

UNIVERSIDADE DE UBERABA

WALLACY AUGUSTO DE OLIVEIRA

**SOROPREVALÊNCIA DE TRIPANOSSOMÍASE, RINOTRAQUEÍTE INFECCIOSA  
BOVINA E DIARREIA VIRAL BOVINA EM BOVINOS COM SUSPEITA DE  
*TRYPANOSOMA VIVAX***

UBERABA-MG

2021



UNIVERSIDADE DE UBERABA

WALLACY AUGUSTO DE OLIVEIRA

**SOROPREVALÊNCIA DE TRIPANOSSOMÍASE, RINOTRAQUEÍTE INFECCIOSA  
BOVINA E DIARREIA VIRAL BOVINA EM BOVINOS COM SUSPEITA DE  
*TRYPANOSOMA VIVAX***

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar

Coorientadora: Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar

UBERABA-MG

2021

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

- O4s Oliveira, Wallacy Augusto de.  
Soroprevalência de tripanossomíase, rinotraqueíte infecciosa bovina e diarreia viral bovina em bovinos com suspeita de *Trypanosoma vivax* / Wallacy Augusto de Oliveira. – Uberaba, 2021.  
41 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária, concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do Programa de Pós-Graduação.  
Orientador: Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar.  
Coorientadora: Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar.
1. Tripanossomose em animais. 2. Doenças infecciosas. 3. Reprodução. 4. Diagnóstico. I. Bittar, Eustáquio Resende. II. Bittar, Joely Ferreira Figueiredo. III. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Medicina Veterinária. IV. Título.

CDD 616.9363

WALLACY AUGUSTO DE OLIVEIRA

SOROPREVALÊNCIA DE TRIPANOSSOMÍASE, RINOTRAQUEÍTE INFECCIOSA BOVINA E DIARREIA VIRAL BOVINA EM BOVINOS COM SUSPEITA DE *TRYPANOSOMA VIVAX*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba.

Área de concentração: Sanidade e Produção Animal nos Trópicos

Aprovado em: 17/12/2021

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar- Orientador  
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Ian Martin  
Universidade de Uberaba

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** WELLINGTON TADEU VILELA CARVALHO  
DATA: 20/12/2021 10:13:30-0000  
Validar em: https://verificador.gov.br

Prof. Dr. Wellington Tadeu Vilela Carvalho  
IF Sudeste MG Campus Barbacena



*“Só tem propósito quem suporta o processo”*  
*(Wladimir Moreira Dias)*





## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me dão força e que acreditam no meu potencial, àqueles que seguraram as minhas mãos e confiam, às vezes até mais do que eu mesmo, no quanto o meu caminho é promissor.

À minha mãe Maria Rosilene, que com sua fé, carinho, garra e paciência sempre me deu suporte. Me deixou alçar voo ainda cedo, mas manteve intacto meu lugar de estadia em seu ninho.

À minha querida Umbanda, presente da cidade de Uberaba. Com cada guia pude aprender meu valor, me redescobrir e passar a ver o mundo de uma forma diferente. A vida é feita de escolhas e a gente só colhe realmente o que planta. É possível viver em paz sabendo que não somos perfeitos, desde que façamos o que está ao nosso alcance.

Aos meus amigos, grandes amigos. Gabriel, Natália, Dara, Natácia, Natanael, Stéfany, Lucas, Letícia, Isabele, Thiago, Marcelo, Camila, Ketelyn, Deliene e aos meus irmãos Ana, Welbert e Fabrício. Vocês me socorreram nos momentos de necessidade, acreditaram em mim, mesmo à distância foram minhas âncoras, souberam me ouvir e me impulsionar.

À minha terapeuta Fran, que me ajuda a enxergar que eu faço muito, dou o meu melhor, porém não sou perfeito e devo me esforçar e ficar onde me faz bem, onde me querem bem. Já percorri muitas estradas para que ainda hoje precise me sujeitar à falta de ética, respeito e empatia. Eu faço as minhas escolhas.

Aos meus eternos mestres Wellyngton e Renata, professores do curso técnico do IF Barbacena. Já se vai quase uma década e vocês seguem sendo meus maiores exemplos de profissionais.

Aos professores da graduação que, dentro de cada peculiaridade, deixaram ensinamentos teóricos, técnicos, práticos ou de crescimento pessoal. Maurício, Francine, Luciana, Jandra, Álvaro, Dênia, Flávia, André, Isabel e Endrigo, o meu muito obrigado.

Aos meus orientadores do mestrado, Joely e Eustáquio, o sincero agradecimento pela confiança durante esses sete anos de convivência e por todas as oportunidades que me proporcionaram.

Ao meu companheiro de vida, Bruno. Gratidão por ser amigo e trazer paz, apoio e sentimentos leves em meio ao turbilhão em que vivemos. Te admiro e você me ensina muito a cada dia.



## RESUMO

A tripanossomíase bovina apresenta alta morbidade e mortalidade, que associados à inespecificidade dos sinais clínicos possibilitam sua rápida disseminação e culminam em graves prejuízos produtivos e reprodutivos. Os sinais clínicos são comuns a outras enfermidades como rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e diarreia viral bovina (BVD). Visto isso, o presente trabalho objetivou avaliar a soroprevalência de *T. vivax* em animais com suspeita clínica da doença e comparar à soroprevalência de IBR e BVD, além de avaliar a sazonalidade das três patologias e se ocorrem de forma concomitante em fêmeas bovinas. Foi realizado um estudo retrospectivo por levantamento de registros do laboratório de Medicina Veterinária preventiva do Hospital Veterinário de Uberaba. No período compreendido entre 2013 e 2020 foram encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) da Universidade de Uberaba (UNIUBE) 1443 amostras de sangue de fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase (distúrbios reprodutivos, apatia, febre, anorexia, anemia e queda na produção) para exame sorológico por imunofluorescência indireta, das quais 121 foram solicitados testes de ELISA indireto, buscando estabelecer diagnóstico diferencial para IBR e 123 para BVD. Para melhor interpretação, os dados foram agrupados de acordo com a doença e estações do ano. Pode-se notar que 57,10% (824/1443) eram positivas para *T. vivax*, 87,60% (106/121) para IBR e 70,73% (87/123) para BVD. Nota-se que as fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase apresentaram soroprevalência para *T. vivax* inferior ( $p < 0,05$ ) em relação a IBR e BVD. De acordo com as análises obtidas no presente trabalho, pode-se concluir que a prevalência de anticorpos anti-*T. vivax* em fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase é acima de 50%, durante todo o ano, exceto no inverno. A prevalência de IBR e BVD em fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase é maior que a prevalência de anticorpos anti-*T. vivax*. A prevalência de *T. vivax* e IBR variou de acordo com a sazonalidade. *T. vivax* pode se apresentar concomitantemente com IBR e BVD em fêmeas bovinas, sendo importante estabelecer o diagnóstico diferencial.

**Palavras-chaves:** reprodução, diagnóstico, doenças infecciosas; IBR; BVD; *T. vivax*.



## ABSTRACT

Bovine trypanosomiasis has high morbidity and mortality, associated with non-specificity of clinical signs allowing its rapid dissemination and culminating in serious productive and reproductive losses. Clinical signs are common to other diseases such as infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and bovine viral diarrhea (BVD). Therefore, this study aimed to evaluate the seroprevalence of *T. vivax* in animals with clinical suspicion of the disease and to compare the seroprevalence infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and bovine viral diarrhea (BVD), in addition to evaluating the seasonality of the three pathologies and whether they occur concomitantly in female cattle. A retrospective study was performed by surveying the records of the preventive veterinary medicine laboratory at the Veterinary Hospital of Uberaba. In the period between 2013 and 2020, 1443 blood samples from female cattle with clinical suspicion of trypanosomiasis (reproductive disorders, apathy, fever, anorexia, anemia and production decrease) were sent to the Uberaba University Veterinary Hospital (HVU) (UNIUBE) for serological examination by indirect immunofluorescence, of which 121 indirect ELISA tests were requested, seeking to establish a differential diagnosis for IBR and 123 for BVD. For better interpretation, data were grouped according to disease and seasons of the year. It can be noted that 57.10% (824/1443) were positive for *T. vivax*, 87.78% (106/121) for IBR and 70.73% (87/123) for BVD. Notice that bovine females with clinical suspicion of trypanosomiasis presented lower seroprevalence for *T. vivax* ( $p < 0.05$ ) compared to IBR and BVD. According to the analyzes obtained in the present work it can be concluded that the prevalence of anti-*T. vivax* in bovine females with clinical suspicion of trypanosomiasis is above 50%, throughout the year, except in winter. The prevalence of IBR and BVD in bovine females with clinical suspicion of trypanosomiasis is higher than the prevalence of anti-*T. vivax*. The prevalence of *T. vivax* and IBR varied according to seasonality. *T. vivax* can present concomitantly with IBR and BVD in bovine females, and it is important to establish a differential diagnosis.

