



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

FERNANDA EVERS

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE AGENTES ASSOCIADOS ÀS  
DOENÇAS REPRODUTIVAS EM BOVINOS LEITEIROS DO  
NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ.**

---

LONDRINA  
2015

FERNANDA EVERS

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE AGENTES ASSOCIADOS ÀS  
DOENÇAS REPRODUTIVAS EM BOVINOS LEITEIROS DO  
NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (área de concentração Sanidade Animal) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Doutor.

Orientador Prof. Dr. Italmir Teodorico Navarro

LONDRINA  
2015

FERNANDA EVERS

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE AGENTES ASSOCIADOS ÀS  
DOENÇAS REPRODUTIVAS EM BOVINOS LEITEIRO DOS  
NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (área de concentração Sanidade Animal) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Doutor.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Italmir Teodorico Navarro  
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Lemos Freire  
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

---

Prof. Dr. Selwyn Arlington Headley  
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

---

Prof. Dr. João Luis Garcia  
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

---

Prof. Dr. Dauton Luiz Zulpo  
Pontifícia Universidade Católica (PUC-PR)

Londrina, 22 de Maio de 2015.

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Protozoologia e Virologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal pelo Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (Área de Concentração: Sanidade Animal), com a orientação do Prof. Dr. Itamar Teodorico Navarro.

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos juntos às agências e órgãos de fomento à pesquisa, abaixo relacionados:

- 1. CNPQ - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico**
- 2. PROPPG – Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação da Universidade Estadual de Londrina**
- 3. CAPES – Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior/ MEC**

*Não faça ao outro o que você  
não quer que seja feito à você.*

**Confúcio**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus em primeiro lugar. Aos meus pais Roberto e Maria Ivone, ao meu irmão Roberto e sua esposa Danielle, aos tios Paulo, Mercedes e Helena e aos primos Paula e Allam, por estarem sempre presentes nas minhas vitórias e derrotas, pelo incentivo, amor, amizade e carinho. A minha sobrinha Maria Eduarda, por renovar a minha energia para a conclusão dessa etapa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Itamar Teodorico Navarro, pela confiança, amizade e por sempre me orientar tanto na ciência quanto nas horas de aflição. Aos amigos e também orientadores Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Lemos Freire, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Regina Mitsuka Breganó, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiana Mori, Prof. Dr. Marcelo Seneda, Prof. Dr. Selwyn Headley pela generosidade com que me orientaram em vários momentos do percurso. Aos Professores Doutores João Luis Garcia, Amauri Alcindo Alfieri, Alice Alfieri, Wander Breganó, Dauton Zulpo, Daniela Dib Gonçalves, Maira Fortes e Vanessa Hashimoto pelo essencial auxílio em etapas fundamentais durante toda a caminhada. Aos Professores do curso de Medicina Veterinária da UniFil, especialmente Carla Barros e Graziela Pacheco.

Aos técnicos de laboratório Juliana Fritzen, Beatriz Nino, Cristiane da Silva e Marcos Vinícius de Oliveira pelo grande empenho e amizade. Aos amigos de jornada, Laura Bittencourt, Thais Cabral, Ana Sue Sammi, Luiz Daniel de Barros, Patricia Sicupira, Juliana Galhardo, Felipe Martins, José Maurício Ferreira Neto, Fernanda Ferreira, Célia Reis, Sthefany Pagliari, José Ribeiro Junior, Juliana Ramos Pereira e Edson Antônio Rios, por sempre estarem ao meu lado.

A todos os estagiários, residentes, mestrandos e doutorandos do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UEL, pelos momentos felizes vividos, especialmente ao Nelson Rodrigues dos Santos, João Pedro Sasse, Joeleni Rosa e Fernando Galdino Ricci. Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UEL, especialmente Valdecir Gomes, Maria José Rodrigues e Neusa Ribeiro. À secretária da Pós Graduação de Medicina Veterinária e grande amiga, Helenice Kieski, pela grande paciência sempre. Aos meus grandes amigos de Londrina, em especial Odeclecia Rigoni e Marcio Pereira.

Certamente vocês foram os grandes e verdadeiros colaboradores desse sonho!

EVERS, Fernanda. **Soroepidemiologia de agentes associados às doenças reprodutivas em bovinos leiteiros do noroeste do estado do Paraná.** 2015. 63f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

## RESUMO

O rebanho leiteiro brasileiro é o maior rebanho comercial do mundo e em 2012 o país ocupou o quarto lugar na produção de leite. As regiões sul e sudeste do Brasil são as que apresentam a maior produção de leite sendo que o sul do país apresentou a maior produção de leite no terceiro trimestre de 2014. A atividade leiteira está presente em todos os 399 municípios do Paraná e a região Noroeste do estado apresenta as menores taxas de produtividade. Os problemas reprodutivos são multifatoriais, apresentam etiologia variada e são os principais motivos para o descarte de animais em rebanhos leiteiros. *Neospora caninum* é um parasita que gera falhas reprodutivas, abortamento e perdas econômicas em bovinos. *Toxoplasma gondii* acomete seres humanos e animais de sangue quente e o sistema de criação extensivo parece favorecer a infecção pelo agente nos bovinos. Herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) produz infecção latente, sendo reativado com tratamentos imunossupressores ou condições de estresse, gerando perdas expressivas na pecuária. O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) desencadeia efeito imunossupressor aumentando a patogenicidade de outros microorganismos. O objetivo desse estudo foi determinar a soroprevalência e fatores associados ao *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV em propriedades de bovinocultura de leite com histórico de problemas reprodutivos do noroeste do estado do Paraná. Foram coletadas amostras de sangue de 363 fêmeas em idade reprodutiva, não vacinadas contra BoHV-1 e BVDV, que apresentaram problemas reprodutivos de 32 propriedades de cinco cidades da região Noroeste do Paraná. Foi preenchido um questionário epidemiológico por propriedade com variáveis associadas à infecção para os agentes pesquisados. Para a titulação de anticorpos foram utilizadas a imunofluorescência indireta (IFI) para *T. gondii*, *N. caninum* e vírus neutralização (VN) para BoHV-1 e BVDV. Dos 363 animais analisados, 48 (13,2%) foram soropositivos para *T. gondii*, 93 (25,6%) para *N. caninum*, 216 (59,5%) para BoHV-1 e 156 (43,%) para BVDV. Sessenta e oito (18,7%) animais foram simultaneamente reagentes ao BoHV-1 e BVDV, 10 (2,8%) ao *N. caninum* e *T. gondii* e 42 (11,6%) animais apresentaram soropositividade à múltiplos agentes. Dois (0,6%) animais foram soropositivos e 68 (18,7%) foram soronegativos aos quatro agentes estudados. Das 32 propriedades estudadas, 62,5% apresentaram pelo menos um animal reagente ao *T. gondii*, 81,3% ao *N. caninum*, 93,8% para o BoHV-1 e 90,6% para BVDV. Na análise estatística verificou-se associação significativa entre a raça holandesa e a ocorrência de infecção por *T. gondii*. As variáveis, caso de abortamento na propriedade e condições precárias das instalações para os bovinos foram associadas à infecção pelo BoHV-1. Para BVDV a variável aluguel de pasto foi associada à infecção e a variável piquetes de parição apresentou proteção. A presença de BoHV-1 foi associada a infecção por BVDV ( $p < 0,0003$ ; OR=2,27; IC 95%; 1,46 - 3,53). *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV estão presentes no ambiente das propriedades estudadas, sendo que dentre as infecções mistas, ocasionadas pela associação de vírus e protozoários, foram mais frequentes entre o

*N. caninum*, BoHV-1 e BVDV. Assim os problemas reprodutivos destas propriedades podem ser decorrentes dos agentes infecciosos encontrados.

**Palavras-Chave:** *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1, BVDV, diagnóstico.

EVERS, Fernanda. **Seroepidemiology of agents associated with reproductive diseases in dairy cattle from northwestern of Paraná state.** 2015. 63f. Thesis (Doctor's Degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

## ABSTRACT

The Brazilian dairy herd is the bigger commercial herd in the world and in 2012 the country occupied the fourth place in the milk production. In Brazil, the regions south and southeast are the most productive and in the third quarter of 2014, the south region occupied the first position. Milk production is present in all 309 cities of Paraná and the northwestern region shows the lowest productivity rates. Reproductive diseases are multifactorial, have several etiologies and are the main reason for animal disposal in dairy herds. *Neospora caninum* is a parasite that causes reproductive disorders, abortion and economic losses in cattle. *Toxoplasma gondii* infects humans and warm-blooded animals and the extensive farming system may contribute to the infection in cattle. Bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) produces latent infection and can be reactivated with immunosuppressive treatments or stressful conditions causing significant losses in livestock. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) causes immunosuppressive effects, increasing the pathogenicity of others microorganisms. The aim of this study was determine the seroprevalence and other factors associated with *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1 and BVDV in dairy cattle farms with history of reproductive disorders from northwestern of Paraná state. Blood samples of 363 females in reproductive age, unvaccinated against BoHV-1 and BVDV, that showed reproductive problems were collected from 32 farms of 5 regions in the northwestern of Paraná. An epidemiologic survey was applied for each farm with variables associated with infections to the researched agents. Indirect immunofluorescence (IFI) was used to quantify the antibodies against *T. gondii*, *N. caninum* and virus neutralization (VN) for BoHV-1 and BVDV. From 363 analyzed animals, 48 (13.2%) were seropositive to *T. gondii*, 93 (25.6%) to *N. caninum*, 216 (59.5%) to BoHV-1 and 156 (43%) to BVDV. A total of 68 (18.7%) animals were positive both to BoHV-1 and BVDV, 10 (2.8%) to *N. caninum* and *T. gondii* and 42 (11.6%) animals had positive results to multiple agents. Two (0.6%) animals were seropositive and 68 (18.7%) were seronegative to the four studied agents. From of 32 studied farms, 62.5% showed at least one animal positive to *T. gondii*, 81.3% to *N. caninum*, 93.8% to BoHV-1 and 90.6% to BVDV. Statistical analysis showed a significant association between Holstein cattle and the occurrence of infection to *T. gondii*. The variables, abortion in the farm and poor installations conditions to cattle were associated to BoHV-1 infection. For BVDV, the variable renting of pasture was associated to infection and the variable calving paddock was considered as a protection factor. BoHV-1 was associated to BVDV infection  $p < 0,0003$ ; OR=2,27; IC 95%; 1,46 - 3,53). *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1 and BVDV are present in the environment of the studied farms and multiple infections, caused by association of virus and protozoa, *N. caninum*, BoHV-1 and BVDV were more frequent. Thus, the reproductive problems from these farms can be due to the agents found.

**Keywords:** *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1, BVDV, diagnosis.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Ciclo de vida do <i>Neospora caninum</i> .....	13
<b>Figura 2</b> – Ciclo de vida do <i>Toxoplasma gondii</i> .....	17
<b>Figura 3</b> – Patogenia por Vírus da Diarréia Viral Bovina em fêmeas prenhes.....	22

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

### REVISÃO

Quadro 1 – Ocorrência de anticorpos contra Neospora caninum em bovinos .....	16
Quadro 2 – Ocorrência de anticorpos contra Toxoplasma gondii em bovinos .....	19
Quadro 3 – Ocorrência de anticorpos contra BoHV-1 em bovinos.....	20

### ARTIGO

<b>Tabela 1</b> – Soroprevalência de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras, de propriedades com problemas reprodutivos, do noroeste do estado do Paraná, segundo município de procedência, 2014 .....	44
<b>Tabela 2</b> – Soropositividade para múltiplos agentes: Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras de propriedades com problemas reprodutivos, do noroeste do estado do Paraná, segundo município de procedência, 2014 .....	45
<b>Tabela 3</b> – Títulos de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras, de propriedades com problemas reprodutivos, do noroeste do estado do Paraná, por município, 2014.....	45
<b>Tabela 4</b> – Resultado da análise das variáveis estudadas associadas à soropositividade para Toxoplasma gondii, Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em bovinos leiteiros de 32 propriedades com problemas reprodutivos no noroeste do estado do Paraná, Brasil, 2014 .....	46

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>BoHV-1</b>	Herpesvírus bovino tipo 1
<b>BVDV</b>	Vírus da Diarreia viral Bovina
<b>CDC</b>	Center for Disease Control and Prevention
<b>CONCEA</b>	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
<b>DICC50</b>	Doses infectantes para 50% dos cultivos celulares
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization of the United Nations
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IBR</b>	Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
<b>IC</b>	Intervalo de confiança
<b>IFI</b>	Imunofluorescência Indireta
<b>IPARDES</b>	Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social
<b>MDBK</b>	Madin Darbin Bovine Kidney
<b>OR</b>	Odds Ratio
<b>p</b>	p-value
<b>SEAB</b>	Secretaria de Agricultura e Abastecimento
<b>VN</b>	Vírus Neutralização

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>13</b>
2.1	Neospora caninum.....	13
2.2	Toxoplasma gondii.....	16
2.3	Herpesvirus bovino (BoHV-1) .....	19
2.4	Vírus da diarreia viral bovina (BVDV) .....	21
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>37</b>
	OBJETIVO GERAL .....	37
	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
<b>4</b>	<b>ARTIGO</b> .....	<b>38</b>
	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>40</b>
	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>41</b>
4.1	Delineamento da Pesquisa e Amostragem.....	41
4.2	Avaliação Sorológica .....	42
4.2.1	Imunofluorescência indireta para Toxoplasma gondii e Neospora caninum .....	42
4.2.2	Vírus Neutralização para BVDV e BoHV-1 .....	42
4.3	Instrumento de Pesquisa .....	43
4.4	Análise Estatística.....	43
	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>47</b>
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>52</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>53</b>
	<b>APÊNDICE</b> .....	<b>60</b>
	<b>ANEXO</b> .....	<b>62</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O rebanho leiteiro brasileiro é o maior rebanho comercial do mundo e em 2012 o país ocupou o quarto lugar na produção de leite correspondendo a, aproximadamente, 5,2% da produção mundial que ultrapassou 620 bilhões de litros. (BRASIL, 2010; FAO, 2012; KOEHLER, 2000). As regiões sul e sudeste do Brasil são as que apresentam a maior produção de leite. No terceiro trimestre de 2014 foram adquiridos pelas indústrias brasileiras processadoras de leite, 6.267 bilhões de litros do produto. Nesse mesmo período, o sul do país apresentou a maior produção de leite e o estado do Paraná comercializou 776.856 mil litros de leite (IBGE, 2014).

O rebanho leiteiro no Paraná, no ano de 2000, era formado por 2 milhões de cabeças sendo que o número de vacas ordenhadas era de aproximadamente 1.375.000 (SEAB, 2000). Entre 2000 e 2006, o rebanho de vacas ordenhadas cresceu 19,8%, a produtividade teve acréscimo de 25,5% e o Paraná alcançou o 2º lugar no ranking, representando 10,6% da produção nacional com produtividade 61% acima da média brasileira (VOLPI, DIGIOVANI, 2008). Já em 2009, o rebanho paranaense foi estimado em 2,852 milhões de cabeças, com média de 29 animais por produtor (IPARDES, 2009).

A atividade leiteira está presente em todos os 399 municípios paranaenses (VOLPI, DIGIOVANI, 2008). O número de produtores de leite em 2006 era de 118.884 com produção de 2.048.486 bilhões de litros de leite (IBGE, 2006). Deste total, 99.573 produtores comercializam o produto e o restante apenas produzem para consumo próprio. O Estado possui quatro sistemas diferentes de tecnologia empregada na produção e o que difere entre um sistema e outro é o volume de leite produzido (média diária e anual) e como é o mecanismo para a manutenção dessa produção.

No Sistema I estão inseridos 84% dos produtores Paranaenses com a produção menor de 2.000 litros/vaca/ano. Possuem em média 10 animais mestiços ou de raça não especializada em lactação. O manejo é extensivo, com alimentação em pastagens perenes de verão. As matrizes são cobertas por monta natural e a ordenha é feita manualmente com utilização de mão-de-obra familiar. Nesse sistema estão as mesorregiões do Noroeste, Norte Pioneiro, Norte Central, Centro Ocidental, parte da mesorregião Sudoeste e Centro Sul do Paraná (SEAB, 2000).

No Sistema II estão 11% dos produtores de leite do Paraná com produção de 2.000 litros a menos de 4.000 litros /vaca/ano. Tem em média 20 vacas em lactação sendo metade destas especializadas para a produção. O manejo é extensivo, com pastagem perene e anual de inverno, além de ração e silagem em momentos específicos. Para a cobertura, 50% dos produtores utilizam a monta natural e a outra metade a inseminação artificial. A ordenha é manual ou mecânica e a mão-de-obra é familiar e/ou contratada. Pertencem a este sistema as mesorregiões Sudoeste, parte das mesorregiões Centro Sul e Sudeste do Paraná (SEAB, 2000).

