. C. L. Anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (BHV-1) em bovinos do estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 4, n. 2, p. 131-137, 2003.

WOODBINE, K. A.; MEDLEY, G. F.; MOORE, S. J.; RAMIREZ-VILLAESCUSA, A. M.; MASON, S.; GREEN, L. E. A four year longitudinal sero-epidemiological study of bovine herpesvirus type-1 (BHV-1) in adult cattle in 107 unvaccinated herds in south west England. *Veterinary Research*, França, v. 5, n. 5, p. 1-12, 2009.

CAPÍTULO 3- Soroprevalência e fatores de risco associados ao *Neospora caninum* em vacas leiteiras mestiças em Uberlândia, Minas Gerais

Nayara Resende Nasciutti^{1*}; Patrícia Magalhães de Oliveira¹; Vinícius de Moraes Barbosa¹; Selwyn Arlington Headley²; Felipe Gonçalves Garcia¹; Murilo Vieira da Silva³, Flávia Batista Ferreira França³; Tiago Wilson Patriarca Mineo³; João Paulo Elsen Saut¹

Resumo

Neospora caninum causa distúrbios reprodutivos na bovinocultura de leite como repetição de cio, abortamento e anestro, que são fatores de risco associados à soroprevalência do *Neospora caninum* no Brasil e no mundo. Objetivou-se verificar os fatores de risco relacionados à soroprevalência do *Neospora caninum* no município de Uberlândia, Minas Gerais em vacas leiteiras mestiças. No período de janeiro a julho de 2013 foram colhidas 740 amostras de sangue de vacas, em 57 propriedades com histórico de problemas reprodutivos e as determinações dos anticorpos contra o *N. caninum* foram obtidos pela técnica de ELISA. A soroprevalência foi de 18,4% (136/740) de positivos para o *N. caninum*. Os fatores de risco associados para o *N. caninum* foram fêmeas maiores de dois anos ($P=0,034$), ordenha mecânica ($P=0,012$), compra frequente de animais ($P=0,004$), além do histórico individual de abortamento ($P=0,007$) e repetição de cio ($P=0,030$). A maior probabilidade de ocorrência de fatores de risco associados foram: histórico de abortamento e repetição de cio individual e a compra frequente de animais, respectivamente, com chances de 12,8; 5,9 e 3,8 vezes. Concluiu-se que existem fatores de risco associados para o *N. caninum*: fêmeas maiores de dois anos, ordenha mecânica, compra frequente de animais, além do histórico individual de abortamento e repetição de cio.

Palavras –chave: Abortamento. Bovinos. Neosporose.

¹ Médicos veterinários, Laboratório de Saúde em Grandes Animais, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil. Email: nayaranasciutti@yahoo.com.br; pmo.veterinaria@yahoo.com.br; vinicius.barbosa6@hotmail.com; felipe_g_garcia@hotmail.com; jpsaut@ufu.br

² Multi-user Animal Health Laboratory, Unidade de Biologia Molecular, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Campus Universitário, PO Box 10.011, Londrina, PR. 86057-970, Brazil. Email: headleysa@gmail.com

³ Laboratório de Imunoparasitologia “Dr Mário Endsfieldz Camargo”, Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Uberlândia, MG, Brasil. Email: murilo.vieira@ufu.br; flaviabatistaf@yahoo.com.br; tiago.mineo@ufu.br

*Autor para correspondência

Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* in crossbred dairy cows in Uberlândia

Abstract

Neospora caninum causes reproductive disorders in dairy cattle with repeat breeder, abortion and anestrus with are risk factors associated with the seroprevalence of *Neospora caninum* in Brazil and world. Aimed to verify the risk factors related to the seroprevalence of *Neospora caninum* in city of Uberlândia, Minas Gerais in crossbred dairy cows. In the period from January to July 2013, 740 cow blood samples were collected from 57 herds with a history of reproductive disorders and determinations of antibody titers against *Neospora caninum* were obtained by ELISA test. The seroprevalence was 18.4% (136/740) positives for *N. caninum*. Risk factors for *N. caninum* were females older than 2 years ($P = 0.034$), mechanical milking ($P = 0.012$), frequent purchase animals ($P = 0.004$), and individual abortion history ($P = 0.007$). And repeat breeder ($P = 0.030$). That the biggest probability of occurrence associated risk factors were the history of abortion and repetition of individual estrus and the frequent purchase of animals, respectively, with odds of 12.8; 5.9 and 3.8 times. In conclusion the risk factors associated with *N. caninum*: females older than 2 years, mechanical milking, frequent purchase of animals, in addition to the individual history of abortion and repeat breeder.