**Keywords:** reproduction, diagnosis, infectious diseases, IBR; BVD; *T. vivax*.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Prevalência de anticorpos anti-*T. vivax*, anti-BHV-1 e anti-BVDV em amostras de sangue de fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) no período entre 2013 e 2020..... 25
- Figura 2:** Prevalência de anticorpos anti-*T. vivax*, anti-BHV-1 e anti-BVDV em amostras de sangue de fêmeas bovinas ... encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) no período entre 2013 e 2020 de acordo com as estações do ano. .... 26
- Figura 3:** Prevalência de anticorpos anti-*T. vivax*, anti-BHV-1 e anti-BVDV em amostras de sangue de fêmeas bovinas ... encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) no período entre 2013 e 2020 de acordo com as estações do ano. .... 26





## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>BVD</b>	Diarreia Viral Bovina
<b>BVDV-1</b>	Vírus da diarreia viral bovina tipo 1
<b>BVDV-2</b>	Vírus da diarreia viral bovina tipo 2
<b>BVDV-3</b>	Vírus da diarreia viral bovina tipo 3
<b>CEEA</b>	Comitê de ética em experimentação animal
<b>CP</b>	Citopática
<b>ELISA</b>	Ensaio Imunoenzimático
<b>Fig.</b>	Figura
<b>HVU</b>	Hospital Veterinário de Uberaba
<b>IBR</b>	Rinotraqueíte infecciosa bovina
<b>IFI</b>	Imunofluorescência indireta
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia de Polimerase
<b>PI</b>	Persistentemente infectado
<b><i>T. vivax</i></b>	<i>Trypanosoma vivax</i>
<b>RT-PCR</b>	Transcrição reversa seguida de reação em cadeia de polimerase
<b>UNIUBE</b>	Universidade de Uberaba



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Coinfecções entre IBR e <i>T. vivax</i> .....	27
<b>Tabela 2.</b> Coinfecções entre BVD e <i>T. vivax</i> .....	27



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.2 TRIPANOSOMÍASE BOVINA .....	13
2.2.1 Etiologia e ciclo biológico.....	13
2.2.2 Epidemiologia .....	14
2.2.3 Sinais clínicos.....	15
2.2.4 Diagnóstico e tratamento.....	16
2.3 RINOTRAQUÍTE INFECCIOSA BOVINA.....	16
2.3.1 Etiologia .....	17
2.3.2 Epidemiologia .....	17
2.3.3 Sinais clínicos.....	18
2.3.4 Diagnóstico e tratamento.....	19
2.4 DIARREIA VIRAL BOVINA (BVD).....	20
2.4.1 Etiologia .....	20
2.4.2 Epidemiologia .....	20
2.4.3 Sinais clínicos.....	21
2.4.4 Diagnóstico e tratamento.....	22
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
4.1 NORMAS ÉTICAS .....	23
4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	23
4.3 OBTENÇÃO DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	24
4.4 PESQUISA SOROLÓGICA.....	24
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	25
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>25</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>28</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>31</b>
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>42</b>



## 1 INTRODUÇÃO

As tripanossomíases são doenças causadas pelo grupo de protozoários que pertencem ao gênero *Trypanosoma*. Destaca-se *Trypanosoma vivax* que é capaz de acometer bovinos e causar grandes prejuízos econômicos na pecuária brasileira, como o causador da tripanossomíase bovina (JONES; DÁVILA, 2001).

A tripanossomíase bovina é uma das enfermidades emergentes de maior impacto na pecuária. O alto índice de morbidade e mortalidade, associados à inespecificidade dos sinais clínicos possibilitaram sua rápida disseminação e culminam em graves prejuízos econômicos, principalmente no que diz respeito a produção de leite, taxa de prenhez, descarte de animais e custos com o tratamento. Abortos, repetições irregulares do estro, aumento de intervalo entre partos e período de serviço e redução da taxa de concepção são encontrados em rebanhos leiteiros positivos para tripanossomíase (ABRÃO et al., 2009).

Os sinais clínicos são comuns a outras enfermidades como rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e diarreia viral bovina (BVD) (FIDELIS JÚNIOR et al., 2016). O diagnóstico da doença pode ser realizado de maneira associada entre o exame clínico e exames complementares como métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares (CASTILHO NETO et al., 2021). Vale ressaltar que o diagnóstico é laborioso por conta dos sinais clínicos inespecíficos (CADIOLI et al., 2012; FIDELIS JÚNIOR et al., 2016). Ademais, a baixa parasitemia e os períodos aparasitêmicos o tornam ainda mais difícil de ser executado (FIDELIS JÚNIOR et al., 2016).

Há várias maneiras de se realizar o diagnóstico para a tripanossomíase e os métodos apresentam diferentes sensibilidades e especificidades. A associação dos sinais clínicos com os métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares auxilia a estabelecer o correto diagnóstico (MENESES, 2016).

Não há ainda na literatura informações suficientes acerca da ocorrência e da epidemiologia das doenças do trato reprodutivo. Diferentes espécies de bactérias protozoários vírus causam infecções no sistema reprodutivo bovino, gerando consequências deletérias à matriz e em destaque ao conceito (ALFIERE, 2017). Porém sabe-se que o animal pode estar infectado por mais de um agente etiológico (ZANATTO et al., 2019). Antoniassi et al. (2013), analisou 227 casos de abortos bovinos, com diagnóstico conclusivo. Destes, sendo 87,66% (199/227) de origem infecciosa. 0,88% (2/227) foram causados por associações, entre diferentes classes de microrganismos.

Mendes et al. (2009) afirmaram que doenças infectocontagiosas da reprodução animal estão disseminadas no rebanho nacional, havendo necessidade de prevenção e controle. Dentre elas IBR, BVD, neosporose, brucelose e leptospirose. Moreira et al. (2020) reforça a necessidade de se realizar diagnósticos diferenciais para as patologias que acometem o trato reprodutivo dos bovinos, destacando o potencial da BVD de ocasionar danos à pecuária.

A partir da suspeita clínica de uma enfermidade, deve-se elencar quais os possíveis diagnósticos diferenciais que podem ser solicitados e que, mesmo obtendo o exame negativo para a primeira suspeita, outras patologias reprodutivas podem estar presentes no rebanho e devem ser pesquisadas.

Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a soroprevalência de *T. vivax* em animais com suspeita clínica da doença e comparar com a soroprevalência de rinotraqueíte viral bovina (IBR) e diarreia viral bovina BVD que também são causadoras de problemas reprodutivos em bovinos de corte e leite. Objetivou-se também avaliar a distribuição dessas patologias de acordo com a sazonalidade e se as enfermidades de origem viral (IBR e BVD) podem se apresentar como coinfeção ao *T. vivax*.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.2 TRIPANOSOMÍASE BOVINA**

#### **2.2.1 Etiologia e ciclo biológico**

O hemoparasito *Trypanosoma vivax* pertence ao grupo salivaria (HOARE, 1972) e ao subgênero *Dutonella*, do gênero *Trypanosoma*, do filo Euglenozoa, classe Mastigophora, ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e subordem Trypanosomatina (HOARE, 1972; GARDINER, 1989).

*Trypanosoma vivax* apresenta morfologia afilada, com extremidade posterior obtusa, membrana ondulante, núcleo central e grande, cinetoplasto e flagelo livre (SOULSBY, 1982).

O ciclo do *Trypanosoma* envolve dois hospedeiros, sendo um invertebrado, que é o intermediário, e um vertebrado, que é considerado o hospedeiro definitivo (SILVA et al., 2002).

Nos insetos a contaminação ocorre pela ingestão das formas tripomastigotas durante o repasto sanguíneo que no inseto, ficam alojadas no esôfago e laringe, onde se transformam em



epimastigotas binárias (SILVA; SANCHEZ; DÁVILA, 2003). Após 24 horas as epimastigotas migram para o canal alimentar, onde se multiplicam e depois, seguem em direção à hipofaringe, onde se transformam em tripomastigotas e em seguida nas formas metatripanosomas que é a forma infectante (SILVA et al., 1996). Nos mamíferos o ciclo do *T. vivax* é iniciado pela inoculação da forma metatripanosoma pelo repasto sanguíneo do vetor intermediário (SILVA et al., 2002).

A transmissão da doença nas Américas Central e do Sul, ocorre de forma mecânica, por moscas hematófagas do gênero *Stomoxys calcitrans*, conhecida como mosca dos estábulos e *Tabanus* spp, mutuca e ainda de maneira iatrogênica (CADIOLI et al., 2012; DAGNACHEW; BEZIE et al., 2015; BASTOS et al., 2017). A transmissão transplacentária também é citada na literatura como uma possível fonte de infecção (BATISTA et al., 2008).

### 2.2.2 Epidemiologia

Inicialmente a tripanossomíase bovina foi identificada no continente africano, onde era causada por diversas espécies do gênero *Trypanosoma* sp. e lá, possuíam como vetor as moscas do gênero *Glossina* sp. (PAIVA et al., 2000). A introdução do *T. vivax* na América do Sul começou pela Guiana Francesa pela importação do gado Zebu proveniente do Senegal no ano de 1830, porém, o intenso comércio de gado entre Brasil e países Africanos antes de 1830 também pode ter trazido o *T. vivax* para a América do Sul. Apenas o *T. vivax* conseguiu se adaptar na ausência da mosca tsé-tsé, que é seu vetor original e, tal adaptação permitiu sua rápida disseminação em territórios livres deste vetor, que teoricamente estariam livres da presença do parasito (PAIVA et al., 2000).

A primeira detecção de *T. vivax* no Brasil ocorreu no estado do Pará, em bovinos (BODA et al., 1946). E em uma criação de búfalos no Estado do Pará, alguns anos depois, detectaram o parasita em esfregaço sanguíneo de búfalo que apresentava como sinais clínicos febre e emagrecimento (SHAWN; LAINSON, 1972). Um surto da doença em rebanho bovino foi relatado por Serra Freire (1981), no Amapá. Em Poconé, Mato Grosso, houve surto em 10 bovinos, relatado por Silva et al. (1996). No Mato Grosso do Sul, houve detecção do parasita na cidade de Miranda (PAIVA et al., 1997).

Há relatos da doença em vários estados brasileiros. No Maranhão (GUERRA et al., 2008; MELO et al., 2011); em Pernambuco, Pimentel et al. (2012) detectou a presença do parasita por meio de técnicas de microscopia biométrica e reação em cadeia de polimerase.

No Rio Grande do Sul, houve identificação da forma tripomastigota em teste parasitológico e confirmação do diagnóstico por técnica de PCR em vaca com sinais neurológicos (SILVA et al., 2009).

Na região sudeste há relato de surto na cidade de Lins, estado de São Paulo (CADIOLI et al., 2012). Carvalho et al. (2008) descreveram a detecção do parasita em animais que perderam a visão e estavam com escore de condição corporal baixo, em Minas Gerais.

### 2.2.3 Sinais clínicos

A forma super aguda apresenta alta parasitemia, apresentando persistência e podendo levar a óbito dentro de três semanas pós contágio. Nos quadros clínicos agudos ocorre parasitemia e anemia resultante da redução dos parâmetros eritrocitários, sendo um dos principais sinais clínicos da doença e erroneamente associado à tristeza parasitária bovina (ANDRIANARIVO et al., 1995; GERMANO, 2018). Os bovinos infectados demonstram febre, depressão, anorexia, sinais neurológicos como opstótono, cegueira e estrabismo (BATISTA et al., 2007), baixo escore de condição corporal, tosse e secreção nasal (CADIOLI et al., 2012), baixa qualidade do sêmen (ABRÃO, 2011), linfonodos palpáveis aumentados, frequências cardíaca e respiratória aumentadas e mucosas pálidas (CARVALHO et al., 2008).

Ainda podem ocorrer as fases crônica e subpatente da infecção, que é caracterizada pela parasitemia muito baixa, o que dificulta o diagnóstico nos rebanhos (CADIOLI et al., 2015; FIDELIS JUNIOR et al., 2019).