O Sistema III é composto por 4% dos produtores com produção de 4.000 litros a menos de 6.000 litros/vaca/ano. Tem em média 40 vacas em lactação sendo o rebanho animais especializados. O manejo é semi-intensivo, com pastagens perene, anual de inverno e verão, ração e silagem durante todo o ano. A cobertura é feita predominantemente através de inseminação artificial (70%). A ordenha é mecânica, em estábulo ou sala de ordenha com mão-de-obra contratada. Pertencem à esse sistema rebanhos localizados na mesorregião Oeste do Paraná como Toledo e Marechal Cândido Rondon (SEAB, 2000).

Um por cento dos produtores estão inseridos no Sistema IV com produção acima de 6.000 litros/vaca/ano. Tem em média 70 vacas em lactação sendo animais especializados. O manejo é intensivo com pastagens perenes, anuais de inverno e verão fornecidas no cocho além de ração e silagem o ano inteiro. A inseminação artificial é utilizada em 100% dos animais. A ordenha é mecânica em salas de ordenha com mão-de-obra contratada. Os principais rebanhos leiteiros que pertencem a este sistema localizam-se na mesorregião Centro Oriental do Paraná, principalmente nos municípios de Arapoti, Castro e Carambeí (SEAB, 2000).

O manejo reprodutivo do rebanho bovino envolve procedimentos básicos, como a reprodução controlada/inseminação artificial, programação da primeira cobertura e do período de lactação, registros de cobertura/inseminação e do nascimento dos bezerros (IPARDES, 2009). No Estado, é comum, em todos os níveis de produção, a realização do registro da cobertura/inseminação artificial e do nascimento dos bezerros. A programação de partos é utilizada somente por 8,8% dos produtores de leite. A combinação entre idade e peso das novilhas para a realização da primeira cobertura é utilizada por apenas 10% dos produtores. A maioria dos produtores que fazem esse controle considera apenas a idade das

fêmeas. Quase metade dos produtores paranaenses não utilizam critérios para a realização da primeira cobertura (IPARDES, 2009).

As regiões Centro – Oeste, Sudoeste e Noroeste do Paraná participam com 37% do rebanho do estado, porém com apenas 27% da produção de leite. (KOEHLER, 2000). As principais razões por essa baixa produtividade incluem a utilização de animais sem aptidão para produção de leite; manejo alimentar, reprodutivo e sanitário inadequado; baixo nível de instrução dos produtores, utilização inadequada do estoque de tecnologias disponíveis e falta de assistência técnica veterinária (IBGE, 2006).

Os problemas reprodutivos são multifatoriais, apresentam etiologia variada e são os principais motivos para o descarte de animais em rebanhos leiteiros (SILVA et al., 2008). Independentemente da causa do distúrbio reprodutivo, se infeccioso ou não, o resultado final será sempre o menor número de nascimentos e o maior intervalo entre partos. Essas duas consequências reduzem a receita com a diminuição da produção e aumento dos custos da atividade (JUNQUEIRA, ALFIERI, 2006). Dentre os agentes que acarretam problemas reprodutivos em bovinos leiteiros estão o *Neospora caninum*, vírus da Diarreia viral bovina e Herpesvírus bovino 1, *Leptospira* spp., *Brucella* spp. e *Histophilus somni*.

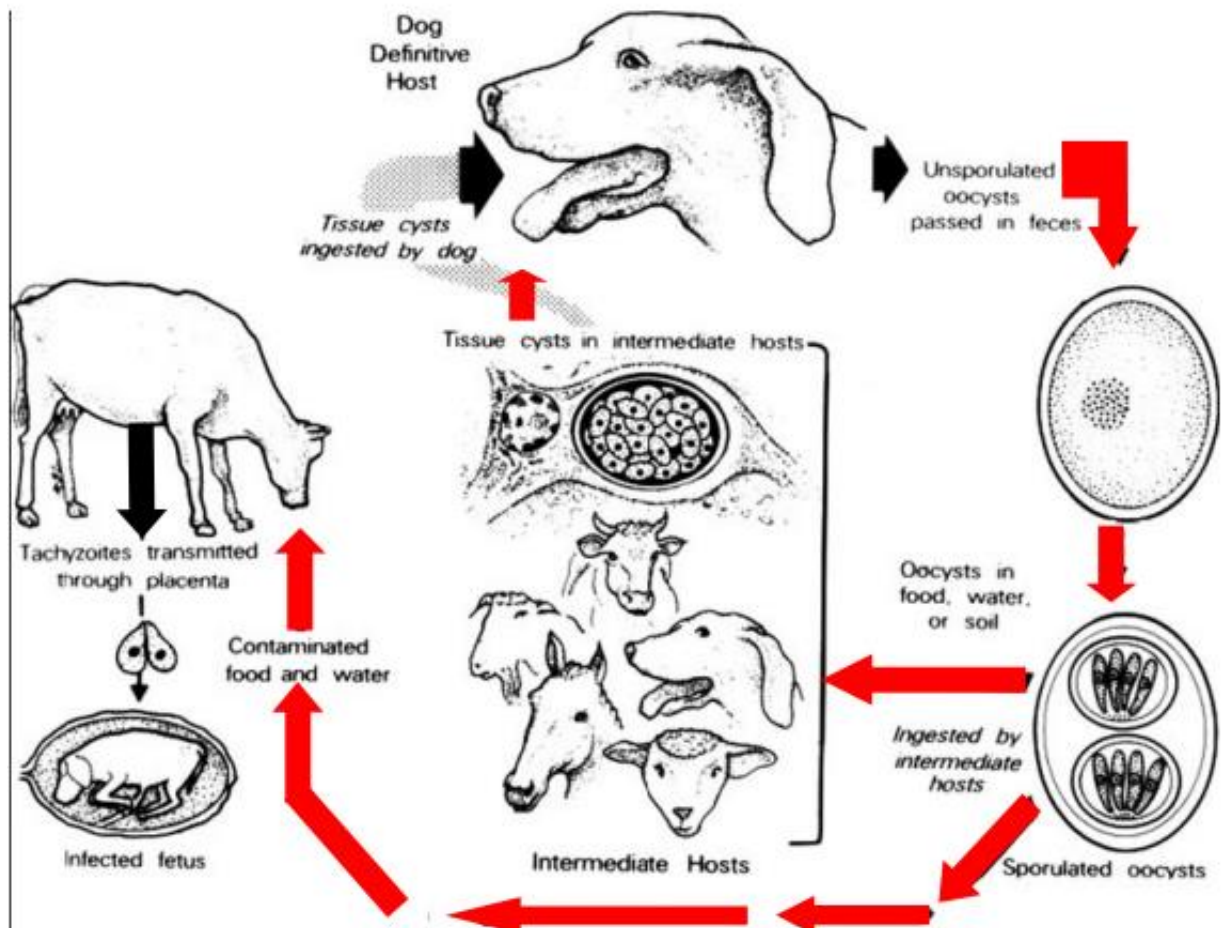
A determinação da ocorrência de algumas doenças infecciosas possibilita avaliar o percentual de animais infectados e de susceptíveis (JUNQUEIRA, ALFIERI, 2006). O perfil sanitário do rebanho é utilizado para apontar problemas na sanidade que interferem nos parâmetros da eficiência reprodutiva. Esses resultados são necessários para a introdução de medidas preventivas nas propriedades leiteiras com o objetivo de melhorar e aumentar a produção de leite do rebanho.

## 2. REFERENCIALTEÓRICO

### 2.1. *Neospora caninum*

*Neospora caninum* pertence ao Reino Protista, Filo Apicomplexa, Classe Sporozoasida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eucoccidiorida, Subordem Eimeriorina, Família Sarcocystidae, Gênero *Neospora*, Espécie *caninum* (LEVINE 1988). O cão doméstico (*canis lupus familiaris*), coiote (*canis latrans*), lobo cinzento (*canis lupus*) e dingo (*canis lupus dingo*) são considerados os hospedeiros

definitivos, onde ocorre o desenvolvimento sexuado do protozoário resultando na eliminação de oocistos nas fezes (MCALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2004; DUBEY et al., 2011; KING et al., 2010), figura 1.



**Figura 1.** Ciclo de vida do *Neospora caninum*  
**Fonte:** DUBEY (2003).

Sinais clínicos encontrados em cães filhotes congenitamente infectados incluem: paresia de membros posteriores, sinais neurológicos, dificuldade para deglutir, paralisia da mandíbula, flacidez e atrofia muscular e até mesmo falência cardíaca (DUBEY, 2003).

É um parasita intracelular que gera problemas reprodutivos, abortamento e perdas econômicas em bovinos no mundo todo (DUBEY, 2003; DUBEY e SCHARES, 2011; REICHEL et al., 2013). Os bovinos são infectados horizontalmente pela ingestão de oocistos ou verticalmente durante a gestação, sendo a transmissão vertical o principal modo de transmissão (PARÉ et al., 1996; MCALLISTER et al., 1998; SCHARES et al., 1998; ANDERSON et al., 2000).

Em rebanhos leiteiros ocorre principalmente a transmissão vertical e o maior risco de abortamento. A transmissão vertical permite que bezerras nasçam infectadas, porém sem qualquer sinal clínico sendo denominadas como persistentemente infectadas. Elas mantem o parasita no tecido e durante a gestação podem transmitir o parasita aos seus descendentes (TREES; WILLIAMS, 2005). Abortos recorrentes também são associados com vacas em lactação (SCHARES et al., 1998; BARTELS et al., 2007; DUBEY et al., 2007). Nascimento et al. (2014) demonstraram 29% de taxa de transmissão vertical de *Neospora caninum* em vacas de corte prenhes naturalmente infectadas além disso, o risco de transmissão vertical foi de 26,25 vezes maior para fêmeas soropositivas.

Títulos de anticorpos contra *N. caninum* em fetos indicam o contato com o protozoário, no entanto, a resposta imunológica depende do estágio de desenvolvimento fetal, do nível de exposição e do tempo entre a infecção e a coleta de sangue (DUBEY, 2003). No Rio Grande do Sul 260 fetos bovinos foram analisados pela Imunofluorescência Indireta e obtiveram 84,6% de soropositivos para IgG e 15% para IgM (CADORE et al., 2010).

No terço final da gestação, o feto é capaz de produzir uma resposta imune diminuindo o impacto da infecção (INNES et al., 2001). O grau de lesão no feto depende da quantidade de parasitas infectantes que podem ocasionar abortamentos ou a geração de bezerros congenitamente infectados. Estes podem se apresentar doentes ou aparentemente saudáveis (MACALDOWIE et al., 2004; MALEY et al., 2003).

Estudos de soroprevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos de várias partes do mundo demonstraram que o parasita está amplamente disseminado com porcentagens diferentes conforme a região analisada, técnica empregada e ponto de corte. No Brasil as prevalências de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos variam de 7,67% a 50,74% (Quadro 1).

Dentre os fatores de risco já estudados estão: idade dos bovinos (DYER et al., 2000; RINALDI et al., 2005; SANDERSON, GAY, BASZLER, 2000), número de gestação (JENSEN et al., 1999), presença e o número de cães na propriedade (BLUMRODER et al., 2006; PARE et al., 1996), presença de canídeos silvestres - coiotes ou raposas (BARLING et al., 2000), densidade populacional alta e grandes rebanhos (BARLING et al., 2000; SCHARES et al., 2004), recria de novilhas próprias (BARLING et al., 2001), efeito do clima sobre a esporulação/sobrevivência de oocistos (RINALDI et al., 2005).

**Quadro 1.** Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos.

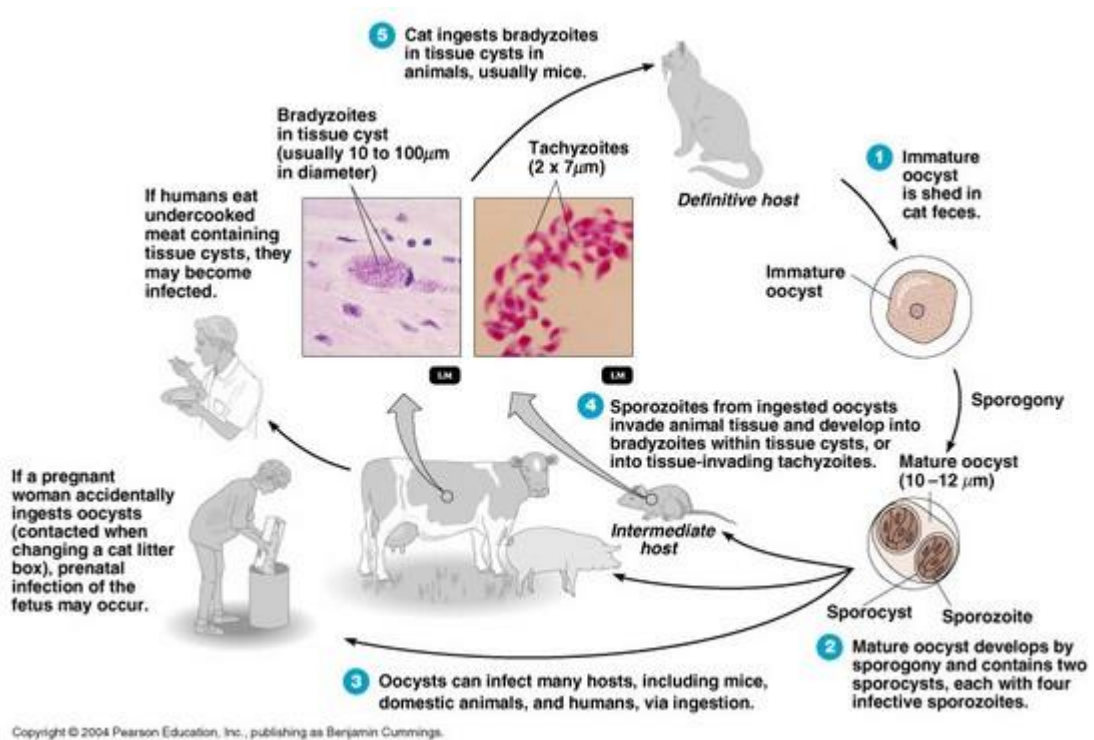
BRASIL					
Local	Técnica	Rebanho	n	Prevalência%	Autor
Alagoas	IFI	Leite	1004	7,67	Souza et al., 2012
Bahia	IFI	Leite	290	23,5	Magalhães et al., 2014
Maranhão	IFI	Leite	812	50,7	Teixeira et al., 2010
Pernambuco	IFI	Leite	469	31,7	Silva et al., 2008
Pernambuco/ Alagoas	IFI	L/C	306	12,6	Amaral et al., 2012
Santa Catarina	ELISA	Leite	120	42,5	Macedo et al., 2013
Paraná	IFI	Leite	385	12	Ogawa et al., 2005
Paraná	IFI	Leite	623	14,3	Guimarães Jr et al., 2004
Mato Grosso	IFI	Corte	205	37,5	Justo et al., 2013
Minas Gerais	IFI	Leite	338	37,0	Santos et al., 2012
Outros países					
Austrália	ELISA	Leite	113	3,8	Nasir et al., 2012
		Corte	810	2,5	
Etiópia	ELISA	Leite	2.334	13,3	Asmare et al., 2013
Canadá	ELISA	-	2.484	5,2	Waldner et al., 2005
Israel	IFI	Leite	1.078	35,5	Mazuz et al., 2014

## 2.2. *Toxoplasma gondii*

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório (DUBEY, BEATTIE, 1988). Pertence ao Reino Protista, Filo Apicomplexa, Classe Sporozoasida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eucoccidiorida, Subordem Eimeriorina, Família Sarcocystidae, Gênero *Toxoplasma*, Espécie única *gondii* (GOODSWEN et al., 2013).

É uma zoonose mundialmente disseminada e pode infectar seres humanos e outros animais de sangue quente (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Os únicos hospedeiros definitivos do *T. gondii* são os felídeos (FRENKEL; DUBEY; MILLER, 1970) onde o parasita realiza a multiplicação enteroepitelial com a produção e eliminação de oocistos pelas fezes sendo estes, resistentes às condições ambientais (DUBEY, 1977), mantendo-se viáveis durante meses ou anos (FRENKEL, 1990). O parasita apresenta três formas infectantes em seu ciclo de vida: esporozoítos, taquizoítos e bradizoítos (MILLER; FRENKEL; DUBEY, 1972).