Keywords: Abortion. Cattle. Neosporosis.

Introdução

Existem várias causas de perdas embrionárias e abortamentos em bovinos, em que os prováveis agentes etiológicos causadores dessas enfermidades devem ser identificados (SARTOR et al., 2005). O *Neospora caninum* é considerado um dos principais agentes causadores de distúrbios reprodutivos (SARTOR et al., 2005) e responsável por prejuízos econômicos observados na bovinocultura de leite decorrentes de abortamentos em torno do 5º e 6º mês de gestação (MELO et al., 2006).

A neosporose tem sido identificada em diversos países, com soroprevalências descritas no Marrocos - 8,52% (15/176) (LUCCHESI et al., 2016), China - 17,14% (769/4487) (SUN et al., 2015), Argélia - 19,64% (157/799) (GHALMI et al., 2012), Vietnã - 19% (25/130) (DUONG et al., 2008), Japão - 5,7% (139/2420) (KOIWA et al., 2006), Tailândia - 5,49% (30/549) (KYAW et al., 2004), Estados Unidos - 10,34% (9/87) a 32,11% (105/327) (ORTEGA; TORRES; MENA, 2007), Venezuela - 11,3% (52/459) (LISTA-ALVES et al., 2006), Paraguai - 29,8% (262/879) (OSAWA et al., 2002) e Espanha - 35,9% (402/1121) (QUINTANILLA-GOZALO et al., 1999).

No Brasil foram detectados anticorpos contra *N. caninum* em soros bovinos leiteiros pertencentes a rebanhos localizados em vários estados brasileiros (RAGOZO et al., 2003) e relatado soroprevalência nos estados de São Paulo e Minas Gerais de 16,83% (101/600) (COSTA et al., 2001). Santos et al. (2009) descreveram soroprevalências de 46,25% em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros no estado de Minas Gerais e já houve a descrição da prevalência de 10% (7/69) a 20% (34/174) de anticorpos anti *N. caninum* em vacas leiteiras, com histórico de problemas reprodutivos, de propriedades da região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais (MINEO et al., 2006).

No intuito de prevenir e reduzir a ocorrência de neosporose nos rebanhos, mais recentemente diversas pesquisas têm se preocupado em identificar os fatores de risco associados à soroprevalência do *N. caninum*. A qualidade da água, presença de cães, condições higiênicas e presença de abortamento já foram relatadas (GHALMI et al., 2012; SUN et al., 2015). No Brasil, foram descritos o tipo de exploração, manejo dos rebanhos, presença de hospedeiros definitivos (SARTOR et al., 2005), problemas reprodutivos como repetição de cio, abortamento e anestro (BRUHN et al., 2013). Dentre estes o abortamento é considerado a principal manifestação clínica de vacas infectadas com *N. caninum* (HUSSIEN et al., 2012).

Neste contexto, objetivou-se verificar os fatores de risco associados à soroprevalência do *Neospora caninum* no município de Uberlândia, Minas Gerais em vacas leiteiras mestiças.

Material e Métodos

Área de estudo

O trabalho foi realizado no município de Uberlândia, situado no estado de Minas Gerais, região Sudeste do Brasil, microrregião do Triângulo Mineiro, entre os meses de janeiro a julho de 2013. Foram visitadas o total de 57 propriedades distribuídas nos cinco distritos do município, sendo eles Martinésia, Cruzeiro dos Peixotos, perímetro rural de Uberlândia, Tapuirama e Miraporanga.

Crítérios de inclusão

Apenas propriedades do município com histórico de problemas reprodutivos, definido por abortamento observado em qualquer fase de gestação e repetição de cio, foram incluídas no experimento. De cada fazenda foram selecionadas, aleatoriamente, no máximo 14 vacas mestiças com aptidão leiteira, adultas, lactantes, nascidas na propriedade e criadas extensivamente. Estes animais eram vacinados para Brucelose e Febre Aftosa, de acordo com as exigências do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil.