Em um estudo realizado na região de Minas Gerais em trinta propriedades leiteiras, 971 bovinos foram avaliados e os sinais clínicos observados, além dos supracitados, foram: apatia, anorexia, edema submandibular, pulso jugular positivo, ingestão compulsiva de solo, parto prematuro, abortamento (em vários estágios de gestação), queda de fertilidade, dificuldade de locomoção, cegueira, hipermetria e andar em círculos (DE OLIVEIRA REIS et al., 2019).

A instalação e a gravidade de infecção causada pelo *Tripanossoma vivax* serão determinados pelo ambiente que o animal está inserido, parasitemia, e características inerentes ao animal, como: raça, idade, tripanotolerância e fatores genéticos (OSÓRIO et al., 2008).

A cronicidade pode ocorrer de seis a oito semanas pós infecção, sendo que nem todos os animais apresentarão a evolução das fases da doença de maneira similar, podendo haver sintomas mais acentuados ou mais silenciosos (ADAMU et al., 2007).

#### 2.2.4 Diagnóstico e tratamento

A associação entre a avaliação clínica e o uso de exames laboratoriais, como técnicas parasitológicas, sorológicas e/ou moleculares podem ser necessárias para que seja estabelecido o diagnóstico (MENESES, 2016). As técnicas de diagnóstico parasitológicas são mais as utilizadas em campo sendo de fácil execução, rápidas e baratas, tais como técnica da gota espessa (SILVA et al., 2002), técnica do micro hematócrito ou Woo (WOO, 1970) e, por fim, a técnica do *Buffy Coat* (MURRAY et al., 1977). Porém para que o diagnóstico correto por meio das técnicas parasitológicas seja feito, é necessário que a análise seja realizada poucas horas após a coleta (GÓMEZ-PIÑERES et al., 2009).

Já o método de identificação molecular mais usado é PCR. Apesar de ter um custo mais alto e não ser viável de ser feito em campo, pois necessita de um laboratório especializado, apresenta maior sensibilidade por detectar frações menores do parasita no organismo (PEREIRA et al., 2018).

Outra opção são os testes sorológicos, eles apresentam maior sensibilidade que os testes parasitológicos, e podem comprovar se o resultado negativo obtido no parasitológico se confirma, dentre os mais utilizados para o diagnóstico de tripanossomose destacam-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (IFI) e o Ensaio de Imunoadsorção Enzimático (ELISA).

Os fármacos para tratamento de tripanossomíase no Brasil, liberados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) são diaceturato de diminazeno e cloreto de isometamidium (CASTILHO NETO et al., 2021). Apesar de haver evidência relatada sobre a resistência a esses tripanocidas (CADIOLI et al., 2012; BASTOS et al., 2017), há também relatos de eliminação do parasito infectados de forma experimental (BASTOS et al., 2020).

As formas de controle da doença, além do tratamento adequado dos animais infectados, envolvem também controle de moscas, restrição da movimentação dos animais infectados, realização de exames antes da compra ou inclusão de animais no rebanho e conhecimento da epidemiologia local (GIORDANI et al., 2016).

### 2.3 RINOTRAQUÍTE INFECCIOSA BOVINA

### 2.3.1 Etiologia

O herpesvírus bovino tipo I (BoHV-1) pertence a subfamília *Alphaherpesvirinae*, gênero *Varicellovirus* e está associado a doença respiratória, genital e abortos (FRANCO; ROEHE, 2007). A síndrome respiratória causada em bovinos é conhecida como Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR) e a forma genital da doença está relacionada aos quadros conhecidos como vulvovaginite pustular, balanopostite e abortos (ACKERMANN; ENGELS, 2006).

É um vírus com genoma de DNA fita dupla linear envelopado (FRANCO; ROEHE, 2007; KING et al., 2012) que fica dentro do capsídeo.

Este capsídeo é composto de estrutura proteica icosaédrica cercado pelo tegumento. O envelope é a parte mais externa que circunda todas as estruturas citadas e apresenta disposição lipoprotéica semelhante à membrana de células eucarióticas com glicoproteínas virais transmembrana (FRANCO; ROEHE, 2007). As glicoproteínas que compõem o envelope viral são causadoras da patogenia e da resposta imune à doença por parte do hospedeiro (SPEAR; LONGNECKER, 2003).

De acordo com as particularidades antigênicas e genômicas, o Herpesvírus Bovino Tipo-1 pode ser subdividido em três subtipos e suas afecções geralmente são de caráter respiratório e reprodutivo, a saber: BoHV-1.1, relacionado a abortos, infertilidade e aos sinais de rinotraqueíte (IBR); BoHV-1.2a responsável também por manifestações respiratórias assim como sinais de Vulvovaginite Pustular Infeciosa (IPV) e Balanopostite Pustular Infeciosa (IBP); e por fim BoHV-1.2b que é o de menor patogenicidade e pouco comum no Brasil, está geralmente ligado a quadros respiratórios mais leves (GAY; BARNOUIN, 2009). Não há evidências de que as manifestações clínicas e epidemiológicas possibilitem a identificação de forma individual entre os subtipos, uma vez que os quadros clínicos não são de natureza exclusiva e o desenvolvimento dos mesmos depende mais da via de infecção que do subtipo de vírus envolvido (OIE, 2016).

### 2.3.2 Epidemiologia

A infecção por BoHV-1 ocorre em todas as idades, porém o aumento da idade é um fator de risco (RAAPERI et al., 2010). Bezerras apresentam menor prevalência, embora a taxa de soroconversão seja maior em animais com idade inferior a 24 meses de idade (SEGURACORREA; SOLORIO-RIVERA; SÁCHEZ-GIL, 2010). É uma enfermidade com alta morbidade e baixa mortalidade (5%) e geralmente a morte se deve a problemas decorrentes de

infecções secundárias (FRANCO; ROEHE, 2007). As principais fontes de contaminação pelo vírus são secreções respiratórias, oculares e genitais (FINO et al., 2012). A transmissão por sêmen é de suma importância tanto em monta natural quanto em propriedades que utilizam inseminação artificial, uma vez que o ejaculado entra em contato com a mucosa do prepúcio que pode estar contaminada com vírus (FRANCO; ROEHE; VARELA, 2012). Em estudo que analisou amostras de sêmen congelado e fresco, 44% (25/57) apresentaram resultado positivo para BoHV-1 (OLIVEIRA et al., 2011). A transmissão pode ser direta ou indireta sendo a primeira quando há contato com aerossóis e secreções contaminados e a segunda em casos de fômites contaminados (NANDI et al., 2009).

O primeiro levantamento sorológico da doença realizado no Brasil foi por meio de teste de vírus neutralização, realizado na Bahia, no qual 34,5% foram reagentes (GALVÃO et al., 1963). O isolamento do vírus no Brasil foi realizado pela primeira vez em 1978 no estado da Bahia por Alice a partir de pústulas vaginais de vacas, portanto em sua forma genital característica de vulvovaginite pustular infecciosa IPV (ROCHA et al., 1999).

Há relato de isolamento no estado do Rio Grande do Sul desde 1991 (WEIBLEN et al., 1991). Estudo realizado em Goiás obteve prevalência de 51,9% (BARBOSA et al., 2005). No estado do Paraná, ao analisar propriedades com histórico de distúrbios relacionados a reprodução, 41,9% do total de animais estudados e 90,5% dos rebanhos leiteiros, apresentaram teste positivo para o vírus (MÉDICI et al., 2000). No Rio Grande do Sul, a prevalência encontrada foi de 29,2% de animais positivos para ambos os vírus, BoHV-1 e BoHV-5 (HOLZ et al., 2009). Em estudo realizado por Dias et al. (2008), a região Oeste do Paraná apresentou prevalência de 64,41%. No estado de Minas Gerais, estudo que analisou amostras recebidas de forma espontânea no período de 1990 a 1999, obteve 58,2% (3206/5511) de animais positivos e em relação às propriedades, o valor foi de 93,4% (313/335) (ROCHA et al., 2001). Alexandrino et al. (2011) observaram 54,68% (152/258) de amostras positivas provenientes de municípios dos estados de Minas Gerais e São Paulo.

### **2.3.3 Sinais clínicos**

A principal via de entrada do BoHV-1 são as mucosas da cavidade nasal, olhos, orofaringe e trato genital. O ciclo de replicação ocorre nas células do epitélio, com a destruição celular e manifestação dos primeiros sinais clínicos. Os órgãos dos sistemas digestivo, reprodutivo e nervoso podem ser atingidos por via hematogênica ou ainda pode ocorrer

penetração nas células nervosas e o vírus então ser conduzido de forma retrógrada do axônio para o corpo do neurônio, local no onde a infecção latente é estabelecida (FRANCO et al., 2012).

Observa-se ainda que há queda na produção leiteira, morte embrionária e fetal, abortamentos, endometrite, repetição de cios e atraso no crescimento de bezerras (FRANCO et al., 2012). Em relação ao abortamento, nota-se que geralmente ocorre entre o quinto e oitavo mês de gestação e que o período de incubação é de aproximadamente três a seis semanas (FRANCO; ROEHE, 2007).

### **2.3.4 Diagnóstico e tratamento**

Os métodos diagnósticos devem ser utilizados sempre que novos animais forem introduzidos nos rebanhos e é necessário que sejam sensíveis o bastante para que resultados falso-negativos não ocorram, especialmente em casos nos quais os títulos de anticorpos específicos para a doença são baixos. Porém, vale ressaltar, que em casos nos quais utiliza-se a vacina contra BoHV-1, testes de ELISA e Soroneutralização não são viáveis (TAKIUCHI et al., 2001).

A Soroneutralização apresenta altas sensibilidade e especificidade e, portanto, é o teste de referência em termos de diagnóstico sorológico nas infecções por BoHV-1 (WYLER et al., 1989; OIE, 2010). Este teste detecta a presença do vírus pelo efeito citopático, após dois a quatro dias de incubação. O efeito que melhor caracteriza a infecção por BoHV é a desorganização celular, vacuolização e agrupamento de células arredondadas que dão um aspecto de “cacho de uva” (BRUM; WEIBLEN, 2012). Soroneutralização é uma técnica laboriosa, que faz necessária a manutenção de estoque de vírus e cultivos de células adequados.