A infecção é mais prevalente em países de clima quente e úmido do que em regiões secas. Isso, provavelmente ocorre devido às condições favoráveis à esporulação e sobrevivência dos oocistos no meio ambiente (DUBEY; BEATTIE, 1988). As fezes de um felino doméstico podem conter em torno de 10 milhões de oocistos em pico de eliminação. No meio ambiente os oocistos tornam-se infectantes após o período de um a cinco dias, dependendo das condições de umidade e temperatura (DUBEY; BEATTIE, 1988).



**Figura 2** Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*  
**Fonte:** Caribbean Animal Health Network

A infecção pelo *T. gondii* nos herbívoros ocorre principalmente pela ingestão de oocistos provenientes de fezes de gatos infectados, presentes em alimento e solo contaminados (DUBEY, 1986a; DUBEY; BEATTIE, 1988). O sistema de criação extensivo é muito comum no Brasil e parece favorecer a infecção pelo agente nos bovinos (MARANA et al., 1995). Entretanto a transmissão transplacentária natural já foi observada em vacas de corte, porém com taxa de 5,4%, sendo considerada baixa (GARCIA et al., 2012).

A manifestação dos sinais clínicos da toxoplasmose no homem assim como em outros animais depende, principalmente, da resposta imune do hospedeiro infectado e da virulência da cepa de *T. gondii* (AMENDOEIRA; COSTA; SPALDING,

1999). Bovinos embora suscetíveis à infecção, na maioria das vezes não manifestam sinais clínicos, mostrando resistência à doença induzida pelo protozoário, inclusive em condições experimentais (DUBEY, 1986b; DUBEY, THULLIEZ, 1993; ESTEBAN-REDONDO; INNES, 1997).

A resistência à infecção é demonstrada pela baixa frequência de cistos nos músculos e a persistência ocorre por tempo mais curto quando comparada a outras espécies animais (DUBEY, 1994). Entretanto, Dubey, Thulliez, (1993) inocularam oocistos de *T. gondii* em bezerros e encontraram cistos viáveis no músculo em períodos de até 1191 dias após a infecção, além disso, os títulos de anticorpos permaneceram elevados durante dois anos, tornando-se sorologicamente negativo após este período.

Costa et al. (2011) usaram altas doses ( $10^5$ ) de oocistos esporulados para infectar nove vacas prenhes durante os três trimestres de gestação e não observaram aborto ou presença de *T. gondii* nos fetos analisados. A virulência da cepa de *T. gondii* pode afetar a frequência de transmissão congênita. Alguns autores relatam que apesar de ocorrer o isolamento em fetos, o *T. gondii* não é uma importante causa de abortos em bovinos (CANADA et al., 2002; DUBEY, 1983; 1986a).

Estudos que avaliaram a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos no Brasil demonstram que o parasita está amplamente disseminado, embora as porcentagens sejam diferentes conforme a região analisada, a técnica empregada e o ponto de corte, variando entre 1,96 e 48,3% (Tabela 2). Dentre os principais fatores de risco estudados para a infecção pelo *T. gondii* podemos citar histórico de aborto ou natimorto, presença de gatos, contato de gatos com bovinos e com a água de beber, condições de manejo e idade (ALBUQUERQUE et al., 2011; FAJARDO et al., 2013; LOPES et al., 2013).

**Quadro 2.** Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em bovinos.

Local	Técnica	n	Prevalência	Autor
São Paulo/Minas Gerais	IFI	600	49,17	Costa et al., 2001
Rio de Janeiro	IFI	589	14,8	Albuquerque et al., 2005
Rio de Janeiro	IFI	459	1,96	Luciano et al., 2011
Minas Gerais	IFI	1.195	2,68	Fajardo et al., 2013
Paraná	IFI	348	41,4	Daguer et al., 2004
Paraná	IFI	385	26,0	Ogawa et al., 2005
Santa Catarina	IFI	60	48,3	Macedo et al., 2012
Bahia	IFI	600	11,83	Spagnol et al., 2009
Pernambuco	IFI	427	16,63	Guerra et al., 2014

### 2.3. Herpesvirus bovino (BoHV-1)

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) é um DNA vírus pertencente à família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae, gênero Varicellovirus. A partícula viral tem entre 70 a 110 nm de diâmetro e é constituída por um capsídeo icosaédrico, envelope glicoproteico e genoma DNA linear de fita dupla (DAVISON et al., 2009).

É um importante agente infeccioso dos bovinos que ocasiona perdas expressivas na pecuária (PORTERFIELD, 1989; ROIZMAN et al., 1992; HAGE et al., 1996; FAUQUET et al., 2005). O BoHV-1.1 afeta principalmente os tratos respiratório causando a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e o BoHV-1.2 afeta a região genital dos bovinos e causa a Vulvovaginite/Balanopostite Pustular Infecciosa (IPV/IPB) (GIBBS; RWEYEMANN, 1977).

O BoHV-1 tem a habilidade de produzir infecção latente em gânglios sensoriais, podendo ser reativado com tratamentos imunossupressores ou em condições de estresse como o transporte e parição. Essa propriedade do vírus permite a manutenção e expansão da infecção nos rebanhos, mantendo os animais como portadores e transmissores por meio de excreção viral. O vírus em latência não é detectado por análises convencionais e o animal pode excretar o vírus sem apresentar sinais clínicos (ACKERMANN, PETERHANS, WYLER, 1982; PASTORET et al., 1982; ALFIERI, ALFIERI, MEDICI, 1998).

A transmissão indireta do vírus se dá pela ingestão de água e alimentos contaminados com partículas virais e ainda pelo contato sexual durante a

inseminação artificial. Já a transmissão direta ocorre por inalação de aerossóis contaminados ou contato direto com secreções nasais, oculares, genitais e sêmen de animais infectados. Nesse contexto a disseminação do vírus se torna importante em sistema de confinamento (VAN DONKERSGOED, BABIUK, 1991; PHILPOTT, 1993; ENGELS, ACKERMANN, 1996). A Inseminação artificial de vacas com sêmen contaminado pelo BoHV-1 reduz a taxa de concepção e pode causar infertilidade, endometrite, aborto e o desenvolvimento anormal do feto (ELAZHARY et al., 1980). Fetos abortados também podem ocasionalmente transmitir o vírus através das secreções quando são deixados no pasto (GIVENS et al., 2006).

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) encontra-se amplamente disseminado em rebanhos de corte e leite, causando prejuízos econômicos (TAKIUCHI et al., 2001). As prevalências variam entre 20,4 e 84,5% (Tabela 3).

**Quadro 3.** Ocorrência de anticorpos contra BoHV-1 em bovinos.

Local	Técnica	n	Prevalência	Autor
Paraná	SN	1.235	43,7	Médice et al., 2000
Paraná	ELISA indireto	14.803	59,0	Dias et al., 2013
São Paulo	SN	208	68,3	Junqueira et al., 2006
Espírito Santo	SN	772	66,75	Santos et al., 2014
Goiás	SN	660	84,5	Affonso et al., 2010
Maranhão	ELISA indireto	400	69,25	Bezerra et al., 2012
Maranhão	SN	698	63,23	Freitas et al., 2014
Canadá	ELISA indireto	2.512	20,4	Waldner et al., 2005
Equador	ELISA indireto	2.367	43,2	Carbonero et al., 2011

Junqueira et al. 2006 encontraram em 11% dos animais positivos ao BoHV-1 títulos maiores ou iguais a 128, sugerindo infecção recente. Além disso, a ocorrência de 35,6% de repetições de cio; 18,6% de abortamentos e o pior rendimento observado em novilhas sugeriram a provável participação do BoHV-1 no baixo desempenho reprodutivo do rebanho avaliado.

Dias et al. (2008) avaliaram 1930 fêmeas de 295 rebanhos não vacinados contra o BoHV-1 do oeste do Paraná. Foram considerados positivos para o BoHV-1, 190 rebanhos, com a prevalência de 64,41%. Os diferentes resultados de prevalência na literatura ocorrem devido às características regionais e utilização de

programas de sanidade no rebanho, uso de diferentes técnicas de diagnóstico laboratorial e amostragem utilizada (DEL FAVA et al., 2002).

As variáveis encontradas na literatura como sendo associadas à infecção pelo BoHV-1 estão relacionados às características das propriedades e ao manejo, como a compra de reprodutores, idade das fêmeas, uso comum de pastagem, abortamentos, presença de animais silvestres, o retorno ao cio, reposição de animais oriundos de outros estados/região, criação de caprinos/ovinos associados com bovinos (DIAS et al., 2008; FREITAS et al., 2014). O controle da IBR no país é realizado por meio de vacinas com vírus vivo atenuado mutante e termossensível, considerada segura mesmo para vacinação de vacas prenhes (EMBRAPA, 1997).

#### **2.4. Vírus da diarreia viral bovina (BVDV)**

A diarreia viral bovina (BVDV) é provocada por um RNA vírus pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*. Atualmente, são reconhecidas quatro espécies do gênero *Pestivirus*: vírus da Peste Suína Clássica - *Classical swine fever virus* - CSFV, vírus da Doença da Fronteira, de ovinos - *Border disease virus*, BDV, BVDV 1 e o BVDV 2 (ICTV, 2014). A infecção pelo BVDV pode estar associada a diversas manifestações clínicas, além de imunossupressão, doença respiratória, gastrointestinal e reprodutiva (RIDPATH, 2010).

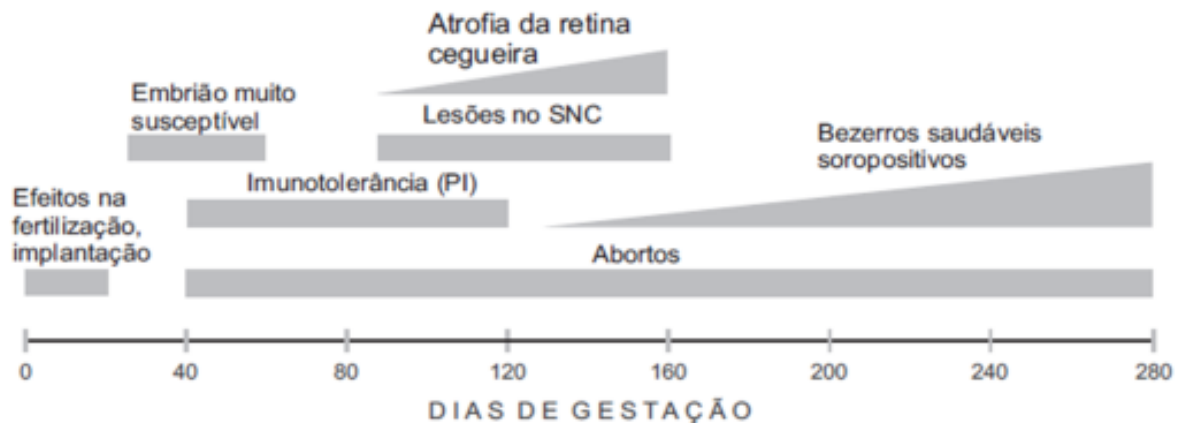
Com base na sua replicação em culturas de células, ou seja, capacidade de produzir efeito citopático em cultivo celular, os isolados de BVDV podem ser classificados em biótipos citopático (CP) e não-citopático (NCP). Os biótipos são grupos de vírus com a mesma constituição genética, porém possuem diferenças na indução de alterações microscópicas visíveis (vacuolização e lise) em cultivos celulares epiteliais *in vitro* (KELLING, 1996; RIDPATH, 2010).

As estirpes NCP apresentam tropismo por leucócitos, órgãos linfóides e pelo trato respiratório, já as estirpes CP estão restritas ao trato digestório (HAMERS et al., 2001). A grande maioria dos vírus de campo são NCP e amostras CP são isoladas quase que exclusivamente de animais acometidos da Doença das Mucosas (DM), uma forma clínica severa da infecção (BROWNLIE 1990, BAKER, 1995, TREMBLAY, 1996).

Num rebanho infectado pelo BVDV, existem duas fontes de infecção: o bovino persistentemente infectado (PI) e o transitoriamente infectado (TI). Animais TI estão

na fase aguda da enfermidade e eliminam o vírus geralmente por poucos dias ou eventualmente semanas e podem promover a permanência do vírus no rebanho na ausência de animais PI (MOERMAN et al., 1993, HOUE, 1994; LINDBERG, HOUE, 2005).

Para gerar animais PI, é necessário que ocorra a infecção do feto bovino com o biótipo NCP antes do desenvolvimento da competência imunológica, período que vai até o 125º dia de gestação (MCCLURKIN et al., 1984, HOUE, 1995) conforme demonstrado na figura 3. Bezerros PI geralmente são soronegativos, podem ser clinicamente normais e excretam o vírus continuamente em grandes quantidades em secreções e excreções por toda a vida (BROWNLIE, 1990, BAKER, 1995). Infecções no final da gestação podem levar ao aborto, malformação fetal, nascimento de bezerros normais e imunocompetentes (RIDPATH, 2010). Embora a prevalência desses animais nos rebanhos seja baixa, variando de 0,5% a 2%, são os principais disseminadores do vírus e responsáveis pela manutenção do BVDV no rebanho, com papel crucial na epidemiologia da doença (HOUE, 1999).



**Figura 3** Patogenia por Vírus da Diarréia Viral Bovina em fêmeas prenhes

**Fonte:** Eduardo Furtado Flores. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria.

A transmissão horizontal do BVDV ocorre por contato direto ou indireto com secreções contaminadas (BROCK et al. 1991, HOUE 1995). A viremia e excreção viral geralmente são transitórias e com baixos títulos durante a infecção aguda, mas podem resultar em transmissão viral. Além da transmissão horizontal, o BVDV é transmitido de forma eficiente através da placenta, resultando em infecção embrionária ou fetal com consequências diversas (BAKER, 1995).

A infecção pelo BVDV tem sido associada a uma ampla variedade de manifestações clínicas: desde infecções inaparentes até doença aguda fatal, porém

as infecções em animais imunocompetentes parecem cursar de forma subclínica. Enfermidade gastroentérica aguda ou crônica, doença respiratória em bezerros, síndrome hemorrágica com trombocitopenia, patologias cutâneas e imunossupressão estão entre as consequências mais frequentes da infecção pelo BVDV (BROWNLIE, 1990, BAKER, 1995).

O vírus desencadeia efeito imunossupressor e com isso torna os animais susceptíveis à outros microorganismos (HOLLAND et al., 1993). A imunossupressão transitória deve-se à replicação do BVDV nos monócitos, nos linfócitos B, nos linfócitos T, nas células epiteliais do trato digestório e do trato respiratório superior (TREMBLAY, 1996; PETERHANS et al., 2003). As infecções podem ser agravadas quando o BVDV se associa com outro agente patogênico. Tem sido bem documentado que uma infecção mista de BVDV com o BoHV-1 produz uma doença mais grave do que só com um dos patógenos (GRIEG et al., 1981, POTGIETER et al., 1984).

No Brasil, estudos sorológicos revelaram que o agente está disseminado por todo o território com altas prevalências. Em Goiás, foram analisadas amostras de 207 animais para a presença de anticorpos contra o BVDV por meio da soroneutralização tendo encontrado 52,17% de positividade (GUIMARÃES et al., 2000). Em Goiás, 3.533 fêmeas bovinas com mais de 24 meses de idade foram testadas pela vírus neutralização obtendo prevalência de 64% de positividade. (ALFAIA et al., 2004). Pesquisadores realizaram um monitoramento em três rebanhos com características diferentes de criação e produção nos estados de São Paulo e Minas Gerais. foram analisados após a primeira colheita 502 animais com 82,86% de soropositividade (DIAS et al., 2012).

Em um estudo realizado em Camarões, 92% dos rebanhos analisados foram soropositivos, com prevalência média intra rebanho de 38% (HANDEL et al., 2011). No Equador, um estudo em 345 rebanhos de bovinos leiteiros não vacinados mostrou que dos 2.367 animais analisados 36,2% dos animais e 74% do rebanho foram sororeagentes (SAA et al., 2012). No Canadá, 2514 vacas foram analisadas pela vírus neutralização obtendo 91,8% de soropositividade (WALDNER et al., 2005). Nos países livres da febre aftosa, a diarreia viral bovina é considerada a enfermidade viral mais importante dos bovinos (FLORES et al., 2005).