Inquérito epidemiológico

Para identificar possíveis fatores de risco associados, foram colhidas nas propriedades informações referente à característica de exploração pecuária (leite/mista), número total de fêmeas na propriedade (≤ 100 / >100 animais), número de fêmeas acima de dois anos (≤ 100 / >100 animais), número total do rebanho (≤ 100 / >100 animais), tipo de ordenha (manual/mecânica), compra de animais frequente (não/sim), realização de quarentena (não/sim), presença de piquete parição (não/sim), presença de cães (não/sim), presença de abortamento na propriedade (não/sim) e repetição de cio e abortamento individual (não/sim).

Sorologia

As propriedades foram visitadas uma única vez para as coletas de sangue. O sangue para obtenção do soro foi coletado por punção da veia caudal, sendo as amostras colhidas em tubos a vácuo sem anticoagulante. As alíquotas de soro devidamente acondicionadas foram mantidas congeladas e posteriormente utilizadas na técnica de ELISA.

Antígeno

Taquizoítos de *Neospora caninum* (cepa NC-1) foram mantidos nas mesmas condições por passagem contínua de células HeLa, a 37 °C e 5% de CO₂ em meio RPMI suplementado com HEPES 25 mM, 2 mM de L-glutamina, 3 mM de bicarbonato de sódio e uma solução antibiótica/antimicótica (penicilina 100 UI/mL, estreptomicina 100 µg/mL e anfotericina B 0,25 g/mL; Gibco) (MINEO et al., 1980).

Uma suspensão com o parasita foi lavada duas vezes (720 x g, 10 min, 4 °C) em solução salina tamponada com fosfato 0,01 M (PBS, pH 7.2), tratados com inibidores de protease (Complete, Roche) e depois submetidos a dez ciclos de congelamento-descongelamento e sonicação (60 Hz, amplitude de

90%, banho no gelo). Após centrifugação (10,000 x g, 30 min, 4°C), o sobrenadante foi recolhido e filtrado através de membrana de 0,22 µm (Millex, Millipore, EUA). O sobrenadante, contendo antígenos solúveis de *N. caninum* (NLA), foi coletado e a concentração de proteína foi estimada utilizando o ensaio de Bradford. As alíquotas foram armazenadas a -20 °C até a realização da técnica.

ELISA indireta

Realizou-se ELISA indireto para detectar anticorpos IgG como descrito por Silva et al. (2007), com modificações. Em resumo, placas de microtitulação de alta afinidade foram revestidos com NLA (10 µg/mL) em 0,06 M de carbonato (pH 9,6) *overnight* a 4 °C. As placas foram lavadas três vezes com PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T) e foram bloqueados com PBS-T plus de MOLICO 5% (PBS-TM) durante 1 hora à temperatura ambiente. Posteriormente, após mais três lavagens, as placas foram incubadas com amostras de soro diluídas em PBS-TM (1:200) durante 1 h a 37 °C, com soropositividade conhecida e amostras soronegativas como grupo controle da reação. As placas foram lavadas seis vezes e com anticorpo anti-bovino IgG marcado com peroxidase, diluída em PBS-TM, foi adicionada e incubada por 1 h a 37 °C. A reação foi desenvolvida após um novo ciclo de lavagem, adicionando o substrato enzimático (0,03% de H₂O₂) e cromogénio (0,01 M ácido 2,2-azino-bis-3- etil-benzotiazolinosulfónico [ABTS; Sigma Chemical Co.]) em tampão citrato-fosfato 0,07 M (pH 4,2). A densidade óptica (OD) foi lida a 405 nm após um período de 40 minutos de incubação num leitor de placas (M2e, Molecular Devices, EUA).

Valores do índice ELISA

O *cutoff* da reação foi determinado com média de densidade óptica (OD) com controle soro negativo com três desvios. Títulos de anticorpos foram expressos com o valor índice ELISA, de acordo com a fórmula $IE = OD \text{ sample} / OD \text{ cutoff}$, como descrito anteriormente (Silva et al., 2007). As amostras com índice ELISA ≥ 1.2 foram consideradas positivas.

Análise Estatística

Utilizando o modelo de Regressão logística binária, programa SPSS, foi selecionado como variável dependente (binária) os resultados (negativo e positivo), que é variável de saída e como covariáveis, as variáveis previsoras: característica de exploração pecuária (leite ou mista), número total de fêmeas na propriedade (≤ 100 ou > 100 animais), número de fêmeas acima de 2 anos (≤ 100 ou > 100 animais), número total do rebanho (≤ 100 ou > 100 animais), tipo de ordenha (manual ou mecânica), compra de animais frequente e realização de quarentena, presença de piquete parição (sim/não) e presença de problemas reprodutivos como o abortamento e repetição de cio (sim/não). Utilizou a estatística de aderência de *Hosmer-Lemeshow*, para avaliação do modelo e comparação das frequências observadas e esperadas.