O diagnóstico por meio de ELISA é amplamente utilizado devido à sua alta sensibilidade, especificidade e por apresentar facilidade de executar o teste em grande escala. Os reagentes são estáveis, e os resultados são quantificados por meio de espectrofotômetro (BOLTON et al., 1983). No Brasil, a aquisição dos testes comerciais tem custo de aquisição elevado, o que tem intensificado o uso de testes de ELISA produzidos internamente (TEIXEIRA et al., 2001; SPILKI et al., 2005).

Alguns países europeus conseguiram a erradicação da doença, porém os custos são altos e a viabilidade só é observada em países que apresentam baixa prevalência. Além do mais, seria

necessário o abate sanitário dos animais que aparentam estar saudáveis (ACKERMANN; ENGELS, 2006).

A vacinação pode ser utilizada a fim de abrandar as perdas e reduzir ao máximo possível a circulação viral em áreas cuja doença apresenta caráter endêmico, pois a vacina reduz a severidade, replicação e a transmissão, contudo não impede a infecção (ACKERMANN; ENGLES, 2006).

O uso de vacinas no Brasil, teve início na década de 1990, com utilização de vacinas importadas dos Estados Unidos. Porém, em 2004, a importação de produtos biológicos de origem americana foi proibida. Iniciou-se a importação de imunizantes vindos da Argentina e Uruguai cujos testes realizados demonstraram que não havia indução eficiente de anticorpos anti-BoHV-1 (SILVA et al., 2007).

## 2.4. DIARREIA VIRAL BOVINA (BVD)

### 2.4.1 Etiologia

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* (PETERHANS et al., 2010). Apresenta-se como uma molécula de RNA linear fita simples como material genético, com polaridade positiva, com aproximadamente 12,5 kb. São vírus envelopados com composição das membranas das células hospedeiras e com tamanho de 40 a 60 nm de diâmetro. Pela presença do envelope, esses vírus são susceptíveis a solventes orgânicos e detergente (RIDPATH; FLORES, 2007).

### 2.4.2 Epidemiologia

É uma doença de distribuição mundial com relatos de BVDV em vários países: Reino Unido, Escócia, Noruega, Dinamarca, Suécia, Alemanha, Áustria, Itália, Suíça, França, Espanha, Portugal, Cuba, Uruguai, Chile, Jordânia, Nova Zelândia, Grécia, Bélgica, Brasil (BILLINIS et al., 2005; LETELLIER et al., 2005; GROOMS; BAKER; AMES, 2006).

No Rio Grande do Sul, o isolamento foi realizado pela primeira vez em sangue de feto (VIDOR et al., 1974). Estudos sorológicos demonstram a ampla distribuição da doença no Brasil (FLORES, 2005; QUINCOZES, 2005).

Estudo realizado com 4065 amostras de rebanhos provenientes de vários estados do Brasil, no período entre julho de 1995 e agosto de 1997, constatou prevalência de 47,7% de animais reagentes (PITUCO; DEL FAVA, 1998). No Paraná, a prevalência em gado leiteiro foi de 73,47% (688/937) (MÉDICI et al., 2000). Já em outros estudos, no Rio Grande do Sul, a prevalência foi de 8,8% (1028/11711) (BRUM et al., 2004), 39,33% (5717/14535) (FLORES et al., 2005), 58,8 (410/697) (FLORES et al., 2005), 66,32% (1150/1734) (QUINCOZES et al., 2007) e 57,7% (442/765) (FRANDOLOSO et al., 2008). Em estudo realizado por Alexandrino et al. (2011) observou-se prevalência de 69,8% (194/278) sendo que desses, 57,5% (92/160) foram provenientes do estado de São Paulo e 86,4% (102/118) de Minas Gerais.

Um importante fator na epidemiologia da infecção são os animais persistentemente infectados (PI) (DUBOVI, 1992). Esses animais são soronegativos, podem não apresentar sintomatologia clínica e apresentam como principal característica a excreção contínua do vírus em titulação alta e secreções nasais, saliva, sêmen, leite e ainda em urina e fezes, porém em titulação menor (RIDPATH; FLORES, 2007).

### **2.4.3 Sinais clínicos**

Animais com infecção apresentam leucopenia e trombocitopenia o que tem como consequência, uma imunossupressão principalmente celular. As manifestações clínicas associadas ao BVDV podem ser classificadas de três formas mais comuns: infecção aguda leve (gastroentérica e respiratória); infecção aguda severa (gastroentérica, respiratória e hemorrágica); e doença das mucosas (RIDPATH; FLORES, 2007).

A infecção aguda leve acomete geralmente animais imunocompetentes que não são PI (LIEBLER-TENORIO, 2005). Os sinais clínicos podem ser: hipertermia, inapetência, depressão, febre, anorexia, diarreia, leucopenia, descarga oculonasal, diminuição da produção de leite, erosões e ulcerações orais, interdigitais e nos tetos (BAKER, 1995; CAMPBELL, 2004, EVERMANN; BARRIGTON, 2005). Bezerros podem apresentar enterite e pneumonia (POTGIETER, 1997).

Nas infecções agudas severas ocorrem casos de síndrome hemorrágica (KAHN, 2007). O quadro apresenta alta morbidade e letalidade e os sinais incluem febre, depressão, leucopenia, trombocitopenia, diarreia sanguinolenta, desidratação, hemorragia ocular, equimoses, lesões no trato digestivo, hemorragias subcutâneas, linfonodos aumentados de tamanho e morte do animal (GROOMS; BAKER; AMES, 2006).



Doença das mucosas (DM) tem manifestação esporádica, afetando menos de 5% do rebanho. O período de incubação de 10 a 14 dias após a exposição à cepa CP (citopática). Os sinais apresentados são febre bifásica, anorexia, taquicardia, polipneia (respiração ofegante), queda na produção e diarreia profusa, podendo ser sanguinolenta e fétida; as papilas orais podem apresentar aspecto rombo, e podem surgir erosões na língua, palato, superfícies bucais e faringe. Podem também apresentar lesões no espaço interdígital, tetos e vulva e dermatite generalizada. A mortalidade na doença das mucosas forma aguda é alta (GROOMS; BAKER; AMES, 2006).

Já na forma crônica, os animais podem apresentar episódios recorrentes de fezes amolecidas ou diarreia, hiporexia, emagrecimento, apatia, erosões no interdígito e lesões erosivas na mucosa oral e na pele, que geralmente não cicatrizam com facilidade. Ainda podem apresentar corrimentos nasal e ocular de forma persistente. Quando o rebanho apresenta perdas embrionárias, malformações, abortos, nascimento de animais fracos e morte perinatal, pode haver a suspeita de infecção pelo vírus da BVDV (ANDREWS et al., 2004)

#### **2.4.4 Diagnóstico e tratamento**

O BVDV é tido como uma das doenças mais difíceis de se realizar o diagnóstico e controle. O vírus pode ser isolado por meio de secreções nasais, sangue, fezes, linfonodos e intestinos (HIRSH; ZEE, 2003).

De acordo com o objetivo clínico, com o rebanho e do número de amostras a serem testadas deve-se escolher o método de diagnóstico mais adequado para a situação (DIAS et al., 2010). Entre as técnicas disponíveis estão isolamento viral, imunofluorescência, imunohistoquímica, soroneutralização, ELISA, RT-PCR, *Southern blot*, *Northern blot* e *dot /slot blot* (RIDPATH; FLORES 2007). É importante a identificação das estirpes virais para o monitoramento da doença e para estudar novas estirpes e assim possibilitar desenvolvimento de vacinas mais efetivas com segurança (OLIVEIRA, 2013).

Não há tratamento específico para a doença, porém existem alguns casos autolimitantes (CANÁRIOS et al., 2009). O tratamento apresenta como objetivo diminuir os sinais clínicos mais intensos como a desidratação, febre, apatia entre outros e prevenir que surjam infecções secundárias (GROOMS; BAKER; AMES, 2006). É importante o cuidado com a entrada de animais no rebanho, sendo fundamental que se realize exames para comprovar que não estejam infectados e ainda realizar período de quarentena (BROCK et al., 2006; KAH, 2007). O uso de

vacina, para que seja eficiente, deve ter efeito sobre a viremia e ainda impedir que ocorra a infecção de células dos sistemas reprodutivo e linfático para evitar a contaminação do feto e a imunossupressão (KELLING, 2004).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a prevalência de anticorpos anti *T. vivax*, IBR e BVD em fêmeas bovinas com suspeita clínica de *Trypanosoma vivax*.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a prevalência de anticorpos anti *T. vivax*, IBR e BVD de acordo com a sazonalidade;
- Avaliar as coinfeções entre *T. vivax* e IBR;
- Avaliar as coinfeções entre *T. vivax* e BVD.

### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1 NORMAS ÉTICAS**

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Uberaba (Ofício CEEA – 004/2020) (Anexo 1).

#### **4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS**

No período compreendido entre 2013 e 2020 foram encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) da Universidade de Uberaba (UNIUBE) 1443 amostras de sangue de fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase (distúrbios reprodutivos,

apatia, febre anorexia) para exame sorológico, das quais 121 foram solicitados testes para estabelecer diagnóstico diferencial para IBR e 123 para BVD.

#### 4.3 OBTENÇÃO DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Os dados referentes ao diagnóstico sorológico para tripanossomíase, bem como os dados quanto ao diferencial para IBR e BVD foram obtidos dos registros do Setor de Medicina Veterinária Preventiva do Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) da Universidade de Uberaba (UNIUBE).

Para melhor interpretação dos dados, eles foram agrupados de acordo com a doença. E os meses do ano foram agrupados por estação (primavera, verão, outono e inverno).

#### 4.4 PESQUISA SOROLÓGICA

A pesquisa de anticorpos anti *T. vivax* foi realizada conforme a metodologia descrita por Cuglovici et al., (2010). No momento da reação, as lâminas contendo o antígeno de *T. vivax* foram retiradas do freezer e secas em estufa a 37°C por cinco minutos. Os soros foram diluídos e distribuídos nas lâminas contendo o antígeno e incubadas em estufa por 30 minutos à 37°C. Em seguida foram realizadas três imersões durante cinco minutos cada uma delas em PBS (Fosfato de sódio monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 0,256%, Fosfato de sódio dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 1,178%, NaCl 8,76%, Água destilada qsp 100mL) e, posteriormente, secagem à temperatura ambiente. Adicionou-se o conjugado anti-IgG de bovino marcado com Isotiocianato de Fluoresceína (Sigma<sup>®</sup>) na diluição recomendada pelo fabricante (1:200) em azul de Evans (1:50 em PBS Tween 20) e incubada por mais 30 minutos em estufa a 37 °C. Realizaram-se novamente três imersões de cinco minutos em PBS e secagem em temperatura ambiente. Posteriormente, as lâminas foram cobertas com glicerina tamponada e lamínulas. As leituras das lâminas foram realizadas em microscópio de epifluorescência (Nikon Eclipse E200<sup>®</sup>), com o aumento de 400X. Foram consideradas positivas as reações com fluorescência com títulos  $\geq$  1:80 (GARCÍA et al., 2006). Soros de bovinos infectados experimentalmente e não infectados com *T. vivax* foram utilizados como controles positivos e negativos respectivamente na diluição 1:80.