O impacto da infecção pelo BVDV em rebanhos leiteiros é rapidamente percebido com a redução da produção leiteira e o aumento da ocorrência de

infecções secundárias ou oportunistas (BROCK, 2004; KOZASA et al., 2005). A aquisição de vacas gestantes de fetos PI é o principal fator de risco associado com a introdução da enfermidade num rebanho (BROCK, 2004). Nas áreas endêmicas com densidade populacional bovina alta, o vírus é disseminado com facilidade e os prejuízos econômicos causados pelo BVDV são considerados moderados e constantes (SANDVIK, 2004).

As vacinas contra o BVDV atualmente utilizadas no Brasil são inativadas, o que induz resposta imunológica essencialmente humoral. Existem dúvidas se as vacinas inativadas estimulariam uma resposta imune capaz de proteger os animais contra o amplo espectro antigênico do BVDV. Estudos desenvolvidos no Brasil demonstram que as vacinas possuem baixa reatividade sorológica cruzada com as cepas norte-americanas utilizadas, devido à diversidade antigênica entre os isolados locais, questionando sobre o grau de proteção conferido por essas vacinas (Flores et al. 2000 e 2005).

## REFERÊNCIAS

- ACKERMANN, M., PETERHANS, E.; WYLER, R. DNA of bovine herpesvirus 1 in trigeminal ganglia of latently infected calves. *American Journal of Veterinary Research*, v.4, p.36-40, 1982.
- AFFONSO, I. B.; AMORIL, J. G.; ALEXANDRINO, B.; BUZINARO, M. G.; MEDEIROS, A. S. R.; SAMARA, S. I. Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) nas dez regiões de planejamento do estado de Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v.11, n.4, p.892-898, 2010.
- ALBUQUERQUE, G. R.; MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T.; ALMEIDA, C. R. R.; MEDEIROS, S. M.; LOPES, C. W. G. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros do Vale do Paraíba Sul Fluminense, Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.14, n.3, p.125-128, 2005.
- ALBUQUERQUE, G. R.; MUNHOZ, A. D.; TEIXEIRA, M.; FLAUSINO, W.; MEDEIROS S. M. M.; LOPES, C. W. G. Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in dairy cattle, State of Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.31, n.4, p.287-290, 2011.
- ALFAIA, B. T., BARBOSA, A. C. V. C., CAIXETA, S. P. M. B., ROCHA, W. V., BRITO, W. M. E. D. Prevalence and risk factors associated with BVDV infection in adult and non-vaccinated bovines females from Goiás, Brazil. *Virus Reviews & Research*, v.9, n.1, p.127, 2004.
- ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F.; MEDICI, K. C. Consequências da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 sobre o sistema reprodutivo de bovinos. *Semina: Ciências Agrárias*, v.19, n.1, p.86-93, 1998.
- AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; SOUZA NETO, O. L.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.32, n.10, p.963-966, 2012.
- AMENDOEIRA, M. R. R.; COSTA, T.; SPALDING, S. M. *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. *Revista Souza Marques*, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 15-29, 1999.
- ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 60, p. 417-443, 2000.
- ASMARE, K.; REGASSA, F.; ROBERTSON, L. J.; SKJERVE, E. Seroprevalence of *Neospora caninum* and associated risk factors in intensive or semi-intensively managed dairy and breeding cattle of Ethiopia. *Veterinary Parasitology*, v.193, p.85-94, 2013.

BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.11, n.3, p.425-445, 1995.

BARLING, K. S.; SHERMAN, M.; PETERSON, M. J.; THOMPSON, J. A.; MCNEILL, J. W.; CRAIG, T. M.; ADAMS, L. G. Spatial associations among density of cattle, abundance of wild canids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.217, p.1361–1365, 2000.

BARLING, K. S.; MCNEILL, J. W.; PASCHAL, J. C.; MCCOLLUM, F. T.; CRAIG, T. M.; ADAMS, L. G.; THOMPSON, J. A. Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA. *Preventive Veterinary Medicine*, v.52, p.53–61, 2001.

BARTELS, C. J. M.; HUININK, I.; BEIBOER, M. L.; VAN SCHAIK, G.; WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; STEGEMAN, A. Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds. *Veterinary Parasitology*, v. 148, n. 2, p.83-92, 2007.

BEZERRA, D. C., CHAVES, N. P., SOUSA, V. E., SANTOS, H. P., PEREIRA, H. M. Fatores de risco associados à infecção pelo Herpesvírus Bovino tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros da região Amazônica Maranhense. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v.79, n.1, p.107-111, 2012.

BLUMRODER, D.; STAMBUSCH, R.; LABOHM, R.; KLAWONN, W.; DRAGER, K.; FASEN, W.; CONRATHS, F. J.; SCHARES, G. Potential risk factors for the serological detection of *Neospora caninum*-infections in cattle herds in Rhineland-Palatinate (Germany). *Tieraerztliche Praxis Ausgabe Grosstiere Nutztiere*, v.34, p.141–147, 2006.

BRASIL. SEBRAE - Serviço Brasileiro de apoio às micro e pequenas empresas. Bovinocultura leiteira Boletim Setorial do Agronegócio, 2010. Acesso em: 22 mar. 2015. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/Anexos/Boletim-Bovinocultura.pdf>

BROCK, K. V., REDMAN, D. R., VICKERS, M. L., IRVINE, N. E. Quantitation of bovine viral diarrhea virus in embryo transfer flush fluids collected from a persistently infected heifer. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.3, p.99-100, 1991.

BROCK, K.V. The many faces of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.20, n.1, p.1-3, 2004.

BROWNLIE, J. The pathogenesis of bovine viral diarrhea virus infections. *Revue Scientifique et Technique OIE*, v.9, p.43-59, 1990.

CADORE, G. C.; VOGEL, F. S. F.; SANGIONI, L. A.; PENA, H. F. J.; GENNARI, S. M. IgM e IgG como marcadores da infecção transplacentária por *Neospora caninum* em fetos bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.7, p.551-553, 2010.

CANADA, N.; MEIRELES, C. S.; ROCHA, A.; DA COSTA, J. M.; ERICKSON, M. W.; DUBEY, J. P. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. *Journal of Parasitology*, v.88, n.6, p.1274-1248, 2002.

CARBONERO, A., SAA, L. R., JARA, D. V., GARCÍA-BOCANEGRA, I., ARENAS, A., BORGE, C., PEREA, A. Seroprevalence and risk factors associated to Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) infection in non-vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. *Preventive Veterinary Medicine*, v.100, p.84–88, 2011.

CARIBBEAN ANIMAL HEALTH NETWORK, 2011. Acesso em: 18 jan. 2015. Disponível em: <http://www.caribvet.net/en/diseases/toxoplasmosis>.

COSTA, G. H. N., COSTA, A. J., LOPES, W. D. Z., BRESCIANI, K. D. S., SANTOS, T.R., ESPER, C. R., SANTANA, A. E. *Toxoplasma gondii*: Infection natural congenital in cattle and an experimental inoculation of gestating cows with oocysts. *Experimental Parasitology*, v.127, n.1, p.277-281, 2011.

DAVISON, A. J.; EBERLE, R.; EHLERS, B.; HAYWARD, G. S.; MCGEOCH, D. J.; MINSON, A. C.; PELLETT, P. E.; ROIZMAN, B.; STUDDERT, M. J.; THIRY, E. The order *Herpesvirales*. *Archives of Virology*, v.154, p.171–177, 2009.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; D' ANGELINO, J. L. Herpesvírus Bovino tipo 1 (HVB-1): revisão e situação atual no Brasil. *Revista de Educação Continuada, São Paulo*, v.5, p.300-312, 2002.

DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; MÉDICI, K. C., FREITAS, J. C.; FERREIRA NETO, J. S.; MÜLLER, 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*, 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*, v.60, p.39–47, 2013.

DUBEY, J. P. *Toxoplasma*, *Hammondia*, *Besnoitia*, *Sarcocystis*, and other tissue cystforming coccidian of man and animals. In: KREIER, J. P. (Ed.). *Parasitic protozoagregarines, haemogregarines, coccidian, Plasmodia and haemoproteids*. New York: Academic Press, v.3, p.101-237, 1977.

DUBEY, J. P. Distribution of cysts and tachyzoites in calves and pregnant cows inoculated with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Veterinary Parasitology*, v.13, p.199-211, 1983.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.189, n.2, p.166-170, 1986a.

DUBEY, J. P. A review of toxoplasmosis in cattle. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 22, n. 3-4, p. 177-202, 1986b.

DUBEY, J. P., BEATTIE, C.P. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. CRC Press, Inc, Boca Raton, Flórida, 220p 1988.

DUBEY, J.P. e THULLIEZ, P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *American Journal Veterinary Research*. v.54, n.3, p.270-273, 1993.

DUBEY, J. P. *Toxoplasmosis*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.205, n.11, p.1593-1598, 1994.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean Journal of Parasitology*, v. 41, p. 1-16, 2003.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical microbiology reviews*, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2007.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals - The last five years. *Veterinary Parasitology*, v. 180, p. 90–108, 2011.

DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; RAJENDRAN, C.; MISKA, K.; FERREIRA, L. R.; MARTINS, J.; KWOK, O. C. H.; CHOUDHARY, S. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, v.181, p.382–387, 2011.

DYER, R. M.; JENKINS, M. C.; KWOK, O. C. H.; DOUGLAS, L. W.; DUBEY, J. P. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Veterinary Parasitology*, v.90, p.171–181, 2000.

ELAZHARY, M. A. S. Y., LAMOTHE, P., SILIM, A., ROY, R. S. Bovine Herpesvirus type 1 in the sperm of a bull from a herd with fertility problems. *The Canadian Veterinary Journal* , v.21, n.2, p.336-339, 1980.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Doenças da reprodução em bovinos no Pantanal: Ocorrência de animais soropositivos para os vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, Diarréia Bovina à Vírus e Língua Azul. Comunicado técnico, n.20, p.1-7, 1997.

ENGELS, M.; ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminant herpesviruses infections. *Veterinary Microbiology*, v.53, p.3-15, 1996.

ESTEBAN-REDONDO, I.; INNES, E.A. *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle. *Comparative Immunology Microbiology & Infectious Disease*, v.20, n.2, p.191-196, 1997.

FAJARDO, H. V.; D'ÁVILA, S.; BASTOS, R. R.; CYRINO, C. D.; DETONI, M. L.; GARCIA, J. L.; NEVES, L. B.; NICOLAU, J. L.; AMENDOEIRA, M. R. R. Seroprevalence and risk factors of toxoplasmosis in cattle from extensive and semi-intensive rearing systems at Zona da Mata, Minas Gerais state, Southern Brazil. *Parasites & Vectors*. V.6, 2013. Acesso em: 31 jan. 2015. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/6/1/191>

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. Countries by commodity. Top production – milk, whole fresh cow – 2012. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 10 jan. 2015.

FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L. A. (Ed.). *Virus taxonomy, viiith report of the international committee on taxonomy of viruses*. London: Elsevier/Academic Press, p.757-778, 2005.

FLORES, E. F.; GIL, L. H. V.; BOTTON, S. A.; WEIBLEN, R.; RIDPATH, J. L.; KREUTZ, L. C.; PILATI, C.; DRIEMEIER, D.; MOOJEN, V.; WENDELSTEIN, A. C. Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. *Veterinary Microbiology*, v.77, p.175-183, 2000.

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*, v.25, n.3, p.125-134, 2005.

FREITAS, E. J. P.; LOPES, C. E. R.; MOURA FILHO, J. M.; SÁ, J. S.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v.35, n.3, p.1301-1310, 2014.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science, Washington*, v.167, n. 919, p.893-896, 1970.

FRENKEL, J. K. Toxoplasmosis in human beings. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 196, n. 2, p. 240-248, 1990.

GARCIA, J. L.; MARQUES, F. A. C.; VIDOTTO, O.; NAVARRO, I. T.; MARTINS, G. F.; ZULPO, D. L.; CUNHA, I. A. L.; TARODA, A.; CARDIM, S. T.; EWALD, M. P. C. Sero-occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and vertical transmission in slaughtered beef cows (*Bos indicus*). *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v.33, n.3, p.1095-1102, 2012.

GIBBS, E. P. J.; RWEYEMANN, M. M. Bovine herpesviruses. Part I. Bovine herpesvirus 1. *Veterinary Bulletin, Farnham Royal*, v. 47, n. 5, 1977.

GIVENS, M. D.; STRINGFELLOW, D. A.; RIDDELL, K. P.; GALIK, P. K.; CARSON, R. L.; RIDDELL, M. G.; NAVARRE, C. B. Normal calves produced after transfer of in vitro fertilized embryos cultured with an antiviral compound. *Theriogenology*, v.65, p.344–355, 2006.

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v. 34, n. 2, p.159-161, 2004.

GOODSWEN, S. J.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. A review of the infection, genetics and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. *Infection Genetics and Evolution*, v.13, p.133-150, 2013.

GRIEG, A., GIBSON, I. R., NETTLETON, P. F., HERRING, J. A. Disease outbreak in calves caused by a mixed infection with infectious bovine rhinotracheitis virus and bovine virus diarrhoea virus. *Veterinary Records*, v.108, n.22, p.480, 1981.

GUERRA, N. R.; ALVES, B. H. L. S.; FARIAS, M. P. O.; MOTA, R. A.; ALVES, L. C. Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in bovines in the state of Pernambuco, Brazil. *Brazilian Journal Veterinary Parasitology*, Jaboticabal, v.23, n.3, p.417-419, 2014.

GUIMARÃES, P. L. S. N., CHAVES, N. S T., DA SILVA, L. A. F., ACYPRESTE, C. S. Frequência de anticorpos contra o vírus da Diarreia 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.

GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.124, p.1-8, 2004.

HAGE, J. J.; SCHUKKEN, Y. H.; BARKEMA, H. W. Population dynamics of bovine herpes 1 infection in a dairy herd. *Veterinary Microbiology*, v. 53, p. 317-343, 1996.

HAMERS, C.; DEHAN, P.; COUVREUR, B.; LETELLIER, C.; KERKHOFS, P.; PASTORET, P. P. Diversity among bovine pestiviruses. *The Veterinary Journal*, v.161, n.2, p.112-122, 2001.

HANDEL, I. G., WILLOUGHBY, K., LAND, F., KOTERWAS, B., MORGAN, K. L., TANYA, V. N., BRONSVOORT, B. M. C. Seroepidemiology of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) in the Adamawa Region of Cameroon and Use of the SPOT Test to Identify Herds with PI Calves. *PLoS ONE*, v.6, n.7, 2011.

HOLLAND, R. E., BEZEK, D. M., SPRECHER, D. J., PATTERSON, J. S., STEFICEK, B. A., TRAPP, A. L. Investigation of an epizootic of bovine viral diarrhoea virus infection in calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.202, n.11, p.1.849-1.854, 1993.

HOUE, H. Bovine virus diarrhoea virus: detection of Danish dairy herds with persistently infected animals by means of a screening test of ten young stock. *Preventive Veterinary Medicine*, v.19, n.3-4, p.241- 248, 1994.

HOUE, H. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.11, n.3, p.521-547, 1995.

HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Veterinary Microbiology*, v.64, n.2-3, p.89-107, 1999.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário, 2006. Rio de Janeiro, p.1-146, 2006. Acesso em: 22 jan. 2015. Disponível em: <file:///C:/Users/Fernanda/Desktop/2006,%20Censo%20Agropecu%C3%A1rio.pdf

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Pecuária, 2014. Acesso em: 21 jan. 2015. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201403\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201403_publ_completa.pdf)>

ICVT. International Committee on Taxonomy of Viruses. Acesso em: 20 jul.2015. Disponível em: <http://www.ictvonline.org>.

INNES, E. A.; WRIGHT, S. E.; MALEY, S.; RAE, A.; SCHOCK, A.; KIRVAR, E.; BARTKEY, P.; HAMILTON, C.; CAREY, I. M.; BUXTON, D. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *International Journal for Parasitology*, v. 31, p.1523-1534, 2001.

IPARDES. Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. Caracterização Socioeconômica da atividade leiteira do Paraná, 2009. Curitiba: 29 p. Acesso em: 21 jan. 2015. Disponível em: <[http://www.ipardes.gov.br/biblioteca/docs/sumario\\_executivo\\_atividade\\_leiteira\\_parana.pdf](http://www.ipardes.gov.br/biblioteca/docs/sumario_executivo_atividade_leiteira_parana.pdf)>

JENSEN, A. M.; BJORKMAN, C.; KJELDSEN, A. M.; WEDDERKOPP, A.; WILLADSEN, C.; UGGLA, A.; LIND, P. Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v.40, p.151–163, 1999.