Comitê de ética

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia sob o registro n° 011/13.

Resultados

No experimento foram inseridas 57 propriedades e colhidas 740 amostras de sangue, divididas segundo os distritos: Martinésia ($n=98$), Cruzeiro dos Peixotos ($n=88$), perímetro rural de Uberlândia ($n=277$), Tapuira ($n=64$) e Miraporanga ($n=213$). A soroprevalência para *Neospora caninum* foi de 18,4% (136/740) (Tabela 1), sendo que as prevalências nos distritos variaram entre 12,2% e 24,2%, de 14,3% (14/98) Martinésia, 20,5% (18/88) Cruzeiro dos Peixotos, 24,2% (67/277) perímetro rural de Uberlândia, 17,2% (11/64) Tapuira e 12,2% (26/213) Miraporanga.

Dos 12 fatores analisados (Tabela 1), foram identificados cinco fatores de risco associados à soroprevalência do *N. caninum*. Animais oriundos de propriedades com quantidade maior de 100 fêmeas acima de dois anos apresentaram três vezes mais risco, realização frequente de compra de animais 3,8 vezes mais risco. O histórico de abortamento individual aumentou o risco em 12,8 vezes e a repetição de cio nos animais em 5,9 vezes. A realização de ordenha manual reduziu em 49,4% a chance em relação à ordenha mecânica (Tabela 2). Em que 100% das propriedades tinham a presença de cães.

Tabela 1. Distribuição percentual dos possíveis fatores de risco associados a soroprevalência para *Neospora caninum* em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, pela técnica de ELISA.

Variáveis	Animais testados	Positivos	Soroprevalência (%)
Aptidão da fazenda			
Leite	583	111	19,0
Misto	157	25	15,9
Total de Fêmeas			
≤100	317	53	16,7
> 100	423	83	19,6
Total de Fêmeas > 2 anos			
≤100	506	100	19,8
> 100	234	36	15,4
Total de animais			
≤100	170	28	16,5
> 100	570	108	18,9
Tipo de ordenha			
Manual	380	61	16,1
Mecânica	360	75	20,8
Compra de animais - propriedade			
Não	69	15	21,7
Sim	671	121	18,0
Quarentena - propriedade			
Não	550	107	19,5
Sim	190	29	15,3
abortamento– propriedade			
Não	266	42	15,8
Sim	474	94	19,8
Piquete de parição			
Não	353	70	19,8
Sim	387	66	17,1
Abortamento– animal			
Não	724	134	18,5
Sim	16	2	12,5
Repetição de cio - animal			
Não	716	132	18,4
Sim	24	4	16,7

*Presença de cães em 100% das propriedades.

Tabela 2- Fatores de risco associados a soroprevalência para *Neospora caninum* em vacas leiteiras mestiças não vacinadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Fatores de risco	Coefficiente	P-valor	Exp (B) Odds ratio	95% I.C
Constante	-6,857			
Fêmeas > 2 anos	1,113	0,034	3,042	(1,088-8,507)
Tipo de ordenha	-0,682	0,012	0,506	(0,296-0,863)
Compra de animais	1,335	0,004	3,800	(1,545-9,345)
Abortamento - animal	2,552	0,007	12,830	(2,041-80,632)
Repetição de cio - animal	1,782	0,030	5,941	(1,192-29,608)

*Exp (B)- Odds ratio ajustada, sendo que o Exp (B) > 1, ele indica que à medida que o previsor aumenta, aumentam as chances de uma saída ocorrer, já um valor menor que 1, indica que à medida que o previsor aumenta, as chances de uma saída ocorrer diminuem.

Discussão

A região do Triângulo Mineiro, onde está localizado o município de Uberlândia, tem grande importância na pecuária de corte e leiteira, entretanto, assim como diversas regiões do Brasil, carece de informações epidemiológicas das doenças que acometem os bovinos. Este fato é ainda mais marcante no que concerne às doenças que interferem no desempenho reprodutivo dos rebanhos. Este estudo traz importante contribuição na identificação da soroprevalência da neosporose, ao utilizar amostragem representativa e bem distribuída da região de Uberlândia, que possui rebanho bovino de 234.490 animais, sendo 78.904 de vacas, 34.336 novilhas entre 12 a 24 meses e 28.244 novilhas acima de 24 meses, segundo dados do Instituto Mineiro Agropecuário (IMA, 2012).