A pesquisa de anticorpos anti IBR e BVD, por ELISA, foi realizada no Laboratório TECSA.

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação entre os percentuais de amostras positivas foi realizada pelo teste de Qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ ), utilizando-se o software R Core Team (2015).

### 5 RESULTADOS

Das 1443 amostras analisadas pode-se notar que a soroprevalência para *T. vivax* (57,10% - 824/1443) foi significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) a IBR (87,60% - 106/121) e BVD (70,73% - 87/123) (Fig. 1).

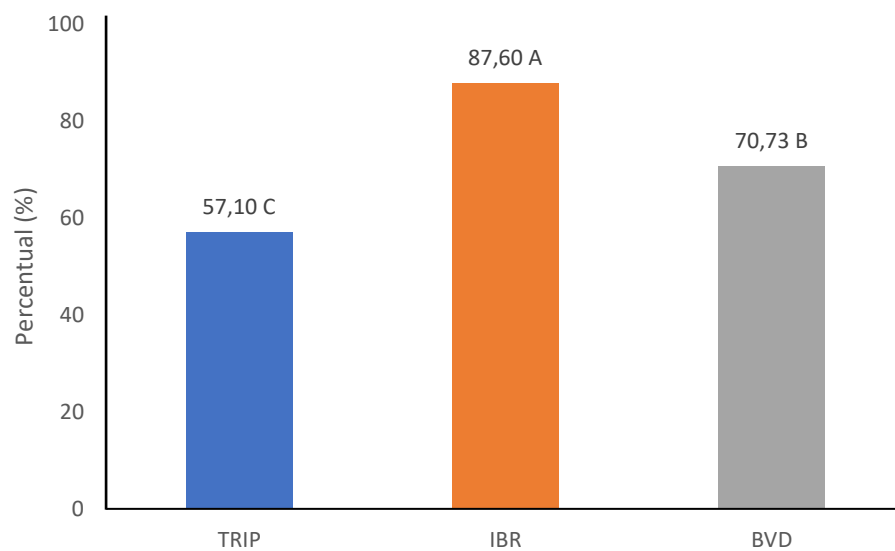
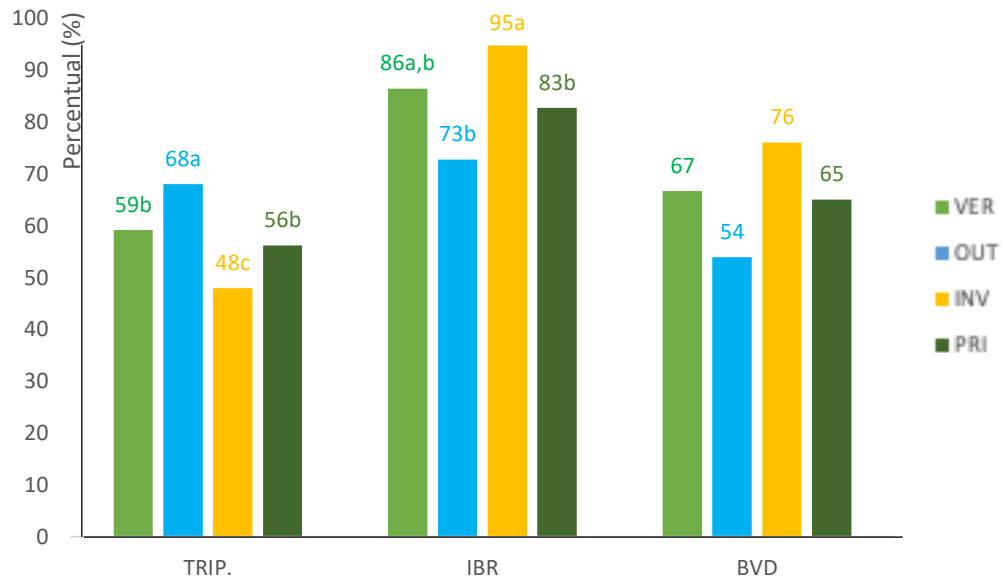


Figura 1: Prevalência de anticorpos anti-*T. vivax*, anti-BHV-1 e anti-BVDV em amostras de sangue de fêmeas bovinas encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) no período entre 2013 e 2020. Letras distintas diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Observou-se que as três enfermidades apresentam soroprevalência durante todo o ano (Fig. 2). Quando se comparou a prevalência individual das doenças nas diferentes estações, a presença de anticorpos anti-*T. vivax* foi maior durante o outono (68,00% - 206/303), enquanto IBR foi mais prevalente no inverno (95,00% - 108/114) e a soroprevalência de BVD não variou entre as estações.



Formatar a legenda percentual!

Figura 2: Prevalências de anticorpos anti-*T. vivax*, anti-BHV-1 e anti-BVDV em amostras de sangue de fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) no período entre 2013 e 2020 de acordo com as estações do ano. Letras distintas diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade

Ao realizar-se comparação entre doenças (Fig. 3), o outono foi a única estação na qual as doenças não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ). IBR variou durante todo o ano ( $p > 0,05$ ) e manteve-se com prevalência igualmente significativa em relação à BVD ( $p > 0,05$ ). Esta última não apresentou diferença significativa da soroprevalência entre as estações (76%) ( $p < 0,05$ ).

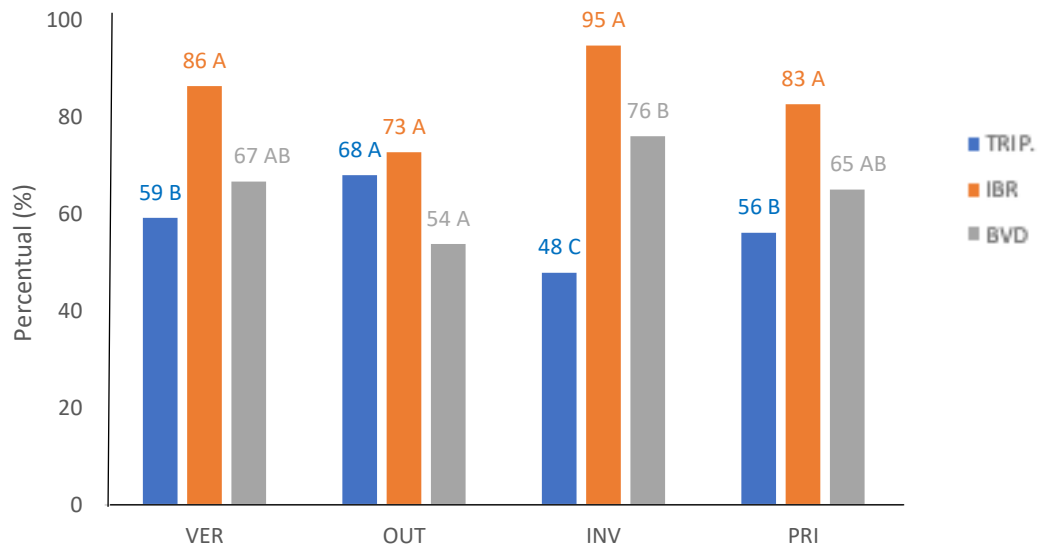


Figura 3: Comparação das prevalências de anticorpos anti-*T. vivax*, anti-BHV-1 e anti-BVDV em amostras de sangue de fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase encaminhadas para o Hospital Veterinário de Uberaba (HVU) no período entre 2013 e 2020 de acordo com as estações do ano. Letras distintas diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Ao avaliar as coinfeções entre *T. vivax* e IBR notou-se que 42,15% (51/121) dos animais apresentaram resultado positivo para ambas as doenças (Tab. 1). A correlação entre BVD e *T. vivax*, por sua vez, revelou um total de 29,27% (36/123) de indivíduos positivos para ambas as enfermidades (Tab. 2).

**Tabela 1.** Coinfeções entre IBR e *T. vivax*.

COINFEÇÕES IBR E <i>T. VIVAX</i>	<i>T. vivax</i> NEGATIVO	<i>T. vivax</i> POSITIVO
IBR NEGATIVO	3,30% (4/121)	7,44% (9/121)
IBR POSITIVO	47,11% (57/121)	42,15% (51/121)
<b>TOTAL</b>		100 % (121)

**Tabela 2.** Coinfecções entre BVD e *T. vivax*

<b>CORRELAÇÃO DE BVD E <i>T. vivax</i></b>	<b><i>T. vivax</i> NEGATIVO</b>	<b><i>T. vivax</i> POSITIVO</b>
<b>BVD NEGATIVO</b>	13,82% (17/123)	15,44% (19/123)
<b>BVD POSITIVO</b>	41,47% (51/123)	29,27% (36/123)
<b>TOTAL</b>	100% (123)	

## 6 DISCUSSÃO

A prevalência observada para as três doenças indica que a distribuição da doença na região estudada, pode gerar impacto negativo na reprodução de bovinos de corte e leite (ALFIERI; ALFIERI, 2017) e estão disseminadas pelo território brasileiro, como observado por Zanatto et al. (2019). A associação entre as três doenças foi relatada em estudo que realizou análise epidemiológica em propriedades de corte e leite de quatro estados brasileiros e houve prevalência de 0,98% (1/102) de amostras provenientes do estado de Minas Gerais (ZANATTO et al., 2019).

As prevalências do presente estudo para as três enfermidades são elevadas, corroborando com estudo de Zanatto et al. (2019) que relataram prevalência de 57,8% (59/102) para BoHV-1, 47,1% (48/102) para BVDV-1 e 50% (51/102) para *T. vivax*.