JUNQUEIRA, J. R.; ALFIERI, A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. *Semina: Ciências Agrárias*, v.27, n.2, p.289-298, 2006.

JUNQUEIRA, J. R. C.; FREITAS, J. C.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com o BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.27, n.3, p.471-480, 2006.

JUSTO, R. V.; MANFIO, J. B.; GALHARDO, J. A.; GARCIA, J. L.; CAMPOS, A. K. Inquérito soro-epidemiológico sobre neosporose bovina no norte do estado de Mato Grosso, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.34, n.6, p.3897-3902, 2013.

KEELING, C. L. Planning bovine viral diarrhoea virus vaccination programs. *Veterinary Medicine*, v.91, n.9, p.873-877, 1996.

KING, J. S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D. J.; AL-QASSAB, S. E.; ELLIS, J. T.; WINDSOR, P. A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v.40, p.945–950, 2010.

KOEHLER, J. C. Caracterização da bovinocultura de leite no Estado do Paraná. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento – SEAB. 2000. Acesso em: 21 jan, 2015. Disponível em: <<http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/cultura3.pdf>>

KOZASA, T.; TAJIMA, M.; YASUTOMI, I.; SANO, K.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Relationship of bovine viral diarrhoea virus persistent infection to incidence of diseases on dairy farms based on bulk tank milk test by RT-PCR. *Veterinary Microbiology*, v.106, n.1, p.41-47, 2005.

LEVINE, N. D. Progress in Taxonomy of the Apicomplexan Protozoa. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v.35, p.518–520, 1988.

LINDBERG, A.; HOUE, H. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance for control. *Preventive Veterinary Medicine*, v.72, n.1-2, p.55-73, 2005.

LOPES, A. P.; DUBEY, J. P.; NETO, F.; RODRIGUES, A.; MARTINS, T.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the North of Portugal for human consumption. *Veterinary Parasitology*, v.193, p.266–269, 2013.

LUCIANO, D. M.; MENEZES, R. C.; FERREIRA, L. C.; NICOLAU, J. L.; NEVES, L. B.; LUCIANO, R. M.; DAHROUG, M. A. A.; AMENDOEIRA, M. R. R. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cattle and pigs slaughtered, State of Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal*, v.20, n.4, p.351-353, 2011.

MACALDOWIE, C.; MALEY, S. W.; WRIGHT, S.; BARTLEY, P.; ESTEBAN-REDONDO, I.; BUXTON, D.; INNES, E. A. Placental pathology associated with fetal death in cattle inoculated with *Neospora caninum* by two different routes in early pregnancy. *Journal of Comparative Pathology*, v. 131, p. 142-156, 2004.

MACEDO, M. F. S. B.; MACEDO, C. A. B.; EWALD, M. P. C.; MARTINS, G. F.; ZULPO, D. L.; CUNHA, I. A. L.; TARODA, A.; CARDIM, S. T.; SU, C.; GARCIA, J. L. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from pregnant dairy cows (*Bos taurus*) slaughtered. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal*, v.21, n.1, p.74-77, 2012.

MACEDO, C. A. B., MACEDO, M. F. S. B., CARDIM, S. T., PAIVA, M. C. D. C., TARODA, A., BARROS, L. D., CUNHA, I. A. L., ZULPO, D. L., GARCIA, J. L. *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered dairy cows (*Bos taurus*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal*, v.22, n.1, p.13-17, 2013.

MAGALHÃES, V. C. S., OLIVEIRA, U. V., COSTA, S. C. L., SANTOS, I. A., PEREIRA, M. J. S., MUNHOZ, A. D. Transmission paths of *Neospora caninum* in a dairy herd of crossbred cattle in the northeast of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.202, p.257–264, 2014.

MALEY, S. W.; BUXTON, D.; RAE, A. G.; WRIGHT, S. E.; SCHOCK, A.; BARTLEY, P. M.; ESTEBAN-REDONDO, I.; SWALES, C.; HAMILTON, C. M.; SALES, J.; INNES, E. A. The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: inoculation at mid-gestation. *Journal of Comparative Pathology*, v. 129, p. 186-195, 2003.

MARANA, E.R.M.; VENTURINI, A. C. H.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em rebanhos de bovinos de leite no norte do Paraná-Brasil. *Semina*, v.16, p.40-42, 1995.

MAZUZ, M. L.; FISH, L.; REZNIKOV, D.; WOLKOMIRSKY, R.; LEIBOVITZ, B.; SAVITZKY, I.; GOLENSER, J.; SHKAP, V. Neosporosis in naturally infected pregnant dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, v.205, p.85–91, 2014.

MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Rapid communication: dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v.28, p.1473–1479, 1998.

MCCLURKIN, A. W.; LITLEDIKE, E. T.; CUTLIP, R. C.; FRANK, G. H.; CORIA, M. F.; BOLIN, S. R. Production of cattle immunotolerant to BVD virus. *Canadian Journal of Comparative Medicine* v.48, n.2, p.156-161, 1984.

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.

MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P. Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals and birds. *Journal of Parasitology*, Lawrence, v.58, n.5, p.928-937, 1972.

MOERMAN, A., STRAVER, P. J., JONG, M. C. M., QUAK, J., BAANVINGER, T., VAN OIRSCHOT, J. T. A long term epidemiological study of bovine viral diarrhoea infections in a large herd of dairy cattle. *The Veterinary Record*, v.132, n.25, p.622-626, 1993.

NASCIMENTO, E. E.; SAMMI, A. S.; SANTOS, J. R.; NINO, B. S. L.; BOGADO, A. L. G.; TARODA, A.; VIDOTTO, O.; GARCIA, J. L. Anti-*Neospora caninum* antibody detection and vertical transmission rate in pregnant zebu beef cows (*Bos indicus*): *Neospora caninum* in pregnant beef cows (*Bos indicus*). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v.37, p.267–270, 2014.

NASIR, A.; LANYONA, S. R.; SCHARES, G.; ANDERSON, M. L.; REICHEL, M. P. Sero-prevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in South Australian beef and dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, v.186, p.480– 485, 2012.

OGAWA, L.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; GONDIM, L. F. P.; NAVARRO, I. T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, n.3, p.312-316, 2005.

PARE, J.; THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calf hood mortality. *Canadian Journal Veterinary Research*, v. 60, p.133–139, 1996.

PASTORET P.; THIRY E.; BROCHIER B.; DERBOVER B. Bovid Herpesvirus 1 infection of cattle pathogenesis, latency, consequences of latency. *Annals of Veterinary Research, Paris*, v.13, n.3, p.221-235, 1982.

PETERHANS, E.; JUNGI, T.W.; SCHWEIZER, M. BVDV and innate immunity. *Biologicals*, v.31, n.2, p.107-112, 2003.

PHILPOTT, M. The dangers of disease transmission by artificial insemination and embryo transfer. *British Veterinary Journal*, v.149, n.4, p.339-369, 1993.

PORTERFIELD, J. S. Andrewes' viruses of vertebrates. 5th ed. London: Baillière Tindall, 457 p, 1989.

POTGIETER, L. N. D., MCCRACKEN, M. D., HOPKINS, F. M., WALKER, R. D. Effect of bovine viral diarrhea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *American Journal of Veterinary Research*, v.45, p.687-690, 1984.

REICHEL, M. P.; ALEJANDRA AYANEGUI-ALCERRECA, M.; GONDIM, L. F.; ELLIS, J. T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – the billion dollar question. *International Journal for Parasitology*, v.43, p.133–142, 2013.

RIDPATH, J. F. Bovine Viral Diarrhea Virus: Global status. *Veterinary Clinics of North America., Food Animal Practice*, v.26, n.1, p.105-121, 2010.

RINALDI, L.; FUSCO, G.; MUSELLA, V.; VENEZIANO, V.; GUARINO, A.; TADDEI, R.; CRINGOLI, G. *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems. *Veterinary Parasitology*, v.128, p.219–230, 2005.

ROIZMAN, B.; DESROSIERS, R. C.; FLECKENSTEIN, B.; LOPEZ, C.; MINSON, A. C.; STUDDERT, M. J. The family herpesviridae: an update. The herpesvirus study group of the international committee on taxonomy of viruses. *Archives of Virology, Germany*, v.123, n.3-4, p.425-490, 1992.

SAA, L. R., PEREA, A., BOCANEGRA, I. G., ARENAS, A. J., JARA, D. V., RAMOS, R., CARBONERO, A. Seroprevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in non-vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. *Tropical Animal Health Production*, n.44, p.645–649, 2012.

SANDERSON, M. W.; GAY, J. M.; BASZLER, T.V. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Veterinary Parasitology*, v.90, p.15–24, 2000.

SANDVIK, T. Progress of control and prevention programs for bovine viral diarrhoea virus in Europe. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.20, n.1, p.151-169, 2004.

SANTOS, R. R. D.; ROCHA, C. M. B. M.; GONÇALVES, T. M.; GUIMARÃES, A. M. Quantification of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cows in Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal*, v.21, n.3, p.294-297, 2012.

SANTOS, M. R., FERREIRA, H. C. C., SANTOS, M. A., SARAIVA, G. L., TAFURI, N. F., SANTOS, G. M., TOBIAS, F. L., MOREIRA, M. A. S., ALMEIDA, M. R., SILVA JÚNIOR, A. Antibodies against Bovine herpesvirus 1 in dairy herds in the state of Espírito Santo, Brasil. *Revista Ceres, Viçosa*, v.61, n.2, p.280-283, 2014

SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F. J. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Veterinary Parasitology*, v. 80, n.2, p.87-98, 1998.

SCHARES, G.; BARWALD, A. B.; STAUBACH, C.; ZILLER, M.; KLOSS, D.; SCHRODER, R.; LABOHM, R.; DRAGER, K.; FASEN, W.; HESS, R.G.; CONRATHS, F.J. Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers. *Parasitology*, v.129, p.301–309, 2004.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Caracterização da bovinocultura de leite no estado do Paraná, 2000. Acesso em: 21/01/2015. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/cultura3.pdf>

SILVA, L. A. F.; COELHO, K. O.; MACHADO, P. F.; SILVA, M. A. M.; MARIA IVETE MOURA, M. I.; BARBOSA, V. T.; BARBOSA, M. M.; GOULART, D. S. Causas de descarte de vacas da raça Holandesa confinadas em uma população de 2.083 bovinos (2000–2003). *Ciência Animal Brasileira*, v.9, n.2, p.383-389, 2008.

SOUSA, M. E.; PORTO, W. J. N.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SOUZA NETO, O. L.; FARIA, E. B.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; 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*, v.32, n.10, p.1009-1013, 2012.

SPAGNOL, F. H.; PARANHOS, E. B.; OLIVEIRA, L. L. S.; MEDEIROS, S. M.; LOPES, C. W. G.; ALBUQUERQUE, G. R. Prevalence of antibodies anti-*Toxoplasma gondii* in slaughtered cattle at stockyards in the State of Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal*, v.18, n.2, p.42-45, 2009.

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

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*, v.30, n.9, p.729-734, 2010.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, Oxford, v. 30, n. 12-13, p. 1217-1258, 2000.

TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitology*, v.21, p.558–561, 2005.

TREMBLAY, R. Transmission of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Medicine*, v.91, n.9, p.858-866, 1996.

VAN DONKERSGOED, J.; BABIUK, L.A. Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary Medicine*, v.86, n.1, p.86-94, 1991.

VOLPI, R.; DIGIOVANI, M. S.C. Aspectos econômicos da produção e dados estatísticos. FAEP - Federação da Agricultura do Estado do Paraná. Boletim Informativo nº 997, semana de 24 a 30 de março de 2008. Acesso em: 21. jan. 2015. Disponível em: <<http://www.faep.com.br/boletim/bi997/encarte/encbi997pag02.htm>>

WALDNER, C. L. Serological status for *N. caninum*, bovine viral diarrhea virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. *Animal Reproduction Science*, v.90, p.219–242, 2005.

### 3. OBJETIVOS

#### OBJETIVO GERAL

Determinar as soroprevalências e as características epidemiológicas do *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, Herpesvírus Bovino e Vírus da Diarreia Viral Bovina em propriedades de bovinocultura leiteira do noroeste do estado do Paraná.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar a presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* pelo teste sorológico de Imunofluorescência indireta;

Verificar a presença de anticorpos IgG anti-BoHV-1 e anti-BVDV por meio da técnica de Vírus neutralização;

Verificar os fatores ambientais e de manejo associados à presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, anti-*Neospora caninum*, anti-BVDV e anti-BoHV1.

Associar as variáveis epidemiológicas com a soropositividade aos agentes estudados.

#### 4. ARTIGO

### SOROEPIDEMIOLOGIA DE AGENTES ASSOCIADOS ÀS DOENÇAS REPRODUTIVAS EM BOVINOS LEITEIROS DO NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

### SEROEPIDEMIOLOGY OF AGENTS ASSOCIATED TO REPRODUCTIVE DISEASES IN DAIRY CATTLE FROM NORTHWESTERN OF PARANA STATE, BRAZIL

#### RESUMO

Os problemas reprodutivos são os principais motivos para o descarte de animais em rebanhos leiteiros, pois aumenta o intervalo entre parto, reduz o número de nascimentos e com isso a produção. O objetivo desse estudo foi determinar a soroprevalência e fatores associados ao *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, BoHV-1 e BVDV em animais com histórico de problemas reprodutivos de propriedades de bovinocultura leiteira do noroeste do estado do Paraná. Foram coletadas amostras de sangue de 363 fêmeas em idade reprodutiva, não vacinadas contra BoHV-1 e BVDV, que pertenciam a 32 propriedades leiteiras que apresentaram problemas reprodutivos de cinco cidades da região Noroeste do Paraná. Foi preenchido um questionário epidemiológico por propriedade com variáveis associadas à infecção para os agentes pesquisados. Para a titulação de anticorpos foram utilizadas a imunofluorescência indireta (IFI) para *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* e vírus neutralização (VN) para Herpesvírus Bovino tipo 1 e vírus da Diarreia Viral Bovina. Dos 363 animais analisados, 48 (13,2%) foram soropositivos para *T. gondii*, 93 (25,6%) para *N. caninum*, 216 (59,5%) para BoHV-1 e 156 (43%) para BVDV. Sessenta e oito (18,7%) animais foram simultaneamente reagentes ao BoHV-1 e BVDV, 10 (2,8%) ao *N. caninum* e *T. gondii* e 42 (11,6%) animais apresentaram soropositividade à múltiplos agentes. Dois (0,6%) animais foram soropositivos à todos os agentes e 68 (18,7%) foram soronegativos aos quatro agentes estudados. Das 32 propriedades estudadas, 62,5% apresentaram pelo menos um animal reagente ao *T. gondii*, 81,3% ao *N. caninum*, 93,8% para o BoHV-1 e 90,6% para BVDV. Na análise estatística verificou-se associação significativa entre a raça holandesa e a ocorrência de infecção por *T. gondii*. As variáveis, casos de abortamento na propriedade e condições precárias das instalações para os bovinos e foram associadas à infecção pelo BoHV-1. Para BVDV a variável aluguel de pasto foi associada à infecção enquanto que a presença de piquetes de parição apresentou proteção à infecção ao BVDV. A presença de BoHV-1 foi associada a infecção por BVDV ( $p < 0,0003$ ; OR=2,27; IC 95%; 1,46 - 3,53). *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV estão presentes no ambiente das propriedades estudadas, sendo que dentre a exposição à múltiplos agentes, ocasionadas pela associação de vírus e protozoários, foram mais frequentes entre o *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV. Assim os problemas reprodutivos destas propriedades podem ser decorrentes dos agentes infecciosos encontrados.