Nas propriedades amostradas, com histórico de problemas reprodutivos e em sua maioria com sistemas extensivos, a soroprevalência foi de 18,4% (136/740). Esta prevalência foi semelhante a levantamentos realizados no Estado de Minas Gerais (COSTA et al., 2001; MINEO et al., 2006) e de outros estados brasileiros (BENETTI et al., 2009; CORBELLINI et al., 2006; MELO et al., 2006; RAGOZO et al., 2003; SOUSA et al., 2012). Há relatos de prevalências superiores ao presente trabalho em fêmeas bovinas com menos de 24 meses de idade de 43,66% (93/213) e 47,97% (154/321) presentes em dois rebanhos leiteiros em Minas Gerais (SANTOS et al., 2009) e 50,4% (412/812) em bovinos leiteiros no estado do Maranhão (TEIXEIRA et al., 2010).

Em outros países citam-se soroprevalências maiores associadas ao *Neospora caninum* em rebanhos leiteiros quando comparadas ao presente estudo, variando entre 19,64% (GHALMI et al., 2012) e 35,2% (TALAFHA; AL-MAJALI, 2013), entretanto, também encontraram-se soroprevalências menores de 5,49% (KYAW et al., 2004) a 8,52% (LUCCHESI et al., 2016).

Os fatores de risco identificados nessa pesquisa, como a concentração de fêmeas acima de dois anos, abortamento e compra de animais já foram relatados (GHALMI et al., 2012; SUN et al., 2015). Sabe-se que a principal manifestação clínica de bovinos infectados com *N. caninum* é o abortamento (HUSSIEN et al., 2012), fato que pode também ser observado nesta pesquisa, pois os animais que apresentaram histórico de abortamento tiveram 12,8 vezes mais risco. Ressalta-se que o abortamento é um sinal clínico presente na neosporose, porém, ressalta-se que pode ser devido a outras causas infecciosas, associadas a agentes bacterianos (p.ex. *Brucella*, *Leptospira*) e/ou virais (p.ex. BoHV-1, BVDV) (LUCCHESI et al., 2016).

O fato dos animais soropositivos ao *N. caninum* eventualmente não apresentarem histórico de abortamento, pode ter relação com abortamentos que não foram detectados, possivelmente a abortamento no início da gestação ou reabsorção embrionária, o que reforça a importância de outros fatores de risco como a repetição de cio individual, que aumentou o risco em 5,9 vezes, sendo este sinal clínico associado à soroprevalência de *Neospora caninum*, como já descrito no sudeste do Brasil em gado leiteiro (BRUHN et al., 2013). Nas propriedades havia a presença constante de cães, sendo

que estes poderiam ser infectados pela ingestão de tecidos contendo bradizoítos (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Assim como os casos de abortamento, a repetição de cio também apresenta outras causas não-infecciosas como traumatismos, distúrbios genéticos e hormonais, cistos ovarianos e causas infecciosas como a campilobacteriose e tricomonose e micoplasmose genital (JUNQUEIRA et al., 2006).

A presença de cães é considerada um fator de risco, pois os cães são os hospedeiros definitivos (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007; GHALMI et al., 2012), sendo considerado o estágio resistente do parasita, os oocistos, excretados nas fezes de cães em um estágio não esporulado (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999; MCALLISTER et al., 1998). O *N. caninum* é transmitido no gado por transmissão horizontal quando há ingestão de oocistos esporulados de *N. caninum* (DUBEY; BUXTON; WOUDA, 2006).

Na presente pesquisa, em todas as propriedades havia a presença de pelo menos um cão, com a finalidade de companhia e/ou auxílio na lida com os animais, o que pode ter contribuído com a prevalência encontrada nas fazendas. A presença de cães é comum em propriedades brasileiras e percebe-se que não há preocupação por parte dos proprietários, nem sequer de veterinários ou legislações específicas, no controle ou proibição do acesso destes animais aos locais de criações de bovinos.