Os resultados do presente estudo reforçam que o comprometimento do trato reprodutivo de machos e fêmeas da espécie bovina é, em sua maioria, causado por agente infecciosos. Os sinais clínicos apresentados podem ser comuns a mais de uma doença, dentre esses agentes etiológicos. Portanto, a única forma de estabelecer-se o diagnóstico definitivo, bem como determinar se há mais de uma etiologia é com auxílio de diagnóstico laboratorial (TAKIUCHI et al., 2003; 2005; CORTEZ et al., 2006).

A alta prevalência de IBR, reforça os valores para animais não vacinados já relatados, entre 18% e 90% de soropositividade (LOVATTO et al., 1995; TAKIUCHI et al., 2001; DIAS et al., 2013). Tal fato pode ser justificado devido o agente etiológico ocasionar infecções latentes. Nesses casos, as respostas imunes humoral e celular não conseguem debelar a infecção, pois o genoma do vírus apresenta-se em células ganglionares. Desta forma, bovinos infectados,

são fontes potenciais de transmissão viral, ou seja, portadores durante toda a vida do animal (TAKIUCHI et al., 2005).

No caso da BVD, a prevalência elevada está de acordo com as taxas já descritas, de 22,2% a 85,4% (QUINCOZES et al., 2007; ALMEIDA et al., 2013; FLORES et al., 2013) e pode ter relação com a epidemiologia da doença. O vírus leva à possibilidade de que haja nascimento de bezerros persistentemente infectados (PI). Desta forma, os animais PI são a principal forma de manutenção viral no rebanho porque podem eliminar vírus por todas as secreções (DIAS et al., 2010; OTONEL et al., 2014).

A prevalência maior que 50% de *T. vivax* em três das quatro estações do ano (primavera, verão e outono), pode estar relacionada às condições climáticas que favorecem a presença dos vetores mecânicos da doença, presença de animais não imunizados previamente e o compartilhamento de agulhas (CADIOLI et al., 2012; BASTOS et al., 2017).

O presente trabalho corrobora com ZANATTO et al. (2019), no ponto em que ambos descreveram que fêmeas bovinas podem apresentar simultaneamente mais de um agente infeccioso que tem potencial de impactar negativamente a reprodução. Antoniassi et al. (2013) analisou 227 casos de abortos bovinos, com diagnóstico conclusivo. Destes, sendo 87,66% (199/227) de origem infecciosa, 0,88% (2/227) foram causados por associações, entre diferentes classes de microrganismos. Quando comparado ao presente estudo nota-se que um percentual maior de animais testados para tripanossomíase apresentou coinfeção com IBR (42,15%) e BVD (29,27%).

A partir das soroprevalências obtidas no presente trabalho, reforça-se as informações citadas por Mendes et al. (2009) e Moreira et al. (2020), acerca da necessidade de solicitar demais exames para as doenças infecciosas que acometem o trato reprodutivo. Somente 121 e 123 animais foram testados para IBR e BVD, respectivamente, de um total de 1443 fêmeas bovinas testadas para *T. vivax*. Tal fato nos permite inferir que das fêmeas bovinas não reagentes para *T. vivax* 42,90% (619/1443) podem ter sido consideradas falso-negativas para demais patologias reprodutivas, incluindo IBR e BVD, uma vez que não foram testadas.



## 7 CONCLUSÕES

De acordo com as análises obtidas no presente trabalho, pode-se concluir que:

- A prevalência de anticorpos anti *T. vivax* em fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase é acima de 50%, durante todo o ano, exceto no inverno.
- A prevalência de IBR e BVD em fêmeas bovinas com suspeita clínica de tripanossomíase é maior que a prevalência de anticorpos anti-*T. vivax*.
- A prevalência de *T. vivax* e IBR variou de acordo com a sazonalidade.
- *T. vivax* pode se apresentar concomitantemente com IBR e BVD em fêmeas bovinas, sendo importantes diagnósticos diferenciais.

## REFERÊNCIAS

- ABRÃO, D. C.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; SATURNINO, H. M.; RIBEIRO, M. F. B. Impacto econômico causado por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino leiteiro no estado de Minas Gerais. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, p. 672-676, 2009. Suplemento 1.
- ACKERMANN, M.; ENGELS, M. Pro and contra IBR-eradication. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.113, p. 293-302, 2006.
- ADAMU, S.; FATIHU, M.Y.; USEH, N.M.; MAMMAN, M.; SEKONI, V.O.; ESIEVO K.A.N. Sequential testicular and epididymal damage in zebu bulls experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 29–34, 2007.
- ALEXANDRINO, B. DIA, F. C.; OLIVEIRA, M. C.; AFFONSO, I. B.; PEREIRA, G. T.; SAMARA, S. I. Infectious bovine rinotracheitis associated with bovine viral diarrhoea and enzootic bovine leukosis/Herpesvírus bovino associado à diarreia viral bovina e à leucose enzoótica bovina. **Ars Veterinaria**, v. 27, n. 3, p. 168-174, 2011.
- ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Doenças infecciosas que impactam a reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 133-139, 2017.
- ALMEIDA, L. L.; MIRANDA, I. C. S.; HEIN, H. E.; SANTIAGO, W. S. N. O.; COSTA, E. F.; MARKS, F. S.; RODENBUSCH, C. R.; CANAL, C. W.; CORBELLINI, LG. Herd-level risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds from southern Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 95(3), p. 901-907, 2013.
- ANDREWS, A.H.; BLOWEY R.W.; BOYD H.; EDDY R.G. *Bovine Medicine: diseases and husbandry of cattle*. 2. ed. Oxford: Blackwell Science, 2004.
- ANDRIANARIVO, A.G.; MUIYA, P.; OPOLLO, M.; LOGAN-HENFREY, L.L. *Trypanosoma congolense*: comparative effects of a primary infection on bone marrow progenitor cells from N'Dama and Boran cattle. **Experimental Parasitology**, v. 80, p. 407–418, 1995.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 425-445, 1995.
- BARBOSA, A. C. V. da C.; BRITO, W. M. E. D. de; ALFAIA, B. T. Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo Herpesvírus Bovino Tipo-1 (BHV-1) no Estado de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1368–1373, 2005.

BASTOS, T. S. A.; FARIA, A. M.; MADRID, D. M. C.; BESSA, L. C.; LINHARES, G. F. C.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; CRUZ, B. C.; CRUVINEL, L. B.; NICARETTA, J. E.; MACHADO, R. Z.; COSTA, A. J, LOPES, W. D. Z. First outbreak and subsequent cases of *Trypanosoma vivax* in the state of Goiás, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 366-371, 2017.

BASTOS, T. S. A.; FARIA, A. M.; COUTO, L. F. M.; NICARETTA, J. E.; CAVALCANTE, A. S. A.; ZAPA, D. M. B.; FERREIRA, L. L.; HELLER, L. M.; MADRID, D. L. C.; CRUVINEL, L.B. Epidemiological and molecular identification of *Trypanosoma vivax* diagnosed in cattle during outbreaks in central Brazil. **Parasitology**, v. 147, n. 12, p. 1313-1319, 2020.

BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M.; MADRGA, C. R.; SIMÕES, S. D. V.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 147-181, 2007.

BATISTA, J. S.; BEZERRA, F. S. B.; LIRA, R. A.; CARVALHO, J. R. G.; NETO, A. M. R.; PETRI, A. A.; TEIXEIRA, M. M. G. Aspectos clínicos, epidemiológicos e patológicos da infecção natural em bovinos por *Trypanosoma vivax* na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 63-69. 2008.

BITTAR, J. F. F.; MOURA, D.; YOKOTA, C. G.; SOUZA JÚNIOR, W. R. M.; PEREIRA, S. A. L.; BITTAR, E. R.; PANETO, J. C. C.; OLIVEIRA, P. C. L. **Trypanosomatídeos em bovinos: isolamento, identificação e avaliações laboratoriais e clínica de animais na região de Uberaba-MG, naturalmente infectados**. In: VII Seminário de Iniciação Científica da Universidade de Uberaba, 2006, Uberaba-MG. **Anais[...]**VII Seminários de Iniciação Científica da Universidade de Uberaba, 2006. Uberaba, 2006.

BILLINIS, C.; LEONTIDES, L.; AMIRIDIS, G. S.; SPYROU, V.; KOSTOULAS, P.; SOFIA, M. Prevalence of BVDV infection in Greek dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 1, n. 72, p. 75-79, 2005.

BOLTON, D. C. ZEE, Y. C.; ARDANS, A. A. Identification of envelope and nucleocapsid proteins of infectious bovine rhinotracheitis vírus by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. **Veterinary Microbiology**. v. 8(1), p. 57-68, 1983.

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

BRUM, L. P. B.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; SCHERER, C. F. C. S.; KREUTZ, L. C.; DÜRR, J. W.; QUADROS, V. L.; MAZZUTTI, K. C.; PAN, K. A. Detecção de anticorpos

contra o vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em amostras de tanques de leite de rebanhos leiteiros do Rio Grande do Sul, **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v. 11, p. 84-87, 2004.

BRUM, M. C. S.; WEIBLEN, R. Detecção, identificação e quantificação de vírus. In: FLORES, E. F. (Ed.). **Virologia Veterinária. Virologia Geral e Doenças Víricas**. 2. ed. Santa Maria: UFSM, p. 54–82, 2012.

BODA, C.; COURTIOUX, B.; ROQUES, P.; PERVIEUX, L.; VATUNGA, G.; BOULHOSA, J. Informação Científica. **Boletim Técnico Ministério da Agricultura**, p. 21-26, 1946.

CADIOLI, F. A.; BARNABÉ, P. A.; MACHADO, R. Z.; TEIXEIRA, M. C. A.; ANDRÉ, M. R.; SAMPAIO, P. H.; FIDÉLIS JÚNIOR, O. L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MARQUES, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 21(2), p 118-124, 2012;

CADIOLI, F. A.; FIDELIS, O. L. J. R.; SAMPAIO, P. H.; SANTOS, G. N.; ANDRÉ, M. R.; CASTILHO, K. J. G. A.; MACHADO, R. Z. Detection of *Trypanosoma vivax* using PCR and LAMP during aparasitemic periods. **Veterinary Parasitology**, v. 214, n. 1, p. 174-177, 2015.

CAMPBELL, J. R. Effect of bovine viral diarrhoea virus in the feedlot. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 20, n. 1, p. 39-50, 2004.

CAMPOS, M. T. G.; BITTAR, J. F. F.; FRANGE, R. C. C.; BASSI, P. B. **Surto de tripanossomíase na região de Veríssimo-MG: Perfil sorológico, hematológico e bioquímico**. In: 39º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Santos-SP. **Anais[...]**. Santos: 2012.

CANÁRIO, R.; MONTEIRO, M.; MIRA, J. C.; SIMÕES, J. H. Diarreia Viral Bovina: uma afecção multifacetada. **Veterinaria.com.pt**, Vol. 1 Nº 2: e6. 2009.

CARVALHO, A. U.; ABRÃO, D. C.; FACURY FILHO, E. J.; PAES, P. R. O.; RIBEIRO, M. F. B. Ocorrência de *Trypanosoma vivax* no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 769–771, 2008.

CASTILHO NETO, K. J. G. A.; GARCIA, A. B. C. F.; FIDÉLIS JÚNIOR, O. L.; NAGATA, W. B.; ANDRÉ, M. R.; TEIXEIRA, M. M. G.; MACHDO, R. Z.; CADIOLI, F. A. Acompanhamento de bovinos leiteiros naturalmente infectados com *Trypanosoma vivax* após tratamento com cloreto de isometamidium. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 30, n. 1, 2021.

ANTONIASSI, N. A. B. Juffo, G. D.; Santos, A. S.; Caroline A.; Pescador, C. A.; Corbellini, L. G.; Driemeier, D. Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011 1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 33, n. 2, p. 155– 160, 2013.

CORTEZ, A.; CASTRO, A. M. G.; HEINEMANN, M. B.; SOARES, R. M.; LEITE, R. C, SCARCELLI, E.; GENOVEZ, M. E.; ALFIERI, A. A, RICHTZENHAIN, L. J. Detecção de ácidos nucleicos de *Brucella* spp., *Leptospira* spp., herpesvírus bovino e vírus da diarreia viral bovina em fetos bovinos abortados e em animais mortos no perinatal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.1226-1228, 2006.

CUGLOVICI, D. A.; BARTHOLOMEU, D. C.; REIS-CUNHA, J. L.; CARVALHO, A. U.; RIBEIRO, M. F. B. Epidemiologic aspects of an outbreak of *Trypanosoma vivax* in a dairy cattle herd in Minas Gerais state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 11, n. 3-4, p.320-326. 2010.

DAGNACHEW, S.; BEZIE, M. Review on *Trypanosoma vivax*. **African Journal of Basic and Applied Sciences**, v.7, n.1, p.41-64, 2015.

DÁVILA, A. M.; SILVA, R. A. M. Animal trypanosomiasis in South America: current status, partnership, and information technology. **Annal of the New York Academy of Sciences**, v. 916(1), p. 199-212, 2000.

DE OLIVEIRA REIS, M.; SOUZA, F. R.; ALBUQUERQUE, A. S.; MONTEIRO, F.; OLIVEIRA, F. L. S.; RAYMUNDO, D. L.; WOUTERS, F.; WOUTERS, A. T. B.; PECONICK, A. P.; VARASCHIN, M. S. Epizootic infection by *Trypanosoma vivax* in cattle from the state of Minas Gerais, Brazil. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 57, n. 2, p. 191, 2019.

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

DIAS, F.C.; MEDICI, K. C.; ALEXANDRINO, B.; MEDEIROS, A. S. R.; ALFIERI, A. A.; SAMARA, S. I. Ocorrência de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina em rebanhos bovinos nos Estados de Minas Gerais e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, p.933-939, 2010.

DIAS, J.A.; ALFIERI, A.A.; FERREIRA-NETO, J. S.; GONÇALVES, V. S.; MULLER E. E. Seroprevalence and Risk factors of bovine herpesvirus 1 infection in cattle herds in the state of Parana. **Transbound Emerging Disease**, v. 60(1), p. 39-47, 2013.

DUBOVI, E. J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus. **Biologicals**, v. 41, n. 1, p. 8–13, jan. 2013.

EVERMANN, J.F.; BARRINGTON, G. Clinical features. *In*: GOYAL S.M.; RIDPATH J.F. **Bovine Viral Diarrhea Virus: diagnosis, management and control**. Oxford, UK: Blackwell, 2005. 105-119 p.

FIDELIS JÚNIOR, O. L.; SAMPAIO, P. H.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R.; MARQUES, L. C.; CADIOLI, F.A. Evaluation of clinical signs, parasitemia, hematologic and biochemical changes in cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 2016; 25(1): 69-81.

FIDELIS JUNIOR, O. L. SAMPAIO, P. H.; GONÇALVES, L. R.; ANDRÉ, M. R.; MACHADO, R. Z.; WIJFFELS, G.; CADIOLI, F. A. Comparação de técnicas convencionais e moleculares para diagnóstico em bovinos experimentalmente infectados por *Trypanosoma vivax*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, n. 2, p. 203-209, 2019.

FINO, T. C. M.; MELO, C. B.; RAMOS, A. F.; LEITE, R. C. Infecções por herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e suas implicações na reprodução bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 2, p. 122-127, 2012.

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

FLORES EF, WEIBLEN R, CARGNELUTTI JF, BAUERMANN V, SPILKI FR, MORI E, et al. Emerging animal viruses: real threats or simple bystanders? **Pesq. Vet Bras**; 33(10), p. 1161-1173, 2013.

FRANCO, A. P.; ROEHE, P. M. Herpesviridae *In*: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**, Santa Maria: Editora UFSM, 2007, 433-488 p.

FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M.; VARELA, A. P. M. Herpesviridae. *In*: FLORES, E. F. (Org.). **Virologia Veterinária**, Santa Maria: Editora UFSM, 2012. Cap. 18, p. 503-570.

FRANDOLOSO, R.; ANZILEIRO, D.; SPAGNOLO, J.; KUSE, N.; FIORI, C.; SCORTEGAGNA, G. T.; BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L.C. Prevalência de leucose enzoótica bovina, diarreia viral bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.9, n.4, p. 1102- 1106, 2008.

FRANGE, R. C. C. **Tripanosomíase em vacas da microrregião de Uberaba – MG: Estudo Soroepidemiológico e Relato de Surto**. 2013. 76f. Dissertação (Doutorado) – Universidade de Uberaba – UNIUBE, Uberaba, 2013.

GALVÃO, C.; DOLIA, J.; ALICE, F. Anticorpos neutralizantes para o vírus da Rinotraqueíte

Infecçiosa dos bovinos no Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v.6, n.1, p.15-25, 1963.

GARDINER, P. R. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. **Advances in Parasitology**, v. 28, p. 229-317, 1989.

GAY, E.; BARNOUIN, J. A nation-wide epidemiological study of acute bovine respiratory disease in France. **Preventive Veterinary Medicine**, v.89, p.265- 271, 2009.

**Tripanossomose bovina: Revisão**

GERMANO, P. H. V.; ALEX, A. S., GERTRUD, E. C. E.; MARCELO, C. L.; MODESTO, T. C.; REIS, J. A. Tripanossomose bovina: Revisão. **Pubvet**. v. 12, n. 8, p . 133, 2018

GIORDANI, F.; MORRISON, L. J.; ROWAN, T.G.; DE KONING, H. P.; BARRETT, M. P. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. **Parasitology**, v. 143(14), p. 1862-1889, 2016.

GÓMEZ-PIÑERES, E.; TAVARES-MARQUES, L.; REYNA-BELLO, A. Tiempo de supervivência in vivo y criopreservación de *Trypanosoma vivax*. **Revista Científica, FCV-Luz**, v. 19, n. 3, p. 225-229, 2009.

GROOMS, D.L., BAKER, J.C.; AMES, T.R. Doenças causadas pelo vírus da diarreia viral bovina. In: SMITH, B. P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. 3. Ed. São Paulo: Manole, 2006. 707-714 p.

GUERRA, R. M. S. N. C.; FEITOSA JÚNIOR, A. B.; SANTOS, H. P.; ABREU-SILVA, A. L.; SANTOS, A. C. G. Biometry of *Trypanosoma vivax* found in a calf in the state of Maranhão, Brazil. **Ciência Rural**, 38, 833-835, 2008.

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. Microbiologia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 360-361p.

HOARE, C. A. The Trypanosomoses of mammals: **The Trypanosomoses of mammals**, Oxford: Blackwell, 1972, 749p.

HOLZ, C. L.; CIBULSKI, S. P.; TEIXEIRA, T. F.; BATISTA, H. B. C. R.; CAMPOR, F. S.; SILVA, R. R.; VARELA, A. P. M.; GENCI, A.; FRANO, A. C.; ROEHE, P. M. Soroprevalência de herpesvírus bovinos tipos 1 e/ou 5 no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p. 767-773, 2009.

KAHN, C.M. **Manual Merck de Veterinaria**. 6. Ed. Barcelona: Océano, 2007. 215-218p.

Kelling C.L. Evolution of bovine viral diarrhoea virus vaccines. **Veterinary Clinics of North American**. 20:115-129, 2004.

KING, ANDREW M.Q.; LEFKOWITZ, ELLIOT; ADAMS, MICHAEL J.; CARSTENS, E. B. Herpesviridae. *In*: KING, ANDREW M.Q.; LEFKOWITZ, ELLIOT; ADAMS, MICHAEL J.; CARSTENS, E. B. **Virus Taxonomy**. San Diego, CA: Elsevier, 2012. 111–122 p.

LETELLIER, C.; DE MEULEMEESTER, B.; LOMBA, M.; MIJTEN, E.; KERKHOFS, P. Detection of BVDV persistently infected animals in Belgium: evaluation of the strategy implemented. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 72, n. 1-2, p. 121-125, 2005.

LINHARES, G. F. C.; DIAS, F. C. F. O.; FERNANDES, P. R.; DUARTE, S. C. Tripanossomíase em bovinos no município de Formoso do Araguaia, Tocantins. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7(4), p. 455-460, 2006.

LIU, XIN-YAN.; FENG, WEI-GUO.; WU, CHUN-TAO. The progress in studies on the infectious bovine rhinotracheitis [J]. **Shandong Science**, v. 6, 2006.

LOVATO, L. T.; WEIBLEN, R.; TOBIAS, F. L.; MORAES, M.P. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB 1): inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural** 1995; 25(3): 425-430.

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

MENDES, M. B.; BITTAR, J. F. F. B.; PEREIRA, W. A. B.; ARDUINO, G. G. C.; BITTAR, E. R.; PANETO, J. C. C.; SANTOS, J. P. Determinação da prevalência das principais doenças da reprodução no rebanho bovino da região de Uberaba-MG. **Ciência Animal Brasileira**. v. 1, 2009.

MELO, S. A.; BARROS, A. C.; COSTA, F. B.; DE CARVALHO NETA, A. V.; GUERRA, R. M.C.; ABREU-SILVA, A. L. Bovine trypanosomiasis an emerging disease in Maranhão State-Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Disease**. v. 7, p. 853–856, 2011.

MENESES, R. M. **Tripanossomose bovina em Minas Gerais, 2011: soroprevalência e fatores de risco**. 2016, 61f. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária- UFMG, Belo Horizonte, 2016.

MOREIRA, F. A. V. F.; GONSALVES, M. M. A.; SILVA, M. C. Impacto do vírus da diarréia viral bovina sobre a reprodução. **Ciência Animal**, v. 30 (4), p. 64-76, 2020.

MURRAY, M. An improved parasitological technique for the diagnosis of African



trypanosomiasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, n. 4, p. 325-326, 1977.

NANDI, S.; KUMAR, M.; MANOHAR, M.; CHAUHAN, S. Bovine herpes virus infections in cattle. **Animal Health Research Reviews**, v. 19, p. 85-98, 2009.

OIE. Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvovaginitis. In: **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Chapter 2.4.12, 2016.

OLIVEIRA, Martha Trindade. **Deteção de herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e tipo 5 (BoHV-5) em amostras de sêmen e construção de um BoHV-5 com uma deleção do gene UL49. 5**. 2011. 135. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRS, Porto Alegre, 2011.

OLIVEIRA, A. L. R. **Análise da eficiência e do custo-benefício da RT-PCR em tempo real no diagnóstico da diarreia viral bovina**. 2013. 115f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo, 2013.

OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C. O.; RIBEIRO, L. R. R.; DA COSTA, S. C. G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - a Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 1-13, 2008.

OTONEL, R. A. A.; ALFIERI, A. F.; DEZEN, S.; LUNARDI, M.; HEADLEY, S. A.; ALFIERI, A. A. The diversity of BVDV subgenotypes in a vaccinated dairy cattle herd in Brazil. **Tropical Animal Health Production**, v.46, p.87-92, 2014.

PAIVA, F.; LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO, L.; MORI, A. E.; BRUM, K. B.; BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I.- Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 135-141, 2000.

PEREIRA, H. D.; SIMÕES, S. V. D.; SOUZA, F. A. L.; SILVEIRA, J. A. G.; RIBEIRO, M. F. B.; CADIOLI, F. A.; SAMPAIO, P. H. Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnóstico da infecção por *Trypanosoma vivax* em rebanho bovino no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 896-901, 2018.

PETERHANS, E.; BACHOFEN, C.; STALDER, H.; SCHWEIZER, M. Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction. **Veterinary Research**, Amsterdam, v. 41, n. 6, p. 1-14, 2010.

PIMENTEL, D. S.; RAMOS, C. A. N.; RAMOS, R. A.; ARAÚJO, F. R.; BORBA, M.

- L.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 185, p. 286-289, 2012.
- PITUCO, E. M.; DEL FAVA, C. Situação do BVDV na América do Sul. In: Simpósio Internacional sobre Herpesvírus bovino (Tipo 1 e 5) e vírus da diarreia viral bovina (BVDV), 1998, Santa Maria, **Anais [...]** Santa Maria: UFSM, 1998. 49-57p.
- POTGIETER, L. N. D. Bovine respiratory tract disease caused by bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America.: Animal Practice**, Philadelphia, v. 13, n. 3, p. 471-481, 1997.
- QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. de O.; VARGAS, G. D.; VIDOR, T.; BROD, C. S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 2, p. 269, 30 out. 2007.
- 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.
- RIDPATH, J.; FLORES, E. F. Flaviviridae. In: FLORES, E. F. (Ed.). **Virologia Veterinária. 2nd ed. Santa Maria, Brazil: Editora UFSM**, p. 565-590, 2007.
- ROCHA, M.A.; GOUVEIA, A. M. G.; LEITE, R. C.; Herpesvírus bovino tipo 1 no sêmen. **Ciência Rural**, v.29, p.373-380, 1999.
- ROCHA, M. A.; GOUVEIA, A. M. G.; LOBATO, Z. I. P.; LEITE R. C. Pesquisa de anticorpos para IBR em amostragem de demanda no Estado de Minas Gerais, 1990-1999. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 53(6):645-647, 2001.
- SEGURA-CORREA, J. C.; SOLORIO-RIVERA, J. L.; SÁCBHEZ-GILL, LG. Seroconversion to bovine viral diarrhoea vírus and infectious bovine rhinotracheitis virus in dairy herds of Michoaca, Mexico. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 233-238.
- SERRA-FREIRE, N. M. Oiapoque-outro foco de *Trypanosoma vivax* no Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 4, 30-31, 1981.
- SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, 66(1):25-32, 1972.
- SILVA, R. A. M. S.; DA SILVA, J. A.; SCHENEIDER, R. C.; FREITAS, J.; MESQUITA, D.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R.; PEREIRA, M. E. B. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma vivax* (Ziemann, 1905) in bovines of the Pantanal,

Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 5 p. 561-562, 1996.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. ***Trypanosoma evansi e Trypanosoma vivax*– Biologia, diagnóstico e controle**. Corumbá: Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 2002. 140p.

SILVA, R. A. M. S.; SANCHEZ, V.; DÁVILA, A. M. R. **Métodos de Diagnósticos Parasitológicos das Tripanosomoses Bovinas e Equinas**. Circ. Téc. 41, Corumbá: Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 2003, 3p.

SILVA, R. A. M. S.; PELLEGRIN, A. O.; LIMA, E. S. S.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. **Abortos por *Trypanosoma vivax* no Pantanal Mato-Grossense e Bolívia**. Corumbá: Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 2004, 21p.

SILVA, M. S.; BRUM, M. C. S.; LORETO, E. L. S.; WEBLEIN, R.; FLORES, E. F. Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovine herpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. **Virus Research**, v. 129, n. 2, p. 191-199, 2007.

SILVA, A. S.; COSTA, M. M.; POLENZ, M. F.; POLENZ, C. H.; TEIXEIRA, M. M. G.; LOPES, S.T.A.; MONTEIRO, S. G. First report of *Trypanosoma vivax* in bovines in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2550-2554, 2009.

SOULSBY, E. J. L. In **Helminths, Anthropods and Protozoa of Domesticated Animals**, London: Ballière Tindall, 1982, 525p.

SPEAR, P. G.; LONGNECKER, R. Herpesvirus entry: an update. **Journal of Virology**, v. 77, n. 19, p. 10179-10185, 2003.

SPIELKI, F. R.; ESTEVES, P. A.; SILVA, A. D.; FRANCO, A. C.; RIJSEWIJK, F. A M.; ROEHE, P. M. A monoclonal antibody-based ELISA allows discrimination between responses induced by bovine herpesvirus subtypes 1 (BoHV-1.1) and 2 (BoHV-1.2). **Journal of Virological Methods**, v. 129, n. 2, p. 191-193, 2005.

TAKIUCHI, E.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Bovine herpesvirus type 1: infection and diagnosis methods. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 203-209, 2001.

TAKIUCHI, E.; MEDICI, K. C.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A.A. Otimização da Reação em Cadeia pela Polimerase (Semi Nested-PCR) para a Detecção do herpesvírus bovino tipo 1 em Fragmentos de Órgãos Fetais e em Sêmen de Bovinos Naturalmente Infectados. **Semina Ciências Agrárias**, v.24, n.1, p.43-56, 2003.

TAKIUCHI, E.; MEDICI, K. C.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Bovine herpesvirus type 1 abortions detected by a semi-nested PCR in Brazilian cattle herds. **Research in Veterinary Science**, v.79, n.1, p.85-88, 2005.

TEIXEIRA, M. F. B.; ESTEVES, P. A.; SCHMIDT, C. S.; SPILKY, F. R.; SILVA, T. C.; DOTTA, M. A.; ROEHE, P. M. ELISA de bloqueio monoclonal para o diagnóstico sorológico de infecções pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 33-37, 2001.

VIDOR, T. 1974. Isolamento e identificação do vírus da doença das mucosas no Rio Grande do Sul. **Instituto de Pesquisa Veterinário Desidério Finamor**, Porto Alegre, 5:51-58.

WEIBLEN, R.; KREUTZ, L. C.; CANABARRO, T. F.; FLORES, I. E. Balanoposthitis in bulls due to bovine herpesvírus in south Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 24 (1-3), 1991.

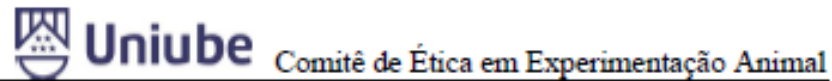
WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomosis. **Acta Tropica**, v. 27, p. 384-386, 1970.

WYLER, R.; ENGELS, M.; SCHWYZER, M. **Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis**. In: Wittmann, G. (Ed.), *Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs*. Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London, p. 1-72, 1989.

ZANATTO, D. C. S.; GATTO, I. R. H.; LABRUNA, M. B.; JUSI, M. M. G.; SAMARA, S. I.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. *Coxiella burnetii* associated with BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus), BoHV (Bovine Herpesvirus), *Leptospira* spp., *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma vivax* in reproductive disorders in cattle. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, p. 245-257, 2019.

ZARDO, R. **Prevalência e variáveis associadas à infecção por BoHV-1, BVDV, Leptospira spp. e Neospora caninum em bovinos leiteiros no município de Novo Xingu-RS**. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Programa de Pós-graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

## ANEXO 1



Ofício CEEA-004/2020

Uberaba, 25 de setembro de 2020.

**CERTIFICADO**

Certificamos que o protocolo nº 004/2020 relativo ao projeto intitulado "Diagnóstico de anticorpos anti trypanosoma vivax em amostras eluídas de papel filtro e de outras enfermidades que se assemelham a tripanosomíase e impactam o desenvolvimento da pecuária" que tem como responsável a Prof. Joely Ferreira Figueiredo Bittar, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA/UNIUBE) regido pela lei nº 11.794/08.

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the protocol nº 004/2020 related to the project entitled "Diagnosis of anti trypanosoma vivax antibodies in samples eluted from filter paper and other diseases resemble trypanosomiasis and impact livestock development", under the supervision of Prof. Joely Ferreira Figueiredo Bittar, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEEA/UNIUBE) according to the law nº 11.794/08.

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Joely Bittar".

**Profa. Joely Ferreira Figueiredo Bittar**  
Coordenadora do CEEA-UNIUBE