**Palavras-Chave:** *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1, BVDV, diagnóstico.

## ABSTRACT

Disease problems are the main reason for animal disposal in dairy herds because it increases the interval between births, reduces the numbers of birth and consequently the production. The aim of the present study was determine the seroprevalence and factors associated to *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, Bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) and Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in dairy cattle farms with history of reproductive disorders from northwestern of Paraná state. Blood samples of 363 females in reproductive age, unvaccinated against BoHV-1 and BVDV, that showed reproductive problems were collected from 32 farms of 5 regions in the northwestern of Paraná. An epidemiologic survey was applied for each farm with variables associated with infections to the researched agents. Indirect immunofluorescence (IFI) was used to quantify the antibodies against *T. gondii*, *N. caninum* and virus neutralization (VN) for BoHV-1 and BVDV. From 363 analyzed animals, 48 (13.2%) were seropositive to *T. gondii*, 93 (25.6%) to *N. caninum*, 216 (59.5%) to BoHV-1 and 156 (43%) to BVDV. A total of 68 (18.7%) animals were positive both to BoHV-1 and BVDV, 10 (2.8%) to *N. caninum* and *T. gondii* and 42 (11.6%) animals had positive results to multiple agents. Two (0.6%) animals were seropositive and 68 (18.7%) were seronegative to the four studied agents. From of 32 studied farms, 62.5% showed at least one animal positive to *T. gondii*, 81.3% to *N. caninum*, 93.8% to BoHV-1 and 90.6% to BVDV. Statistical analysis showed a significant association between Holstein cattle and the occurrence of infection to *T. gondii*. The variables, abortion in the farm and poor installations conditions to cattle were associated to BoHV-1 infection. For BVDV, the variable renting of pasture was associated to infection and the variable calving paddock was considered as a protection factor. BoHV-1 was associated to BVDV infection  $p < 0,0003$ ; OR=2,27; IC 95%; 1,46 - 3,53). *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1 and BVDV are present in the environment of the studied farms and multiple infections, caused by association of virus and protozoa, *N. caninum*, BoHV-1 and BVDV were more frequent. Thus, the reproductive problems from these farms can be due to the agents found.

**Keywords:** *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1, BVDV, diagnosis.

## INTRODUÇÃO

O rebanho leiteiro brasileiro é o maior rebanho comercial do mundo e em 2012 o país ocupou o quarto lugar na produção de leite (BRASIL, 2010; FAO, 2012; KOEHLER, 2000). No terceiro trimestre de 2014, a região sul do Brasil apresentou a maior produção de leite e o estado do Paraná comercializou nesse mesmo período 776.856 mil litros de leite (IBGE, 2014).

O Paraná é dividido em quatro níveis diferentes de tecnologia empregada, divididos em quatro sistemas que diferem no volume de leite produzido e o mecanismo para a manutenção dessa produção. O sistema I abrange 84% das propriedades paranaenses com baixas taxas de produtividade. Apresentam em média 10 animais de raça não especializada em lactação, manejo extensivo com alimentação em pastagens perenes de verão, cobertura por monta natural e a ordenha é manual com a utilização de mão-de-obra familiar. O Noroeste do estado do Paraná está inserido nesse sistema (PARANÁ, 2000).

Os problemas reprodutivos de origem infecciosa são um dos principais motivos para o descarte de animais em rebanhos leiteiros. Independentemente da causa, o resultado final será o menor número de nascimentos e o maior intervalo entre partos, o que reduz a receita, pois, há a diminuição da produção e o aumento dos custos da atividade (JUNQUEIRA, ALFIERI, 2006; SILVA et al., 2008).

A descrição simultânea de alguns agentes bacterianos, virais e protozoários, em bovinos, foi associada às doenças reprodutivas de diferentes regiões geográficas do Brasil (HEADLEY et al., 2015). Entretanto, descrições da ocorrência simultânea da soropositividade por *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, Herpesvírus bovino e Vírus da Diarreia Viral Bovina e estudos de prevalência aos mesmos agentes em bovinos leiteiros, tanto no noroeste do estado do Paraná quanto em outras regiões, não foram encontradas na literatura.

O Herpesvírus bovino (BoHV-1) tem a capacidade de permanecer em latência nos gânglios sensoriais e pode ser reativado quando o animal é submetido a fatores externos estressantes (ACKERMANN, PETERHANS, WYLER, 1982). A prevalência de anticorpos anti-BoHV-1 estudada em bovinos de algumas regiões do Brasil varia de 43,7 a 84,5% (AFFONSO et al., 2010; BEZERRA et al., 2012; FREITAS et al., 2014; JUNQUEIRA et al., 2006; MÉDICE et al., 2000; SANTOS et al., 2014). O BVDV induz imunossupressão durante a replicação viral no animal, favorecendo o

aumento da patogenicidade de outros microorganismos (HOLLAND et al., 1993; PETERHANS et al., 2003; TREMBLAY, 1996). As prevalências encontradas em alguns estados do Brasil variaram de 52,1 a 82,8 (ALFAIA et al., 2004; DIAS et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2000).

Na infecção por *N. caninum* fatores como mudanças de manejo, infecções concomitantes e alterações no estado imunitário desempenham importante papel predisponente na indução do aborto (ÁLVAREZ-GARCIA, 2003). A presença de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos no Brasil varia de 7,67% a 50,74% (AMARAL et al., 2012; JUSTO et al., 2013; MACEDO et al., 2013; MAGALHÃES et al., 2014; SANTOS et al., 2012; SOUZA et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2010). Na toxoplasmose, a manifestação dos sinais clínicos depende, principalmente, da resposta imune do hospedeiro infectado e da virulência da amostra de *T. gondii* (AMENDOEIRA; COSTA; SPALDING, 1999). A prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos no Brasil varia de 1,96 e 48,3% (ALBUQUERQUE et al., 2005; FAJARDO et al., 2013; GUERRA et al., 2014; LUCIANO et al., 2011; MACEDO et al., 2012; SPAGNOL et al., 2009).

Avaliar a prevalência de agentes que causam doenças reprodutivas e identificar fatores associados à ocorrência desses agentes na criação de bovinos leiteiros é fundamental para a elaboração de estratégias de controle para as enfermidades. Neste contexto, o trabalho teve o objetivo de determinar a soroprevalência e fatores associados ao *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV em animais de propriedades leiteiras com histórico de problemas reprodutivos do noroeste do estado do Paraná.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Experimentação Animal da Universidade Paranaense – UNIPAR (Protocolo Nº 25104/2014) com base nas diretrizes do CONCEA

### **4.1. Delineamento da Pesquisa e Amostragem**

Realizou-se um estudo transversal em propriedades de bovinocultura leiteira da região noroeste do estado do Paraná. O tamanho da amostra foi calculado utilizando o programa Epi Info 3.5.1 (DEAN et al., 1994), considerando a prevalência

esperada de 50% precisão de 5,2% e nível de significância de 5% resultando em 363 animais. Os critérios de inclusão foram propriedades que apresentaram histórico de problemas reprodutivos, tais como: abortamento, natimortalidade, repetição de cio, ausência de cio e mumificação fetal, e possuíam animais não vacinados contra os agentes virais (BoHV-1 e BVDV). Foram incluídos rebanhos cujos proprietários aceitaram participar da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, sendo selecionadas todas as fêmeas em idade reprodutiva.

As coletas foram realizadas em 32 propriedades de cinco cidades localizadas no noroeste do estado do Paraná, de Setembro de 2014 a Fevereiro de 2015. Foram avaliadas 363 fêmeas bovinas leiteiras em idade reprodutiva, provenientes dos seguintes municípios: Alto Piquiri (1 propriedade, n=13), Cafezal do Sul (14 propriedades, n=135), Douradina (3 propriedades, n=31), Iporã (9 propriedades, n=113), Tapira (5 propriedades, n=71).

## **4.2. Avaliação Sorológica**

Foram colhidas amostras de sangue utilizando-se o sistema Vacutainer® em tubos de ensaio sem anticoagulante, o soro foi armazenado a -20°C até a realização dos exames sorológicos.

### **4.2.1. Imunofluorescência indireta para *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum***

A técnica de imunofluorescência indireta (IFI) foi realizada para a análise da presença de anticorpos IgG anti-*T. gondii* segundo Camargo (1974) e *N. caninum* segundo Conrad et al. (1993) e Paré et al. (1995). Foram considerados reagentes os testes que apresentaram títulos maiores ou iguais a 64 para *T. gondii* e maiores ou iguais a 50 para *N. caninum*. Foi utilizado conjugado anti-IgG bovino (Sigma Chemical©) e soro controle positivo de bovinos naturalmente infectados pelos dois agentes.

### **4.2.2. Vírus Neutralização para BVDV e BoHV-1**

Foram utilizados como vírus padrão a cepa NADL citopática de BVDV 1a e cepa Los Angeles para BoHV-1. A técnica foi realizada segundo Manual de Testes de Diagnóstico e Vacinas para Animais Terrestres para BVDV (OIE, 2008) e para BoHV-1 (OIE, 2010). A concentração de vírus utilizado na técnica foi de 100 DICC<sub>50</sub>

(doses infectantes para 50% dos cultivos celulares). A leitura das placas foi realizada após 72 h de incubação a 37°C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. Foram consideradas reagentes para BVDV as amostras com títulos maiores ou iguais a dez e para BoHV-1 as maiores ou iguais a dois.

### **4.3. Instrumento de Pesquisa**

As amostras foram acompanhadas de uma ficha epidemiológica com dados das propriedades para análise dos fatores associados aos agentes etiológicos avaliados. As variáveis relacionadas ao ambiente foram: presença de cães, gatos, roedores, animais silvestres e cães errantes; modo de criação dos cães e gatos; origem da água e existência de córrego ou rio próximo à propriedade. Os dados relacionados aos animais foram: a raça predominante do rebanho; contato dos bovinos com cães, gatos e bovinos de outras propriedades e o tipo de alimentação. As variáveis relacionadas com a estrutura da propriedade foram: presença e condição das construções para o gado e a existência de piquetes de parição.

Com relação ao controle sanitário foram analisados: o tipo de manejo; a prática do aluguel de pasto; a presença de pasto em comum com outra propriedade; compra de animais para reprodução; troca de animais entre as propriedades; prática de quarentena; inseminação artificial; destino do material abortado e assistência veterinária. As variáveis analisadas relacionadas aos problemas reprodutivos incluíram: ocorrência no rebanho de ausência de cio; repetição de cio; abortamento; natimortalidade; neonato debilitado.

### **4.4. Análise Estatística**

As informações obtidas na ficha epidemiológica foram analisadas no programa Epi Info 3.5.1 (DEAN et al., 1994). Para verificar a significância estatística foi utilizado o teste de qui-quadrado com correção de Yates ou exato de Fischer. A razão de chances (Odds Ratio/OR) foi utilizada como medida de associação entre a infecção pelo *T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1, BVDV e as variáveis pesquisadas, com intervalo de confiança (IC) de 95%. Utilizou-se o nível de significância de 5%.

## **RESULTADOS**

Dos 363 animais analisados, 48 (13,2%; IC95% = 10,0 – 17,0) animais foram soropositivos para *T. gondii*, 93 (25,6%; IC95%= 21,3 – 30,3) para *N. caninum*, 216 (59,5%; IC95%= 54,3 – 64,4) para BoHV-1 e 156 (43,0%; IC95%= 37,9 – 48,1) para BVDV (Tabela 1). Sessenta e oito (18,7%) animais foram simultaneamente reagentes ao BoHV-1 e BVDV, 10 (2,8%) ao *N. caninum* e *T. gondii* e 42 (11,6%) animais apresentaram soropositividade à múltiplos agentes (Tabela 2). Dos animais testados, 68 (18,7%) foram soronegativos e 2 (0,6%) sororeagentes aos quatro agentes.

Dentre as 32 propriedades estudadas, 62,5% (20/32) apresentaram pelo menos um animal reagente ao *T. gondii*; 81,3% (26/32) ao *N. caninum*; 93,8% (30/32) para o BoHV-1 e 90,6% (29/32) para BVDV. Os títulos de anticorpos contra os agentes estudados estão dispostos na tabela 3. As variáveis significativas associadas à presença de anticorpos contra o BoHV-1 foram casos de abortamento na propriedade, condições das instalações e BVDV. Para o BVDV foram associadas ao risco o aluguel de pasto e BoHV-1, entretanto a presença de piquetes de parição se mostrou como variável de proteção. A raça holandesa foi associada ao risco de infecção pelo *T. gondii*. Nenhuma variável foi significativa para o *N. caninum* (Tabela 4).

**Tabela 1.** Soroprevalência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras, de propriedades com problemas reprodutivos, do noroeste do estado do Paraná, segundo o município de procedência, 2014.

Municípios	Nº Propriedades	<i>T. gondii</i> <sup>a</sup>	<i>N. caninum</i> <sup>a</sup>	BoHV-1 <sup>b</sup>	BVDV <sup>b</sup>
		Reagentes/Total (%)			
Alto Piquiri	1	2/13 (15,4)	2/13 (15,4)	13/13 (100)	2/13 (15,4)
Cafezal do Sul	14	16/135 (11,9)	34/135 (25,2)	77/135 (57,0)	62/135 (45,9)
Douradina	3	1/31 (3,2)	9/31 (29,0)	17/31 (54,8)	16/31 (51,6)
Iporã	9	19/113 (16,8)	25/113 (22,1)	69/113 (61,1)	51/113 (45,1)
Tapira	5	10/71 (14,1)	23/71 (32,4)	40/71 (56,3)	25/71 (35,2)
<b>TOTAL</b>	<b>32</b>	<b>48/363 (13,2)</b>	<b>93/363 (25,6)</b>	<b>216/363 (59,5)</b>	<b>156/363 (43,0)</b>

a: imunofluorescência indireta, b: vírus neutralização.

**Tabela 2.** Soropositividade para múltiplos agentes: *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras de propriedades com problemas reprodutivos, do noroeste do estado do Paraná, segundo município de procedência, 2014.

Município	N. animais	Dupla		Tripla		Quadrupla
		Tg+ Nc	Bo+BV	Tg+Bo+BV	Nc+Bo+BV	Tg+Nc+Bo+BV
Alto Piquiri	13	0	2	0	0	0
Cafezal do Sul	135	3	31	2	6	1
Douradina	31	0	8	0	4	1
Iporã	113	4	20	2	13	0
Tapira	71	3	7	3	10	0
<b>TOTAL</b>	<b>363</b>	<b>10 -2,8%</b>	<b>68 -18,7%</b>	<b>7 - 1,9%</b>	<b>33 - 9,1%</b>	<b>2 - 0,6%</b>

Tg = *Toxoplasma gondii*, Nc = *Neospora caninum*, Bo = BoHV-1 e BV = BVDV

**Tabela 3.** Títulos de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras, de propriedades com problemas reprodutivos, do noroeste do estado do Paraná, por município, 2014.

Agente	Títulos	Município				Total (%)	
		AP	CS	D	I		T
<b>Soropositividade</b>							
<i>Toxoplasma gondii</i>	<b>64</b>	2	16	1	19	9	<b>47 (97,9)</b>
	<b>256</b>	-	-	-	-	1	<b>1 (2,1)</b>
<i>Neospora caninum</i>	<b>50</b>	1	9	2	6	6	<b>24 (25,8)</b>
	<b>100</b>	1	8	2	10	3	<b>24 (25,8)</b>
	<b>200</b>	-	8	1	5	4	<b>18 (19,4)</b>
	<b>400</b>	-	7	2	3	4	<b>16 (17,2)</b>
	<b>800</b>	-	2	1	-	5	<b>8 (8,6)</b>
	<b>1600</b>	-	-	1	1	1	<b>3 (3,2)</b>
BoHV-1	<b>2</b>	1	11	3	10	4	<b>29 (13,4)</b>
	<b>4</b>	1	13	2	8	9	<b>33 (15,3)</b>
	<b>8</b>	1	11	2	11	6	<b>31 (14,4)</b>
	<b>16</b>	3	12	9	12	8	<b>44 (20,4)</b>
	<b>32</b>	3	15	-	12	7	<b>37 (17,1)</b>
	<b>64</b>	4	15	1	16	6	<b>42 (19,4)</b>
BVDV	<b>10</b>	2	8	2	9	3	<b>24 (15,4)</b>
	<b>20</b>	-	15	7	13	4	<b>39 (25,0)</b>
	<b>40</b>	-	15	2	10	4	<b>31 (19,9)</b>
	<b>80</b>	-	9	1	9	6	<b>25 (16,0)</b>
	<b>160</b>	-	8	2	6	3	<b>19 (12,2)</b>
	<b>320</b>	-	7	2	4	5	<b>18 (11,5)</b>

AP = Alto Piquiri; CS = Cafezal do Sul; D = Douradina; I = Iporã; T = Tapira

**Tabela 4.** Resultado da análise das variáveis estudadas associadas à soropositividade para *Toxoplasma gondii*, Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em bovinos leiteiros de 32 propriedades com problemas reprodutivos do noroeste do estado do Paraná, Brasil, 2014.