A compra frequente de animais teve 3,8 vezes mais risco quando se fazia a aquisição de animais de outras fazendas, representando a maior chance de introdução de animais infectados na propriedade, como descrito por SCHARES et al. (2004). As propriedades que realizavam a compra frequente de animais representaram 90,7% (671/740), pois na região é uma prática comum entre os proprietários e, também, sem preocupação por parte dos mesmos na realização de testes diagnósticos e quarentena. Na presente pesquisa, somente 34,5% (190/550) das vacas eram oriundas de propriedades que realizavam a quarentena.

Animais de propriedades com quantidade maior de 100 fêmeas acima dos dois anos de idade apresentaram três vezes mais risco, o que poderia estar relacionado à presença constante dos animais na produção leiteira. Fatores predisponentes à infecção por *N. caninum* foram encontradas em fêmeas de 19 a 30 meses de idade (MELO et al., 2001), em que os autores afirmaram que há maior pressão produtiva (maior estresse) nos rebanhos leiteiros produtores de leite A/B.

O fato da ordenha manual ter reduzido em 49,4% o risco em relação à ordenha mecânica, pode estar correlacionada às condições higiênicas das pequenas propriedades. Ghalmi et al. (2012) afirmaram na análise dos fatores de risco, que a população bovina que habitava um ambiente ruim, tinha maior risco associados a infecção por *N. caninum* que locais com boas práticas de higiene.

Fatores importantes como a qualidade da água na propriedade, também já foram descritos. A água corrente em relação a uma água adequada para os animais foi relacionada como possível forma de infecção (SUN et al., 2015) pois, segundo os autores, poderia haver o consumo de água

contaminada com oocistos de *N. caninum* provenientes de fezes de canídeos domésticos infectados. Os cães podem ter acesso à água para beber e ao mesmo tempo defecar dentro ou perto da região de fonte de água.

Na presente pesquisa, o fator origem da água não foi considerado, pois a maioria das propriedades não utilizava apenas uma fonte de água para a alimentação dos animais. Entretanto ressalta-se que de acordo com o Instituto Trata Brasil (OLIVEIRA, 2017), o município de Uberlândia está no segundo lugar do ranking de saneamento básico das 100 maiores cidades brasileiras, quando se avalia a evolução dos indicadores de água, esgotos, investimentos e perdas de água. Segundo o Departamento municipal de água e esgoto de Uberlândia (DMAE, 2010), o município possui a capacidade de tratar 100% do esgoto coletado, sendo que 98% do total de esgoto produzido é coletado em Uberlândia, incluindo os distritos de Miraporanga, Tapuirama, Martinésia, Cruzeiro dos Peixotos e a zona rural.

Conclusão

Concluiu-se que existem fatores de risco associados para o *N. caninum*: fêmeas maiores de dois anos, ordenha mecânica, compra frequente de animais, além do histórico individual de abortamento e repetição de cio.

Referências

BENETTI, A. H.; SCHEIN, F. B.; dos SANTOS, T. R.; TONIOLO, G. H.; da COSTA, A. J.; MINEO, J. R.; LOBATO, J.; SILVA, D. A. de O.; GENNARI, S. M. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo, v. 18, p. 29–33, 2009.

BRUHN, F. R. P.; DAHER, D. O.; LOPES, E.; BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in southeastern Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, Edinburgh, v. 45, p. 1093–1098, 2013.

CORBELLINI, L. G.; SMITH, D. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D. J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, Amsterdam, v. 74, p. 130–141, 2006.

COSTA, G. H. N.; CABRAL, D. D.; VARANDAS, N. P.; SOBRAL, E. de A.; BORGES, F. de A.; CASTAGNOLLI, K. C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti *Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 22, n. 1, p. 61–66, 2001.

DMAE. Departamento Municipal de Água e Esgoto de Uberlândia. Disponível em: <http://www.dmae.mg.gov.br/?pagina=Conteudo&id=767>. Acesso em 20 de maio de 2017.