Variáveis significativas	Agente	Reagente/Total (%)	Valor de p	OR (IC 95%)
<b>Raça do rebanho</b>	<b><i>T. gondii</i></b>			
Holandesa		26/144 (18,1)	0,0407	1,97 (1,07 – 3,63) <sup>a</sup>
Mestiço		22/219 (10,1)		
<b>Casos de abortamento na propriedade</b>	<b>BoHV-1</b>			
Sim		99/134 (73,9)	0,00003	2,70 (1,70 – 4,306) <sup>a</sup>
Não		117/229 (51,1)		
<b>BVDV</b>	<b>BoHV-1</b>			
Sim		110/156 (70,6)	0,0003	2,27 (1,46 – 3,53) <sup>a</sup>
Não		106/207 (51,2)		
<b>Condição das instalações</b>	<b>BoHV-1</b>			
Precárias		103/152 (67,8)	0,0089	1,82 (1,15 – 2,88) <sup>a</sup>
Boas		113/211 (53,6)		
<b>Piquetes de Parição</b>	<b>BVDV</b>			
Sim		24/81 (29,6)	0,0086	0,47 (0,28 – 0,81) <sup>b</sup>
Não		132/282 (46,8)		
<b>Aluguel de pasto</b>	<b>BVDV</b>			
Sim		81/147 (55,1)	0,0003	2,24 (1,45 – 3,44) <sup>a</sup>
Não		75/212 (35,4)		

## DISCUSSÃO

*Neospora caninum* é uma das principais causas de aborto em bovinos em todo o mundo (DUBEY e SCHARES, 2011; REICHEL et al, 2013). Foram reagentes ao *N. caninum*, 25,6% dos animais analisados, sendo 11 com título maior que 800, caracterizando fase aguda da infecção. Segundo Dubey, (1999) e Lindsay et al. (1999), títulos maiores que 800 são considerados altos e sugestivos de infecção ativa. Em Israel, Mazuz et al. (2014) observaram que vacas com infecção aguda e títulos iguais a 12.800 apresentaram aumento significativo na proporção (41,2%) de aborto em fêmeas gestantes.

No presente estudo, 48 fêmeas bovinas foram soropositivas para *T. gondii*, com títulos não superiores a 256. Os baixos títulos encontrados corroboram com os achados de vários pesquisadores (ALBUQUERQUE et al., 2005; SPAGNOL et al., 2009; COSTA et al., 2011; LUCIANO et al., 2011; FAJARDO et al., 2013) e de acordo com DUBEY, THULLIEZ (1993) são sugestivos de infecções crônicas. A baixa prevalência do *Toxoplasma gondii* em relação aos demais agentes sugere que o protozoário não apresenta importância epidemiológica nos problemas reprodutivos das propriedades estudadas.

Dez animais foram reagentes para anticorpos anti-*T. gondii* e *N. caninum*. Ogawa et al. (2005) também relataram a ocorrência simultânea de anticorpos contra ambos os coccídios em trabalho desenvolvido em outra região do estado do Paraná. Embora a presença de cães e gatos não tenha apresentado associação com a infecção aos dois coccídeos, a presença dos hospedeiros definitivos e o fato de permanecerem soltos nas propriedades pode ter facilitado a disseminação e a permanência dos agentes nas propriedades.

A exposição aos agentes virais BoHV-1 e BVDV foi observada em 18,7% dos animais analisados. Headley et al. (2014) testaram o soro de 17 vacas para a presença de anticorpos contra BoHV-1 e BVDV para avaliar a causa de mortalidade observada no Norte do Paraná e observaram que todas as amostras apresentaram anticorpos para BoHV-1, quatro para BVDV e em 23,5% (4/17) dos animais analisados foram soropositivos aos dois agentes estudados.

A múltipla exposição a vírus e protozoários foram observadas nesse estudo, sendo as mais frequentes entre o *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV com 31 (9,1%) animais sororeagentes. O fato do *N. caninum* ser considerado um agente patogênico

primário, o BoHV-1 estabelecer infecção latente em gânglios sensoriais sendo reativado em condições de estresse ou tratamentos com corticoides e o BVDV desencadear efeito imunossupressor, parece favorecer a ocorrência de infecção mista (RINALDI et al., 2007; ACKERMANN, PETERHANS, WYLER, 1982; HOLLAND et al., 1993). Embora não tenha havido associação significativa entre a positividade de anticorpos anti-*N. caninum*, BoHV-1 e BVDV, infecções simultâneas podem agravar a neosporose.

As soroprevalências para *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV foram respectivamente 25,6%, 59,5% e 43,0%. Mineo et al. (2006) observaram 16,9% de soropositividade ao *N. caninum*, 74,8% ao BoHV-1 e 58,4% ao BVDV quando estudaram os três agentes em 243 vacas de dois rebanhos leiteiros de Minas Gerais com problemas reprodutivos. Esses valores são considerados próximos aos resultados obtidos mesmo sendo obtidos em regiões diferentes de criação. Waldner et al. (2005) encontraram no Canadá 5,2%, 20,4% e 91,8% de soropositividade ao *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV respectivamente, valores bem diversos dos encontrados no Brasil.

Dos animais testados, 68 (18,7%) foram soronegativos a todos os agentes e dois (0,6%) foram sororeagentes aos quatro agentes estudados. A infecção mista pelo *T. gondii*, BoHV-1 e BVDV ocorreu em 7 animais (1,9%) dos animais. O presente trabalho foi o primeiro que investigou a soropositividade de bovinos ao BoHV-1, BVDV, *N. caninum* e *T. gondii*

A prevalência por propriedade nesse trabalho evidencia que 93,8% foram positivas para o BoHV-1, 90,6% para BVDV sendo que todas as positivas para BVDV também eram para o BoHV-1. Esse resultado mostra que ambos os vírus encontram-se disseminados na região estudada. Resultados similares foram encontrados por Poletto et al. (2004) ao analisarem 28 propriedades de bovinos leiteiros do Rio Grande do Sul ao encontrarem 26 (92,86%) propriedades positivas para BoHV-1 e 19 (67,86%) para BVDV.

A identificação de fatores associados à infecção pelos agentes estudados é essencial para a adoção de métodos eficientes de manejo de animais de produção, para o controle e prevenção de doenças reprodutivas no rebanho. Nesse estudo, as variáveis natimortalidade, repetição de cio, ausência de cio, aborto e neonato debilitado não foram associadas à positividade de anticorpos anti-*Neospora caninum*. Entretanto, Dubey, Lindsay (1996), afirmaram que a neosporose pode

causar mumificação fetal, natimortos e nascimento de bezerros doentes ou clinicamente normais, porém infectados. A principal forma de transmissão é a vertical que pode culminar no nascimento de bezerros clinicamente hígidos, porém infectados pelo *N. caninum* (BUXTON; MCALLISTER; DUBEY, 2002).

Ogawa et al. (2005) também não observaram diferença estatística significativa na associação entre a sorologia do *N. caninum* e as variáveis relacionadas ao manejo, problemas reprodutivos, alimentação, presença de cães, gatos e roedores nas propriedades. Entretanto, Silva et al. (2008) encontraram associação da infecção com as variáveis ausência de assistência veterinária, estado nutricional precário, presença de instalações alagadiças, manuseio do feto abortado, destino das vacas que abortaram, histórico de aborto e época do aborto.

Para a presença de anticorpos anti-*T. gondii* somente a variável raça foi significativa, sendo que animais da raça Holandesa foram mais prevalentes (OR=1,97); resultado semelhante (OR=2,11) foi observado no norte do Estado do Paraná por Garcia et al. (1999). Oliveira, Costa e Sabatini, (2001), descreveram maior sensibilidade dos animais *Bos taurus*, em relação ao *B. indicus* e *Bubalis bubalis*, quando inoculados com oocistos esporulados de *T. gondii*. No presente estudo 100% das propriedades possuíam gatos criados soltos, não sendo possível observar diferenças estatísticas. Albuquerque et al. (2011) também não associaram a presença de gatos ao risco de infecção pelo *T. gondii*.

A complicação reprodutiva mais comum provocada pelo BoHV-1 nos animais imunodeprimidos é o abortamento e a morte embrionária (MILLER, 1991). A alta prevalência do BoHV-1 nos animais avaliados (59,5%) indica que o vírus está amplamente distribuído e por isso a variável casos de abortamento na propriedade foi associada à positividade ao BoHV-1 ( $p=0,00003$ ). Dias et al. (2008) encontraram o mesmo resultado quando estudaram bovinos do Oeste do Paraná, região próxima à do presente estudo. Em São Paulo, Junqueira et al. (2006) analisaram 208 vacas de corte e obtiveram 68,3% de soropositividade com 18,6% de abortamentos e sugeriram a provável participação do BoHV-1 no baixo desempenho reprodutivo do rebanho avaliado. Esses estudos reforçam a necessidade de investigar a presença desse vírus devendo constar no diagnóstico diferencial de problemas reprodutivos.

A variável relacionada às condições das instalações zootécnicas disponíveis aos bovinos foi analisada e os animais de propriedades que apresentaram instalações em condições precárias apresentaram 1,87 mais chance de infecção

pelo BoHV-1. Provavelmente pelo fato que condições precárias causem estresse nos animais permitindo a reativação do vírus BoHV-1 que estavam latentes em gânglios sensoriais, a reexcreção e a transmissão para animais susceptíveis (ACKERMANN, PETERHANS, WYLER, 1982). Além disso, existe a dificuldade em fazer uma higienização eficiente nessas instalações. Carbonero et al., 2011 encontrou limpeza de instalações com fator de proteção ao BoHV-1.

Os animais de propriedades que alugavam pasto (OR = 2,24) tiveram maior chance de se infectar pelo BVDV. Sabe-se que a transmissão horizontal do BVDV ocorre por contato direto e/ou indireto com secreções contaminadas (BROCK et al. 1991, HOUE 1995). A presença de piquetes de parição na propriedade confere proteção aos animais (OR = 0,47). Provavelmente pelo fato de restringir a área de contaminação que poderia ocorrer ao nascer um animal PI. Arenhart et al. (2009) mostraram que bezerros PI experimentalmente produzidos, excretam o vírus continuamente nas secreções ocular, oral, nasal e genital. Assim, o intercâmbio de animais entre propriedades pode favorecer o contato entre susceptíveis e infectados e a manutenção desses animais em área delimitada diminuiria o risco de infecção.

Na análise estatística a presença de BoHV-1 foi associada ao risco da infecção por BVDV. Raaperi et al. (2010) encontraram resultados semelhantes ao estudarem bovinos leiteiros da Estônia. O fato de ambas as doenças apresentarem vias de transmissão similares tanto direta quanto indiretamente, pode explicar essa associação (ENGELS, ACKERMANN, 1996; HOUE 1995, BAKER, 1995). Além disso, o BVDV desencadeia um efeito imunossupressor no organismo e possibilita a infecção por outros microorganismos patogênicos, além do agravamento dos sinais clínicos (HOLLAND et al., 1993). Analisando as propriedades, observou-se que 81% delas compravam bovinos para a reprodução, porém não realizavam a quarentena, fato que também pode explicar a ampla prevalência encontrada aos dois agentes virais no presente trabalho. O período de quarentena ideal para a prevenção de BoHV-1 é de 4 semanas (OIE, 2010).

Del Fava et al. (2003) implantaram um programa sanitário em um rebanho bovino leiteiro, com medidas preventivas para o controle de trânsito de bovinos, inseminação artificial com sêmen livre de patógenos e monitoramento semestral de algumas enfermidades. Isso possibilitou a prevenção de IBR e BVDV nos animais, durante os seis anos de monitoramento.

A alta soroprevalência das propriedades e dos animais aos agentes estudados e a presença concomitante de anticorpos anti-*T. gondii*, *N. caninum*, BoHV-1 e BVDV demonstra que esses agentes infecciosos estão disseminados nas propriedades da região estudada. A presença de animais soropositivos a três dos principais e mais reconhecidos microorganismos implicados em doenças reprodutivas em bovinos, sugere a possível relação com os problemas reprodutivos observados em bovinos leiteiros de propriedades da região Noroeste do estado do Paraná.

Os resultados do presente estudo evidenciaram que falhas importantes de estrutura das propriedades além do manejo sanitário, reprodutivo e de criação foram fundamentais para a manutenção dos múltiplos agentes no ambiente e a exposição dos animais susceptíveis a eles. As informações obtidas permitem dizer que o controle de trânsito de bovinos, cães e gatos nas propriedades, a criação e melhoria das instalações, a quarentena com o monitoramento semestral dessas enfermidades, possibilitaria a prevenção dos agentes estudados, a melhoria da reprodução no rebanho bovino leiteiro e conseqüentemente, o aumento da produtividade.

## CONCLUSÃO

A baixa prevalência do *Toxoplasma gondii* em relação aos demais agentes sugere que o protozoário não apresenta importância epidemiológica nos problemas reprodutivos das propriedades estudadas. Observou-se no presente estudo a múltipla exposição a vírus e protozoários, sendo as maiores e mais frequentes soropositividades foram relacionadas ao *Neospora caninum*, BoHV-1 e BVDV nas 32 propriedades estudadas.

A presença de animais soropositivos a três dos principais e mais reconhecidos microorganismos implicados em doenças reprodutivas em bovinos, revelam a precariedade do manejo e nas condições sanitárias, que favoreceram a presença e a permanência de animais sororeagentes nas propriedades. A atenção ao manejo sanitário e reprodutivo mostrou ser essencial para o controle dos agentes estudados,

## REFERÊNCIAS

- ACKERMANN, M., PETERHANS, E.; WYLER, R. DNA of bovine herpesvirus 1 in trigeminal ganglia of latently infected calves. *American Journal of Veterinary Research*, v.4, p.36-40, 1982.
- AFFONSO, I. B.; AMORIL, J. G.; ALEXANDRINO, B.; BUZINARO, M. G.; MEDEIROS, A. S. R.; SAMARA, S. I. Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) nas dez regiões de planejamento do estado de Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v.11, n.4, p.892-898, 2010.
- ALBUQUERQUE, G. R.; MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T.; ALMEIDA, C. R. R.; MEDEIROS, S. M.; LOPES, C. W. G. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros do Vale do Paraíba Sul Fluminense, Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.14, n.3, p.125-128, 2005.
- ALBUQUERQUE, G. R.; MUNHOZ, A. D.; TEIXEIRA, M.; FLAUSINO, W.; MEDEIROS S. M. M.; LOPES, C. W. G. Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in dairy cattle, State of Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. V. 31, n. 4, p.287-290, 2011.
- ALFAIA, B. T., BARBOSA, A. C. V. C., CAIXETA, S. P. M. B., ROCHA, W. V., BRITO, W. M. E. D. Prevalence and risk factors associated with BVDV infection in adult and non-vaccinated bovines females from Goiás, Brazil. *Virus Reviews & Research*, v.9, n.1, p.127, 2004.
- ÁLVAREZ-GARCIA, G. Identificación y caracterización de antígenos de *Neospora caninum* con interés inmunodiagnóstico en bovinos. Tese Doutorado – Universidad Complutense de Madrid, Madrid, 279p. 2003.
- AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; SOUZA NETO, O. L.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.32, n.10, p.963-966, 2012.
- AMENDOEIRA, M. R. R.; COSTA, T.; SPALDING, S. M. *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. *Revista Souza Marques*, Rio de Janeiro, v.1, n.1, p.15-29, 1999.
- ARENHART, S.; BAUERMANN, F. V.; OLIVEIRA, S. A. M.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Excreção e transmissão do vírus da diarreia viral bovina por bezerros persistentemente infectados. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.29, n.9, p.736-742, 2009.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.11, n.3, p.425-445, 1995.

BEZERRA, D. C., CHAVES, N. P., SOUSA, V. E., SANTOS, H. P., PEREIRA, H. M. Fatores de risco associados à infecção pelo Herpesvírus Bovino tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros da região Amazônica Maranhense. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.79, n.1, p.107-111, 2012.

BRASIL. SEBRAE. Serviço Brasileiro de apoio às micro e pequenas empresas. Bovinocultura leiteira Boletim Setorial do Agronegócio, 2010. Acesso em: 22 mar. 2015. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/Anexos/Boletim-Bovinocultura.pdf>

BROCK, K. V., REDMAN, D. R., VICKERS, M. L., IRVINE, N. E. Quantitation of bovine viral diarrhoea virus in embryo transfer flush fluids collected from a persistently infected heifer. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v.3, p.99-100, 1991.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. Trends in Parasitology, Holanda, v.18, n.12, p.544-552, 2002.

CARBONERO, A., SAA, L. R., JARA, D. V., GARCÍA-BOCANEGRA, I., ARENAS, A., BORGE, C., PEREA, A. Seroprevalence and risk factors associated to Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) infection in non-vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. Preventive Veterinary Medicine, v.100, p.84–88, 2011.

CAMARGO, M. E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. Revista Brasileira de Patologia Clínica, v. 10, n. 4, p. 143-171, 1974.