- DUBEY, J. P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of Bovine Neosporosis. *Journal of Comparative Pathology*, Amsterdam, v. 134, p. 267–289, 2006.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 20, n. 2, p. 323–367, 2007.
- DUONG, M. C.; ALENIUS, S.; HUONG, L. T. T.; BJÖRKMAN, C. Prevalence of *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in Southern Vietnam. *The Veterinary Journal*, Amsterdam, v. 175, p. 390–394, 2008.
- GHALMI, F.; CHINA, B.; GHALMI, A.; HAMMITOUCHE, D.; LOSSON, B. Study of the risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in Algerian cattle populations. *Research in Veterinary Science*, Kidlington, v. 93, p. 655–661, 2012.
- HORNOK, S.; EDELHOFER, R.; HAJTÓS, I. Seroprevalence of neosporosis in beef and dairy cattle breeds in northeast Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, Hungary, v. 54, n. 4, p. 485–491, 2006.
- HUSSEIN, M. O.; ELFAHAL, A. M.; ENAN, K. A.; MOHAMMED, M. S.; IBRAHIM, A. M.; TAHA, K. M.; EL-HUSSEIN, A. M. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in Sudan. *Veterinary World*, Wilmington, v. 5, n. 8, p. 465–468, 2012.
- IMA. Secretaria municipal de agropecuária. Prefeitura de Uberlândia. Uberlândia-MG Rebanho bovino- 2007/2012.
Disponível em: http://www.uberlandia.mg.gov.br/uploads/cms_b_arquivos/15148.pdf. Acesso em: 20 de maio de 2017.
- KOIWAI, M.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; SHIMIZU, S.; ZENIYA, Y.; ETO, M.; YOKOYAMA, R.; TSUTSUI, T.; KIMURA, K.; YAMANE, I. Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 135, p. 175–179, 2006.
- KYAW, T.; VIRAKUL, P.; MUANGYAI, M.; SUWIMONTEERABUTR, J. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle in central Thailand. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 121, p. 255–263, 2004.
- JUNQUEIRA, J. R. C.; ALFIERI, A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 27, n. 2, p. 289–298, 2006.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam v. 82, p. 327–333, 1999.
- LISTA-ALVES, D.; PALOMARES-NAVEDA, R.; GARCIA, F.; OBANDO, C.; ARRIETA, D. HOET, A. E. Serological evidence of *Neospora caninum* in dual-purpose cattle herds in Venezuela. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 136, p. 347–349, 2006.
- LUCCHESI, L.; BENKIRANE, A.; HAKIMI, I.; IDRISSE, A. E.; NATALE, A. Seroprevalence study of the main causes of abortion in dairy cattle in Morocco. *Veterinaria Italiana*, Tèramo, v. 52, p. 13–19, 2016.
- MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, Amsterdam, v. 28, p. 1473–1478, 1998.
- MELO, C. B.; LEITE, R. C.; SOUZA, G. N.; LEITE, R. C. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em

bovinos em Minas Gerais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 67–74, 2001.

MELO, D. P. G.; SILVA, A. C.; ORTEGA-MORA, L. M.; BASTOS, S. A.; BOAVENTURA, C. M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 105–109, 2006.

MINEO, J.R., CAMARGO, M.E., FERREIRA, A.W. Enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to *Toxoplasma gondii* polysaccharides in human toxoplasmosis. *Infection and Immunity*, Washington v. 27, p. 283–287, 1980.

MINEO, T. W. P.; ALENIUS, S.; NASLUND, K.; MONTASSIER, H. J.; BJORKMAN, C. Distribution of antibodies against *Neospora caninum*, BVDV and BHV-1 among cows in brazilian dairy herds with reproductive disorders. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 188–192, 2006.

OLIVEIRA, G. TRATABRASIL. Disponível em: <http://www.tratabrasil.org.br/ranking-do-saneamento-das-100-maiores-cidades-2017>. Acesso em: 20 de maio de 2017.

ORTEGA, Y. R.; TORRES, M. P.; MENA, K. D. Presence of *Neospora caninum* specific antibodies in three dairy farms in Georgia and two in Texas. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 144, p. 353–355, 2007.

OSAWA, T.; WASTLING, J.; ACOSTA, L.; ORTELLADO, C.; IBARRA, J.; INNES, E. A Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 110, p. 17–23, 2002.

QUINTANILLA-GOZALO, A.; PEREIRA-BUENO, J.; TABARÉS, E.; INNES, E. A.; GONZÁLEZ-PANIELLO, R.; ORTEGA-MORA, L. M. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *International Journal for Parasitology*, Amsterdam, v. 29, p. 1201–1208, 1999.

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

SANTOS, R. R. D.; GUIMARÃES, A. M.; da ROCHA, C. M. B. M.; HIRSCH, C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, Minas Gerais. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 10, n. 1, p. 271–280, 2009.