CONRAD P.A.; SVERLOW K.; ANDERSON M.; ROWE J.; BONDURANT R.; TUTER G.; BREIRMEYER R.; PALMER C.; THURMOND M.; ARDANS A.; DUBEY J. P.; DUHAMEL G.; BARR B. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental Neospora infections. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 5, n. 4, p. 572-578, 1993.

COSTA, G. H. N.; COSTA, A. J.; LOPES, W. D. Z.; BRESCIANI, K. D. S.; SANTOS, T.R.; ESPER, C. R.; SANTANA, A. E. *Toxoplasma gondii*: Infection natural congenital in cattle and an experimental inoculation of gestating cows with oocysts. Experimental Parasitology, v.127, n.1, p.277-281, 2011.

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COULOMBIER, D.; BRENDDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R.C.; SULIVAN, K.M.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. Epi Info, Version 6: a word processing, database, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Center for Diseases Control and Prevention. Atlanta. Georgia, U. S. A. 1994.

DEL FAVA, C., ARCARO, J. R. P., POZZI, C. R., ARCARO JÚNIOR, I., FAGUNDES, H., PITUCO, E. M., DE STEFANO, E., OKUDA, L. H., VASCONCELLOS, S. A. Manejo Sanitário para o controle de doenças da reprodução em um sistema leiteiro de produção semi-intensivo. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.70, n.1, p.25-33, 2003.

DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; MÉDICI, K. C., FREITAS, J. C.; FERREIRA NETO, J. S.; MÜLLER, 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, v.28, n.3, p.161-168, 2008.

DIAS, F. C., MÉDICI, K. C., ALEXANDRINO, B., DIAS, E. C., ALFIERI, A. A., SAMARA, S. I. Monitoramento da infecção natural pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em rebanhos bovinos. ARS Veterinária, Jaboticabal, SP, v.28, n.2, p.105-117, 2012.

DUBEY, J.P. e THULLIEZ, P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. American Journal Veterinary Research. v.54, n.3, p.270-273, 1993.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Veterinary Parasitology, v.67, n.1, p.1-59, 1996.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 214, n. 8, p. 1160-1163, 1999.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals - The last five years. Veterinary Parasitology, v. 180, p. 90–108, 2011.

ENGELS, M.; ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminant herpesviruses infections. Veterinary Microbiology, v.53, p.3-15, 1996.

FAJARDO, H. V.; D'ÁVILA, S.; BASTOS, R. R.; CYRINO, C. D.; DETONI, M. L.; GARCIA, J. L.; NEVES, L. B.; NICOLAU, J. L.; AMENDOEIRA, M. R. R. Seroprevalence and risk factors of toxoplasmosis in cattle from extensive and semi-intensive rearing systems at Zona da Mata, Minas Gerais state, Southern Brazil. Parasites & Vectors, v.6, 2013.

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. Countries by commodity. Top production – milk, whole fresh cow – 2012. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 10 jan. 2015.

FREITAS, E. J. P.; LOPES, C. E. R.; MOURA FILHO, J. M.; SÁ, J. S.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.35, n.3, p.1301-1310, 2014.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; DE OLIVEIRA, R. C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. Ciência Rural. v.29, p.91-97, 1999.

GUERRA, N. R.; ALVES, B. H. L. S.; FARIAS, M. P. O.; MOTA, R. A.; ALVES, L. C. Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in bovines in the state of Pernambuco, Brazil. Brazilian Journal Veterinary Parasitology, Jaboticabal, v.23, n.3, p.417-419, 2014.

GUIMARÃES, P. L. S. N., CHAVES, N. S. T., DA SILVA, L. A. F., ACYPRESTE, C. S. Frequência de anticorpos contra o vírus da Diarreia 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.

HEADLEY, S. A., ALFIERI, A. A., FRITZEN, J. T. T., QUEIROZ, G. R., LISBÔA, J. A. N., PONTES NETTO, D., WERNER OKANO, W., FLAIBAN, K. K. M. C., ALFIERI, A. F. Concomitant bovine viral diarrhea, mycotoxicosis, and seneciosis in beef cattle from northern Paraná, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v.35, n.5, p.2563-2576, 2014.

HEADLEY, S. A., VOLTARELLI, D., OLIVEIRA, V. H. S., BRONKHORST, D. E., ALFIERI, A. F., NEGRI FILHO, L. C., OKANO, W., ALFIERI, A. A. Association of *Histophilus somni* with spontaneous abortions in dairy cattle herds from Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, v.47, p.403–413, 2015.

HOLLAND, R. E., BEZEK, D. M., SPRECHER, D. J., PATTERSON, J. S., STEFICEK, B. A., TRAPP, A. L. Investigation of an epizootic of bovine viral diarrhea virus infection in calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.202, n.11, p.1.849-1.854, 1993.

HOUE H. Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics of North America*, v.11, n.3, p.521-548, 1995.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Pecuária 2014. Acesso em: 21 jan. 2015. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201403\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201403_publ_completa.pdf)

JUNQUEIRA, J. R.; ALFIERI, A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. *Semina: Ciências Agrárias*, v.27, n.2, p.289-298, 2006.

JUNQUEIRA, J. R. C.; FREITAS, J. C.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com o BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v.27, n.3, p.471-480, 2006.

JUSTO, R. V.; MANFIO, J. B.; GALHARDO, J. A.; GARCIA, J. L.; CAMPOS, A. K. Inquérito soro-epidemiológico sobre neosporose bovina no norte do estado de Mato Grosso, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v.34, n.6, p.3897-3902, 2013.

KOEHLER, J. C. Caracterização da bovinocultura de leite no Estado do Paraná. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento – SEAB. 2000. Acesso em: 21 jan, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/cultura3.pdf>

LINDSAY, D. S., DUBEY, J. P. & MCALLISTER, M. *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v.21, n.4, p.317-321, 1999.

LUCIANO, D. M.; MENEZES, R. C.; FERREIRA, L. C.; NICOLAU, J. L.; NEVES, L. B.; LUCIANO, R. M.; DAHROUG, M. A. A.; AMENDOEIRA, M. R. R. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cattle and pigs slaughtered, State of Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 20, n. 4, p. 351-353, 2011.

MACEDO, M. F. S. B.; MACEDO, C. A. B.; EWALD, M. P. C.; MARTINS, G. F.; ZULPO, D. L.; CUNHA, I. A. L.; TARODA, A.; CARDIM, S. T.; SU, C.; GARCIA, J. L. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from pregnant dairy cows (*Bos taurus*) slaughtered. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v.21, n.1, p.74-77, 2012.

MACEDO, C. A. B., MACEDO, M. F. S. B., CARDIM, S. T., PAIVA, M. C. D. C., TARODA, A., BARROS, L. D., CUNHA, I. A. L., ZULPO, D. L., GARCIA, J. L. *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered dairy cows (*Bos taurus*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v.22, n.1, p.13-17, 2013.

MAGALHÃES, V. C. S., OLIVEIRA, U. V., COSTA, S. C. L., SANTOS, I. A., PEREIRA, M. J. S., MUNHOZ, A. D. Transmission paths of *Neospora caninum* in a dairy herd of crossbred cattle in the northeast of Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.202, p.257–264, 2014.

MAZUZ, M. L.; FISH, L.; REZNIKOV, D.; WOLKOMIRSKY, R.; LEBOVITZ, B.; SAVITZKY, I.; GOLENSER, J.; SHKAP, V. Neosporosis in naturally infected pregnant dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, v.205, p.85–91, 2014.

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.

MILLER, J. M. The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. *Veterinary Medicine*, v. 86, p. 95-98, 1991.

MINEO, T. W. P., ALENIUS, S., NÄSLUND, K., MONTASSIER, H. J., BJÖRKMAN, C. Distribution of antibodies against *Neospora caninum*, BVDV and BHV-1 among cows in Brazilian dairy herds with reproductive disorders. *Brazilian Journal Veterinary Parasitology*, v.15, n.4, p.188-192, 2006.

OGAWA, L. et al. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 57, n. 3, p. 312-316, 2005.

OIE. World Organisation for Animal Health. BOVINE VIRAL DIARRHOEA. Terrestrial Manual 2008. BVDV. Acesso em: 18 dez. 2014. Disponível em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.04.08\\_BVD.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.08_BVD.pdf)

OIE. World Organisation for Animal Health. Infectious Bovine Rhinotracheitis/ Infectious Pustular Vulvovaginitis. Terrestrial Manual 2010. Acesso em: 18 dez. 2014. Disponível em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.04.13\\_IBR\\_IPV.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.13_IBR_IPV.pdf)

OLIVEIRA, F. C. R.; COSTA, A. J.; SABATINI, G. A. Clínica e Hematologia de *Bos indicus*, *Bos taurus* e *Bubalus bubalis* inoculados com oocistos de *Toxoplasma gondii* (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE). Ciência Rural, Santa Maria, v.31, n.4, p.621-626, 2001.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento - SEAB. Caracterização da bovinocultura de leite no estado do Paraná, 2000. Acesso em: 21/01/2015. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/cultura3.pdf>

PARÉ J.; HIETALA S.K.; THURMOND M.C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 7, n. 2, p. 273-275, 1995.

PETERHANS, E.; JUNGI, T.W.; SCHWEIZER, M. BVDV and innate immunity. Biologicals, v.31, n.2, p.107-112, 2003.

POLETTO, R.; KREUTZ, L. C.; GONZALES, J. C.; BARCELLOS, L. J. G. 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.

RAAPERI, K., NURMOJA, I., ORRO, T., VILTROP, A. Seroepidemiology of bovine herpesvirus 1 (BHV1) infection among Estonian dairy herds and risk factors for the spread within herds. Preventive Veterinary Medicine, v.96, p.74–81, 2010.

REICHEL, M. P.; ALEJANDRA AYANEGUI-ALCERRECA, M.; GONDIM, L. F.; ELLIS, J. T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – the billion dollar question. International Journal for Parasitology, v.43, p.133–142, 2013.

RINALDI, L.; PACELLI, F.; IOVANE, G.; PAGNINI, U.; VENEZIANO, V.; FUSCO, G.; CRINGOLI, G. Survey of *Neospora caninum* and bovine herpes virus 1 coinfection in cattle. Parasitology Research, v.100, p.359–364, 2007.

SANTOS, R. R. D.; ROCHA, C. M. B. M.; GONÇALVES, T. M.; GUIMARÃES, A. M. Quantification of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cows in Minas Gerais, Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v.21, n.3, p.294-297, 2012.

SANTOS, M. R., FERREIRA, H. C. C., SANTOS, M. A., SARAIVA, G. L., TAFURI, N. F., SANTOS, G. M., TOBIAS, F. L., MOREIRA, M. A. S., ALMEIDA, M. R., SILVA JÚNIOR, A. Antibodies against Bovine herpesvirus 1 in dairy herds in the state of Espírito Santo, Brasil. Revista Ceres, Viçosa, v.61, n.2, p.280-283, 2014.

SILVA, M. I. S.; ALMEIDA, M. A. O.; MOTA, R. A.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; RABELO, S. S. A. Fatores de riscos associados à infecção por *Neospora caninum* em matrizes bovinas leiteiras em Pernambuco. *Ciência Animal Brasileira*, v.9, n.2, p.455-461, 2008.

SOUSA, M. E.; PORTO, W. J. N.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SOUZA NETO, O. L.; FARIA, E. B.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; 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*, v.32, n.10, p.1009-1013, 2012.

SPAGNOL, F. H.; PARANHOS, E. B.; OLIVEIRA, L. L. S.; MEDEIROS, S. M.; LOPES, C. W. G.; ALBUQUERQUE, G. R. Prevalence of antibodies anti-*Toxoplasma gondii* in slaughtered cattle at stockyards in the State of Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 18, n. 2, p. 42-45, 2009.

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*, v.30, n.9, p.729-734, 2010.

TREMBLAY, R. Transmission of bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Medicine*, v.91, n.9, p.858-866, 1996.

WALDNER, C. L. Serological status for *N. caninum*, bovine viral diarrhoea virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. *Animal Reproduction Science*, v.90, p.219–242, 2005.

## APÊNDICE

## APÊNDICE A – Questionário Epidemiológico

PROPRIEDADE: \_\_\_\_\_ NÚMERO: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_/\_\_/\_\_\_\_  
 ENTREVISTADOR: \_\_\_\_\_

1. Manejo do rebanho: ( ) confinado ( ) semi confinado
2. Compra de bovinos para reprodução: ( ) sim ( ) não
3. Após a compra de animais os mesmo ficam em quarentena? ( ) sim ( ) não
4. Há córrego/ rio/ lago próximo (até 300m) à propriedade: ( ) sim ( ) não
5. Presença de cães e gatos na propriedade: ( ) sim ( ) não
6. Cães e/ou gatos são criados como: ( ) solto ( ) canil/gatil
7. Há presença de cães ou gatos errantes (vizinho) na propriedade: ( ) sim ( ) não
8. Há animais silvestres na propriedade: ( ) sim ( ) não
9. Quais construções há na propriedade para o gado: ( ) curral ( ) cercado
10. Tem cocho para o sal mineral: ( ) sim ( ) não
11. As construções das construções para os bovinos são: ( ) boas ( ) precárias
12. Qual a fonte de água utilizada para os animais: ( ) rede pública ( ) poço ( ) mina
13. A propriedade compartilha a fonte de água com os vizinhos: ( ) sim ( ) não
14. Raça predominante do rebanho bovino: ( ) holandês ( ) zebu ( ) mestiço
15. Há trocas de animais: ( ) sim ( ) não
16. Frequência dos problemas reprodutivos: ( ) primeira ( ) segunda ( ) terceira  
( ) todas ( ) nenhuma ( ) não sabe
17. Indique quais casos já ocorreram no rebanho bovino:

a. Aborto	
b. Repetição de cio	
c. Ausência de cio	
d. Recém nato debilitado	
e. Natimorto	

18. Deixa produtos de abortos nas pastagens: ( ) sim ( ) não
19. Presença de piquetes de parição: ( ) sim ( ) não
20. Aluga pasto a propriedade: ( ) sim ( ) não
21. Utiliza inseminação artificial: ( ) sim ( ) não
22. Abate animais (qualquer espécie) na propriedade: ( ) sim ( ) não
23. Contato dos bovinos com outros bovinos de outras propriedades: ( ) sim ( ) não
24. Contato dos bovinos com outra espécie animal: ( ) sim ( ) não Qual? \_\_\_\_\_
25. Alimentação volumosa é: ( ) pastagem ( ) feno ( ) silagem
26. A propriedade recebe assistência veterinária: ( ) sim ( ) não
27. Tem roedores na propriedade: ( ) sim ( ) não Local: \_\_\_\_\_
28. Contato dos bovinos com cães: ( ) sim ( ) não
29. Contato dos bovinos com gatos: ( ) sim ( ) não
30. Contato dos bovinos com suínos: ( ) sim ( ) não
31. Contato dos bovinos com equinos: ( ) sim ( ) não

**ANEXO**

## ANEXO A - Comitê de Ética em pesquisa envolvendo experimentação animal

**UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR**

Reconhecida pela Portaria - MEC Nº 1580, DE 09/11/93 - D.O.U. 10/11/93

Mantenedora: Associação Paranaense de Ensino e Cultura - APEC

DIRETORIA EXECUTIVA DE GESTÃO DA PESQUISA E DA PÓS GRADUAÇÃO

COORDENADORIA DE PESQUISA E INICIAÇÃO CIENTÍFICA - COPIC



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEPEEA)

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto "ENFERMIDADES INFECCIOSAS EM BOVINOS DA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL", protocolo 25104/2014, sob a responsabilidade de DANIELA DIB GONCALVES REPETTI, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, segundo o disposto na Lei nº 71.794 de 2008, tendo sido aprovado pelo COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL DA UNIPAR (CEPEEA/UNIPAR) em reunião realizada em 22/08/2013.

We certify that the project "ENFERMIDADES INFECCIOSAS EM BOVINOS DA REGIÃO NOROESTE DO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL", protocol 25104/2014, in the responsibility of DANIELA DIB GONCALVES REPETTI, is in agreement with the Ethical Principles of Animal Experimentation, according to law 11.794/2008, and was approved by the ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL RESEARCH OF UNIPAR (CEPEEA/UNIPAR) in 08/22/2013.

UMUARAMA - PR, 10/09/2014.

Prof. Dr. Luciano Seraphim Gasques  
Presidente CEPEEA/UNIPAR

Registro Nº: 25104

Thais Camilla Rodrigues  
Secretária CEPEEA/UNIPAR