SARTOR, I. F.; GARCIA FILHO, A.; VIANNA, L. C.; PITUCO, E. M.; DAL PAI, V.; SARTOR, R. Ocorrência de anticorpos anti *Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 413–418, 2005.

SCHARES, G.; BÄRWALD, A.; STAUBACH, C.; ZILLER, M.; KLÖSS, D.; SCHRÖDER, R.; LABOHM, R.; DRÄGER, K.; FASEN, W.; HESS, R.G. Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers. *Parasitology*, Glasgow, v. 129, p. 301–309, 2004.

SILVA, D. A. O., LOBATO, J., MINEO, T. W. P., MINEO, J. R. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.143, p. 234–244, 2007.

SOUSA, M. E.; PORTO, W. J. N.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; NETO, O. L. S.; FARIA, E. B.;

PINHEIRO JÚNIOR, J. W P.; MOTA, R. A. Seroprevalence and risk factors associated with infection by *Neospora caninum* of dairy cattle in the state of Alagoas, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 32, n. 10, p. 1009–1013, 2012.

SUN, W-W.; MENG, Q-F.; CONG, W.; SHAN, X-F.; WANG, CHUN-FENG. Herd-level prevalence and associated risk factors for *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Chlamydia abortus* and bovine viral diarrhoea virus in commercial dairy and beef cattle in eastern, northern and northeastern China. *Parasitology Research*, New York, v. 114, p. 4211–4218, 2015.

TALAFHA, A. Q.; AL-MAJALI, A. M. Prevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* infection in dairy herds in Jordan. *Tropical Animal Health and Production*, Edinburgh, v. 45, p. 479–485, 2013.

TEIXEIRA, W. C.; UZÊDA, R. S.; GONDIM, L. F. P.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, H. M.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 30, n. 9, p. 729–734, 2010.

ANEXO- Normas da revista SEMINA: Ciências Agrárias

Diretrizes para Autores:

Os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente **traduzidos para o inglês**.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores: American Journal Experts, Editage, Elsevier, <http://www.proof-reading-service.com>, <http://www.academic-editing-services.com/>, <http://www.publicase.com.br/formulario.asp>, <http://www.stta.com.br/>. O autor principal deverá anexar no sistema o **documento comprobatório** dessa correção na página de submissão em “**Docs. Sup.**.”

OBSERVAÇÕES:

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi executado obedecendo às normas técnicas de biosegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação; b) Não tenha sido realizado o cadastro completo de todos os autores nos metadados de submissão; Exemplo: Nome completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Titulação/função

b) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar “**Docs.Sup.**” no ato da submissão;

c) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: gráficos, figuras, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL. (Formato JPEG; TIFF; EXCEL)

d) Não constem no artigo original: título, resumo e palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

Categorias dos Trabalhos

a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em “Docs Supl.” na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

Observação: Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor.

Ex: **Fonte:** IBGE (2014), ou **Source:** IBGE (2014).

Preparação dos manuscritos

Artigo científico: Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos...** *Áreas de estudo...1. Área rural...2. Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

3. Introdução: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

4. Material e Métodos: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

5. Resultados e Discussão: Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.

6. Conclusões: Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

7. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.

b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.

c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.

d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹ ou gL⁻¹.

e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

8. Citações dos autores no texto

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

a) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que

b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....

c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....

d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).

e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com dois autores

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2000).

Citações com mais de dois autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

Para citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem espaçamento.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula.

Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. Referências: As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.724 de 2011 da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. **Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes.** A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

Observação: Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Outras informações importantes

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.
6. *Numero de autores:* Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

Condições para submissão: Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas e aos autores informados da decisão.

1. Os autores devem informar que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Devem informar ainda que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares estão anexados, **ESTANDO CIENTE que a formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO.**
3. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no campo Metadados durante o processo de submissão.**

Utilize o botão "**incluir autor**"

1. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

1. A **identificação de autoria** do trabalho deve ser removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso

submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação Cega por Pares.

2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

O texto deve estar em folha A4, com linhas numeradas, espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11;

1. Atestar que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação pela comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais caso sejam solicitados.
2. **Efetuar o pagamento da Taxa de Submissão de artigos e anexar o comprovante como documento suplementar “Docs. Sup.”**

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

semina.agrarias@uel.br

1. Deve ser incluído no campo **COMENTÁRIOS PARA O EDITOR**, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas