



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

LORENA STÉPHANIE FREITAS SOUTO

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *LEPTOSPIRA SPP.*, *BRUCELLA ABORTUS*, VIRÚS DA DIAERRÉIA VIRAL BOVINA E HERPIVÍRUS TIPO-1, EM REBANHO BOVINO DE CORTE NO ESTADO DO MARANHÃO.

SÃO LUÍS – MA

2017



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

LORENA STÉPHANIE FREITAS SOUTO

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *LEPTOSPIRA SPP.*, *BRUCELLA ABORTUS*, VIRÚS DA DIAERRÉIA VIRAL BOVINA E HERPIVIRUS TIPO-1, EM REBANHO BOVINO DE CORTE NO ESTADO DO MARANHÃO.

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias – UEMA, como requisito para a obtenção do título de Mestra em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva)

Curso: Mestrado em Ciência Animal

Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Dr. Hélder de Moraes Pereira

SÃO LUÍS – MA

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

LORENA STÉPHANIE FREITAS SOUTO

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *LEPTOSPIRA SPP.*, *BRUCELLA ABORTUS*, VIRÚS DA DIAERRÉIA VIRAL BOVINA E HERPIVÍRUS TIPO-1, EM REBANHO BOVINO DE CORTE NO ESTADO DO MARANHÃO.

Banca Examinadora:

**Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira
Orientador**

**Prof. Dr. Ferdinam Almeida Melo
1º Membro**

**Profa. Dra. Nancyleni Pinto Chaves
2º Membro**

SÃO LUÍS – MA

19 de janeiro de 2017

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar a frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp., *Brucella abortus*, vírus da Diarreia viral bovina e Herpesvírus tipo-1, em rebanho bovino de corte no estado do Maranhão. Este estudo transversal foi realizado no estado do Maranhão de acordo com o delineamento amostral desenvolvido no estudo epidemiológico para avaliação da circulação viral na área proposta para ampliação da zona livre de Febre Aftosa com vacinação. Nesse trabalho foram estudados animais de 33 propriedades de bovinos de corte, oriundas de 24 municípios do estado. A sorologia para BoHV-1 e BVDV foram realizados Ensaio Imunoenzimático (ELISA), e para *Leptospira* spp. por meio da sorologia de aglutinação microscópica (SAM). A prevalência de rebanhos foi 66,52% para o BoHV-1; 55,43% para o BVDV; e 74,79% para *Leptospira* spp. Entre as sorovarietades de *Leptospira* spp. a *Hardjo* (42,22%) foi a mais prevalente nos rebanhos, seguida da *Hebdomadis* (35,39%). Os resultados indicam que o BoHV-1, BVDV, e *Leptospira* spp. encontram-se amplamente distribuídos nos rebanhos bovinos de corte, de grande trânsito animal, do estado do Maranhão.

Palavras-chave: BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp., Prevalência, Maranhão.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the frequency of antibodies against *leptospira* spp., *brucellaabortus*, vírus da Diarreia viral bovina e Herpivírus tipo-1, In beef cattle in the State of Maranhão. This cross-sectional study was carried out in the state of Maranhão according to the sampling design developed in the epidemiological study to evaluate the viral circulation in the proposed area for the expansion of the Vesicular Stomatitis virus in cattle free zone with vaccination. In this work, the animals from 33 beef cattle farms from 24 municipalities of the state. The serology for BoHV-1 and BVDV were performed Immunoenzymatic Assays (ELISA), and for *Leptospira* spp. By means of the serum microscopic agglutination (SAM). The prevalence of herds was 66.52% for BoHV-1; 55.43% for BVDV; And 74.79% for *Leptospira* spp. Among the serovars of *Leptospira* spp. To Hardjo (42.22%) was the most prevalent in the herds, followed by Hebdomadis (35.39%). The results indicate that BoHV-1, BVDV, and *Leptospira* spp. Are widely distributed in cattle herds of cut, of great animal traffic, of the state of Maranhão.

key words: BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp., Prevalência, Maranhão.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	9
2.1 Gerais:	9
2.2- Específicos:	10
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.1 LEPTOSPIROSE	10
3.1.1 Histórico	10
3.1.2 Etiologia	11
3.1.3 Epidemiologia	12
3.1.4 Sinais clínicos	14
3.2 BRUCELA	14
3.2.1 Histórico	14
3.2.2 Etiologia	15
3.2.3 Epidemiologia	17
3.2.4 Sinais clínicos	18
3.3 - DIARREIA VIRAL BOVINA (BVD).....	19
3.3.1 – Histórico	19
3.3.2 Etiologia	22
3.3.3 Epidemiologia	23
3.3.4 Sinais clínicos	25
3.4 HERPESVÍRUS VÍRUS BOVINO TIPO 1 (BOHV-1)/ RINOTRAQUEÍTE INFECCIOSA BOVINA (IBR)	26
3.4.1 – Histórico	26
3.4.2 Etiologia	27
3.4.3 Epidemiologia	28
3.4.4 Sinais clínicos	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 LOCAL	30
4.2 SELEÇÃO DAS PROPRIEDADES E DOS ANIMAIS	31
4.3 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO PARA A LEPTOSPIROSE	32
4.5 PARA BRUCELOSE:	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO:	34

5.1 Leptospira:.....	34
5.2 BVD:	39
5.3 IBR:	41
6 CONCLUSÃO:	44
REFERÊNCIAS	45

LISTA DE ABREVIATURAS

AAT	Antígeno Acidificado Tamponado
AGED	Agência de Defesa Agropecuária do Maranhão
BVD	Diarreia Viral Bovina
EMJH	Ellinghausen-McCullough modificado por Johnson e Harris
HBV	Herpes Vírus Bovino
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBR	Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MD	Doença das Moncosas
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
OMS	Organização Mundial da Saúde
PI	Persistentemente infectados
PCR	Reação em Cadeira da Polimerase
SAM	Soro aglutinação Microscópica
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão
UFGM	Universidade Federal de Minas Gerais

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

- **Tabela 1.** Distribuição dos rebanhos de gado de corte por município, Maranhão 2012.
- **Tabela 2.** Distribuição dos 24 sorovares utilizados na prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM)
- **Tabela 3.** Porcentagens bovinas, reagentes à prova de Soroaglutinação Microscópica para diferentes sorovares de *Leptospirassp.* , Maranhão, Brasil, 2016.
- **Tabela 4.** Distribuição de anticorpos detectados contra os sorovares de *Leptospiraspp* submetidos à prova de SAM nos 24 municípios com aptidão para corte, Maranhão, Brasil, 2016.
- **Tabela 5.** Porcentagem e número de animais reagentes e suspeitos no soro sanguíneo submetidos ao teste de ELISA para detecção de anticorpos contra o vírus da BVD nas propriedades estudadas no estado do Maranhão, 2016.
- **Tabela 6** Porcentagem e número de animais reagentes e suspeitos no soro sanguíneo submetidos ao teste de ELISA para detecção de anticorpos contra o vírus da IBR nas propriedades estudadas no estado do Maranhão, 2016.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a bovinocultura é uma atividade em expansão. Conforme dados oficiais divulgados em 2009, o plantel nacional de bovinos é de 205.292 milhões de cabeças, o que significa um acréscimo de 1,5% em relação ao ano anterior. No momento atual, o país é o segundo maior produtor de carne bovina e o primeiro em exportações do produto (IBGE 2010). Portanto, a atividade pecuária tem em si números expressivos, que são responsáveis por parte da geração de riquezas para o país. Assim sendo, a melhoria da produtividade é essencial para a manutenção da viabilidade e competitividade deste sistema de produção.

No estado do Maranhão como um dos principais segmentos da pecuária, destaca-se a bovinocultura, como principal atividade econômica do setor. A avicultura praticamente estagnou, e a suinocultura, de dimensões modestas, teve um expressivo decréscimo. (IBGE, 2001).

A bovinocultura do Estado do Maranhão teve um crescimento de 3,1%, segundo o IBGE (2013), que realizou a pesquisa Produção da Pecuária Municipal – PPM, com base nos números do ano de 2012. De acordo com esta pesquisa, o rebanho de bovinos no estado seria de 7.490.942 cabeças, o que dá ao Maranhão a segunda posição no Nordeste e a 12ª em nível nacional, correspondendo com 3,5% do rebanho brasileiro.

Grande parte dedicada à bovinocultura está concentrada nos grandes estabelecimentos rurais. Todavia pequenas propriedades concentram até 45% do efetivo bovino do estado (PORRO; MESQUITA; SANTOS, 2004). As regiões de Imperatriz e Pindaré (oeste do Maranhão), e Alto e Médio Mearim e Porto Franco (centro do estado), tem destaque como importantes zonas produtoras de bovinos (BRASIL, 2001; PORRO; MESQUITA; SANTOS, 2004, MESQUITA 2008). Nestas regiões, caracterizadas por grandes propriedades rurais, temos a presença de melhores pastagens, seleções de animais com maior qualidade genética, e técnicas de manejo mais intensivas e avançadas, como a inseminação artificial (BRASIL, 2001).

Em relação à sanidade animal, o Censo Agropecuário de 1995-1996 revelou que à época, apenas 16,8% dos estabelecimentos no estado efetuavam controle de doenças em seus animais (BRASIL, 2001). De acordo com o Censo Agropecuário 2006, esse número não ultrapassou 28,78% das propriedades rurais maranhenses (IBGE, 2006), fato que ainda limita o comércio de produtos de origem animal para outros estados, bem como para a exportação, o que influencia negativamente a balança comercial do Estado do Maranhão.

Dentre as doenças que causam mais prejuízos aos rebanhos bovinos, em relação à produtividade, estão as doenças reprodutivas, com perda econômica com índices variando de 0,4 a 10,6% (FORAR et al, 1995). Abortamentos, repetição de cio, nascimento de crias fracas, nascimento de bezerros com anomalias teratogênicas, fetos mumificados e infertilidade são problemas relatados pelos produtores constantemente. Dentre as enfermidades reprodutivas, mais relevantes, destacam-se a Leptospirose, a Brucelose, a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e a Diarreia Bovina à Vírus (BVD).

A IBR e a BVD são enfermidades virais, detectadas no país na década de 60, tendo entrado provavelmente, através da importação de animais e de sêmen contaminado e têm formas semelhantes de transmissão, pelo contato direto entre animais (HIRSH; ZEE, 2003).

Já Brucelose e a Leptospirose, são antropozoonoses, isto é doença que é transmitida dos animais ao homem, de distribuição mundial, causadas por bactérias do gênero *Brucella*, e por bactérias do Gênero *Leptospira*, respectivamente. Ambas são doenças de grande relevância para a saúde pública, é propensa a ocorrer em veterinários, trabalhadores de abatedouro e tratadores de animais, devido ao estreito contato com as fontes de infecção (ACHA & SZYFRES, 2001).

O monitoramento e o controle, em busca da erradicação dessas enfermidades, são atividades imprescindíveis para a sanidade dos rebanhos, qualidade dos produtos, aumento da produtividade, competitividade do rebanho e consequente renda (ALVES, 2009). Isso aliado a importância das enfermidades em questão como zoonoses, no caso da brucelose e da leptospirose, representa uma grande preocupação em relação à saúde pública. Esses fatos aliados, corroboraram para a realização da presente pesquisa, no rebanho com aptidão para corte do Estado do Maranhão.

2 OBJETIVOS

2.1 Gerais:

A pesquisa tem como objetivos detectar a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp., bem como caracterizar a frequência da brucelose bovina no rebanho estudado. Além de conhecer a situação da infecção pelo BVDv e IBR nos rebanhos bovinos de aptidão para corte no estado do Maranhão.

2.2- Específicos:

- Detectar a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp., bem como identificar o sorovar predominante no rebanho estudado;
- Caracterizar a frequência da brucelose bovina nas amostras do rebanho estudado;
- Conhecer a situação da infecção pelo BVD e IBR nos rebanhos bovinos de aptidão para corte no estado do Maranhão, por meio da determinação da frequência de anticorpos anti-BVD e anti-IBR, pelo teste sorológico de ELISA;
- Identificação por meio de georreferenciamento os focos para Leptospirose, Brucelose, Diarreia Viral Bovina (BVD) e Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), fornecendo informações que poderão servir de subsídio para possíveis alterações nas estratégias de controle dos agentes nas regiões estudadas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 LEPTOSPIROSE

3.1.1 Histórico

A leptospirose, foi descrita pela primeira vez por como uma síndrome associada à icterícia e à falha renal por Adolf Weil em 1886 (1886, apud Faine et al., 1999) e, mais tarde, em 1907. Stimson (1907, apud Faine et al., 1999) analisando tecido renal de um paciente com causa mortis atribuída à febre amarela, observou organismos espiralados, onde mais tarde denominou os organismos *Spirochaeta interrogans*.

Em 1914, Inada et al. (1914, apud Faine et al., 1999) inocularam em cobaias uma amostra de um paciente acometido com a doença de Weil, e foi assim que se conseguiu visualizar, pela primeira vez, espiroquetas no tecido hepático. Após outros estudos, encontraram resultados semelhantes em outros pacientes acometidos pela mesma doença, denominando o agente etiológico daquela enfermidade de *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*.

No Brasil, as primeiras pesquisas sobre a leptospirose foram realizadas por McDowel, com o reconhecimento da *Leptospira* no Estado do Pará. Ao mesmo tempo, Aragão observou a *Leptospira icterohaemorrhagiae* em *Rattus norvegicus* no Estado do Rio de

Janeiro (1917, apud Jouglard, 2005), mas a publicação pioneira mencionando a distribuição da doença, juntamente com um alerta sobre o risco por ela oferecido, pelas condições ecológicas apresentadas no País, foi realizada somente em 1963, por Magaldi (1963, apud Jouglard, 2005).

Noguchi propôs o gênero *Leptospira* depois estudar a espiroqueta visualizada por Inada, e cepas de outras origens que foram isoladas de humanos e roedores (Santa Rosa, 1970). Em 1917, Noguchi (1917, apud Faine et al., 1999) finalmente identificou o rato como fonte de infecção para os humanos.

Santa Rosa, em 1970, publicou uma investigação revisando a casuística do diagnóstico de leptospirose realizado pelo Instituto Biológico de São Paulo durante um período de nove anos. Os dados, obtidos do exame de 15.080 soros de bovinos, 3.242 soros suínos e 21.263 soros humanos, por meio do teste de soro aglutinação microscópica (SAM), indicaram uma predominância de reações para os sorovares *Wolffi*, *Pomona* e *Icterohaemorrhagiae*, respectivamente (Santa Rosa, 1970). A importância do sorovar *Icterohaemorrhagiae* foi também evidenciada em estudo retrospectivo da casuística humana da leptospirose, em pacientes hospitalares com suspeita de leptospirose, no Estado do Rio de Janeiro, no período de 1970 a 1982. Dos 775 casos suspeitos, 76% tiveram seu diagnóstico confirmado e o sorovar *Icterohaemorrhagiae* foi identificado em 41,3% dos indivíduos, sendo 12,3% dos 13 resultados inconclusivos (sorovar não determinado). A análise dos fatores de risco indicou uma relação com condições pluviométricas, sexo e idade, sugerindo risco ocupacional e fatores de contágio pela prática de atividades recreacionais. O mesmo estudo apontou dois casos de sorologia positiva para o sorovar *Grippotyphosa* em indivíduos que, possivelmente, tiveram contato com uma fonte de contágio de natureza silvestre (Andrade; Brandão, 1987).

3.1.2 Etiologia

As leptospirosas são bactérias pertencentes à Classe *Eubacteriales*, Ordem *Spirochaetales*, Família *Leptospiraceae* e Gênero *Leptospira*. A classificação etiológica das leptospirosas apresentam duas divisões, sendo primeira a genética e a segunda baseada nos determinantes antigênicos. A leptospirose pertence a um grupo de enfermidades

infectocontagiosas de caráter agudo, sinais clínicos poliformicos, causadas pela *Leptospirainterrogans* (GOMES, 2013).

O gênero *Leptospira* é constituído por duas espécies: *L.interrogans* e *L. biflexa*, ambas formadas por um alto número de variantes, denominados de sorovares, constituindo assim a unidade taxonômica básica. A espécie *L.interrogans* apresentam sorovares patogênicos para o homem e os animais, enquanto a *L. biflexa* são de vida livre, tendo como habitat natural as águas e o solo húmido. Os sorovares de maior afinidade sorológicas estão agrupados em sorogrupos. Atualmente, as leptospiras patogênicas são divididas em oito espécies, distribuídas em mais de 200 soroviedades e organizados em 23 sorogrupos (COELHO, 2012).

O gênero *Leptospira*, antes de outubro de 1987, possuía três espécies:

- a) *Leptospirainterrogans*: incluía as cepas patogênicas para os animais e o homem;
- b) *Leptospirabiflexa*: era agrupada por cepas não patogênicas isoladas da água, da lama e, às vezes, do animal e do homem;
- c) *Leptospira parva*: incluía espécies não patogênicas isoladas da água, de uma amostra de albumina bovina e do útero de uma porca. (SLACK et al., 2006)

Em estudos microbiológicos citados por (COELHO, 2012), as leptospiras são bactérias móveis, não capsuladas nem esporuladas, aeróbias obrigatórias, com reprodução por divisão transversa e movimentos espiraladas ou de saca-rolha (spin), bem como de flexão-extensão e mobilidade rápida.

3.1.3 Epidemiologia

A epidemiologia da leptospirose já está bem definida, tendo uma associação de vários fatores importantes como: fatores climáticos, incluindo índices pluviométrico, temperatura, ventos e umidade relativa do ar. Outros fatores que favorecem a disseminação da doença, é a aglomeração de animais em feiras e leilões, pois não fazem a exigência de atestados negativos da doença, pela mesma não ser de notificação compulsória (WHO, 2003).

A leptospirose é uma doença cosmopolita com maior ocorrência em regiões de clima tropical e subtropical. A incidência da doença é maior no período chuvoso

impedindo dessa forma a evaporação ou absorção da urina contendo *Leptospira sp.* expelida de animais infectados (BRASIL, 1995).

Todos os animais doméstico, silvestres e o homem podem ser acometidos por esta enfermidade, podendo apresentar sinais clínicos ou não, e esses sinais quando aparecem são polimórficos. Esses animais podem torna-se portadores inaparentes contribuindo para a disseminação do agente na natureza. (COELHO, 2012).

As principais fontes de infecção de leptospirose são água estagnada e lama com urina de animais infectados (COELHO, 2012). Os alimentos contaminados por urina de animais infectados podem ser considerados como fonte de transmissão. Bem como animais em lactação, que podem eliminar as leptospiras pelo leite na fase sistêmica e aguda da doença (RIET-CORREA & LEMOS 2001, COELHO, 2012).

Um dos fatores mais importantes para a sobrevivência das leptospiras no meio ambiente é a água, solo, o pH da urina e temperatura ambiente. Para as leptospiras se multiplicarem, o pH ideal está entre 7,2 – 7,4 com temperaturas oscilantes entre 28 e 30°C. Os herbívoros são espécie que expelem urina com pH neutro ou ligeiramente alcalino, contribuindo dessa forma a manutenção do agente vivo e em condições de multiplicação e de contaminação (RIET-CORREA & LEMOS 2001).

No meio rural, embora o rato também tenha sua importância como fonte de infecção para o rebanho e o homem, são considerados os principais reservatórios da doença dentro de uma propriedade bovina, os próprios animais infectados que disseminam a bactéria através de seus produtos de excreção (ADORNO, 2006).

Nos herbívoros as leptospiras podem permanecer por longo período nos rins, sendo eliminadas por semanas ou meses através da urina. A transmissão da *leptospira* pode ocorrer pelo contato direto com a pele, mucosa oral e conjuntival com a urina e/ou órgãos de animais portadores. Dessa forma, a via venérea, transplacentária e mamária ou até o hábito de limpeza da genitália, escroto e tetas entre os animais podem constituir-se em rotas importantes de transmissão (BROD & FEHBERG, 1992).

A susceptibilidade do rebanho bovino varia de acordo com alguns fatores como estado fisiológico, idade, aptidão e densidade populacional. Bovinos de ambos os sexos são acometidos, porém as perdas são muito mais significativas em fêmeas; em relação

ao manejo empregado, rebanhos leiteiros são mais susceptíveis à infecção em decorrência da aglomeração desses animais (ADORNO, 2006).

3.1.4 Sinais clínicos

Em bovinos, a enfermidade é causada principalmente pelos sorovares *hardjo* e *pomona*, podendo ocasionalmente ser acometidos por *gryppothyphosa*, *icterohaemorrhagiae* e *canícola*. Abortos, natimortos, nascimento de bezerros fracos, mastite e diminuição da produção estão relacionados na sua maioria pelo sorovar *hardjo* (COELHO, 2012). Vacas em produção podem apresentar uma mastite com raios de sangue, e úbere flácido (RIET-CORREA et al. 2001).

Os bezerros são bem mais susceptíveis que os animais adultos. Os que apresentam a forma septicêmica são encontrados mortos ou com profunda depressão e hipertermia, vindo a óbito em poucas horas. Em alguns animais, o curso clínico pode ser de 24 horas, com profunda anemia, hemólise, hemoglobinúria e icterícia. O sangue tem aspecto achocolatado, aquoso, onde não há coagulação e não é observada sedimentação de eritrócitos. Mesmo quando tratados na fase inicial da enfermidade os bezerros acometidos raramente sobrevivem (ADORNO, 2006).

3.2 BRUCELA

3.2.1 Histórico

Apesar de ser conhecida como uma doença dos animais, a brucelose foi inicialmente descrita no homem no início do século XIX, a partir de casos de febre ondulante seguidos de morte, ocorridos na Ilha de Malta pertencente à República de Malta. A primeira descrição clínica da enfermidade foi realizada por Marston em 1859 e o isolamento do agente etiológico foi feito por David Bruce em 1887, que o denominou “*Micrococcus melitensis*”. A bactéria foi mais tarde renomeada como *Brucella melitensis* em sua homenagem (POESTER et al., 2009). Em 1905, ainda em Malta, Zammit demonstrou a natureza zoonótica da *B. melitensis* através do isolamento da bactéria do leite de cabras. Em 1917, os veterinários dinamarqueses Bang e Stribolt isolaram o agente etiológico do aborto enzoótico dos bovinos e o denominaram “*Bacillus abortus*” (POESTER et al., 2009). Em 1918 Alice Evans, publicou um estudo, demonstrando as semelhanças morfológicas e imunológicas de cultivo entre as bactérias isoladas por David

Bruce e Bang. Então Meyer e Shaw propuseram em 1920, a criação do gênero *Brucella*, em homenagem ao autor do primeiro isolamento do agente (POESTER et al., 2009).

Em 1914 Danton Seixas diagnosticou clinicamente pela primeira vez a brucelose bovina, *Brucella abortus*, no estado do Rio Grande do Sul. Após três anos, no estado do Ceará, Thomaz Pompeu observou casos raros de abortos em bovinos, frequente em ovinos, sem verificar um padrão de ocorrência epidêmica (PAULIN; FERREIRA NETO, 2002). Tinencio Icibaci realizou o primeiro estudo sobre brucelose bovina no Brasil através de pesquisas epidemiológicas e exame microscópico de tecidos provenientes de fetos abortados descreveu um foco de brucelose bovina ocorrido no município de São Carlos, no estado de São Paulo, em 1922. Em 1928, Mello e Neiva, isolaram *B. abortus* do sangue de uma vaca que havia abortado (PAULIN; FERREIRA NETO, 2002).

Em 1931, Sílvio Torres verificou a existência de oito animais soropositivos para brucelose e 19 suspeitos em um lote de 51 bovinos importados. Em 1933 César Pinto propôs a implementação de um protocolo de testes em animais importados como forma de impedir a disseminação da doença no país (PAULIN; FERREIRA NETO, 2002). Em 1950 Thiago de Mello, relatou a disseminação da *Brucella abortus* por todo o país apontando para uma prevalência de 10 a 20%, sendo que os maiores índices estavam nas regiões leiteiras do Rio Grande do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (CABRAL, 2000).

3.2.2 Etiologia

As espécies do gênero *Brucella* são denominadas bactérias gram negativas, aeróbicas sendo imóveis e não capsuladas, fornecem esporos que variam entre 0,4 e 0,8 mm de largura e 0,5 a 0,7 mm de comprimento, possuem uma morfologia colonial que pode ser lisa, rugosa e mucóide, sua forma mais comum é a cocóide que supera numericamente as formas bacilares sob algumas condições de cultivo, normalmente se apresentam como bacilos curtos (MARQUES; JUNIOR, 2008).

A bactéria *Brucella abortus* caracteriza-se por infectar células do sistema mononuclear fagocitário. Nos animais, ela compromete principalmente os sistemas reprodutivo, ósseo e sistema articular e ocasiona frequentemente o aborto no final da gestação, e não provoca nenhum outro sinal fortemente mais expressivo (ZAMBAN, 2008).

As *Brucellas* possuem na constituição de sua membrana externa, um lipopolissacarídeo (LPS) constituído de três partes: um glicofosfolipídio denominado

lipídio A (LA), a endotoxina que é responsável pela patogenia da brucelose; um oligossacarídeo central e, em sua porção terminal, a cadeia O (CO), homopolímero formado por cerca de 100 resíduos do monossacarídeo alfa-D-Rhap4Nfo (TOLÊDO, 2006). São consideradas três principais espécies de brucelose, também denominadas de clássicas, são subdivididas em biovariedades ou biovares: *B. abortus* – 7 biovares; *B. melitensis* – 3 biovares; *B. suis* – 5 biovares (PNCEBT, 2010).

As espécies de *Brucella* e seus biótipos são diferenciados de acordo com suas propriedades metabólicas, antigênicas e de cultivo, sensibilidade a fagos, patogenicidade e preferência na escolha do hospedeiro (ZAMBAN, 2008).

Esses agentes apesar de permanecerem no ambiente, não se proliferam no mesmo. A *B. abortus* tem alta capacidade de sobrevivência se comparada a outras bactérias patogênicas não esporuladas, especialmente em ambiente úmido contendo material orgânico, ao abrigo da luz solar e pH neutro em torno de 6,6 e 7,4 e temperatura de 37°C (OMS, 2010).

Em relação à resistência, a *B. abortus* é bastante sensível aos desinfetantes comuns, à luz e à desidratação, em cadáveres ou tecidos como resto de placenta ou fetos contaminados enterrados podendo apresentar vitalidade por até dois meses em clima favorável, mas morrem em menos de 24h no verão ou regiões mais quentes. A pasteurização, ou até uma simples fervura pode matar a bactéria (COSTA; COSTA; IGREJA, 2008).

Para então sobreviverem no leite e produtos derivados dependem da quantidade de água, temperatura, pH e presença de outros microrganismos, a pasteurização ou métodos de esterilização a altas temperaturas e a fervura eliminam as bactérias que podem persistir durante vários anos em produtos não pasteurizados (KISHIDA, 2008).

Nas secreções uterinas essas bactérias podem a vir sobreviver por até 200 dias ou mais e no feto abortado até oito meses dependendo das condições do ambiente se são favoráveis a elas ou não. Na urina de bovinos a *B. abortus* sobrevive até quatro dias. Sob refrigeração, no queijo pode sobreviver até 32 dias (PAULIN; FERREIRA NETO, 2002).

Os desinfetantes mais recomendados para eliminação do agente são os produtos à base de cloro (2,5%), a soda cáustica a 2-3% e a cal hidratada a 20%, com resultados mais eficazes no tempo mínimo de contato de uma hora. Álcool 70 graus têm ação imediata, a inativação pelo calor é bastante eficaz quando bem realizada (OMS, 1986). Desinfetantes amoniacais não apresentam uma boa atividade contra a *B. abortus* (CARUSO, 2010).

3.2.3 Epidemiologia

A bactéria *B. abortus* está vastamente difundida por todos os continentes do mundo, convergindo especialmente nos países da América do Sul, África, Ásia e Oriente Médio (ALVES et al., 2009).

A brucelose bovina no Brasil é uma doença considerada endêmica e, por mais que não esteja totalmente caracterizada a sua prevalência e distribuição regional, dela obtém-se uma heterogeneidade entre as regiões em relação a sua frequência (ZAMBAN, 2008).

O hospedeiro preferencial da *B. abortus* é o bovino, mas a bactéria acomete algumas outras espécies domésticas sendo infectadas e conseqüentemente servindo de fonte de transmissão da brucelose novamente a esses grandes ruminantes. Os animais silvestres acometidos pela doença são considerados como reservatórios naturais do agente, que desenvolvem um papel de destaque na epidemiologia da doença, apresentando-se contaminados por muito tempo mantendo o agente no ambiente florestal (PAULIN; FERREIRA NETO, 2002).

A contaminação de todo o plantel acontece rapidamente, pois a agente contamina a água, os pastos e os ambientes mediante corrimento uterino pós-gestacional, restos de placenta, líquidos provenientes do feto e fetos abortados, juntamente ocorre outra parte da disseminação que acontece pelos produtos retirados do animal como leite, queijo e outros (MARQUES; JUNIOR, 2008).

Estudos constataram uma tendência no crescimento da prevalência de brucelose no sentido Centro-Oeste/Norte do Brasil, com prevalências mais elevadas especialmente naqueles estados tradicionais que são os maiores produtores de carne (GONÇALVES, et al., 2009).

Pesquisas realizadas em meados 1977 revelaram as prevalências de cada região, a região Norte 4,1%, Noroeste 2,5%, Centro-oeste 6,8%, sudeste 7,5% e sul 4,0%. Poucos estudos foram feitos após este e demonstraram que a situação não se alterou desde 1977 até os dias de hoje (NASCIMENTO et al., 2005).

A infecção por *Brucella abortus* que atinge o homem é essencialmente de caráter profissional, em que estão mais sujeitos a contrair a enfermidade por contato direto com o animal, por mucosas dos olhos, boca e narinas ou contato com restos placentários, excreções do animal, água contaminada ou lesões epiteliais que são portas de entrada para a bactéria (GONÇALVES et al., 2009).

Alguns fatores externos contribuem com a proliferação da doença, como a ausência ou baixa taxa nos números de vacinação, a demora na eliminação dos animais infectados, e principalmente se é realizada de forma sanitária por profissionais qualificados, senão, propicia um aumento na transmissão da brucelose dentro dos rebanhos brasileiros (LAGE et al., 2008).

3.2.4 Sinais clínicos

A brucelose é uma doença sistêmica na qual qualquer órgão ou tecido do organismo pode ser envolvido. A classificação da doença em formas agudas, subagudas ou crônicas é puramente arbitrária; todavia, as implicações prognósticas, principalmente em alguns tipos de localizações, sugerem alguma vantagem na discriminação das várias formas. Um dos problemas clínicos mais frequentes é o de diferenciar as formas aguda e crônica (PESSEGUEIRO; BARATA; CORREIA, 2008).

As apresentações dos sintomas podem ocorrer em três fases: a primeira fase latente em que nem mesmo o laboratório é capaz de revelar a infecção de *B. abortus*, geralmente são aqueles bezerros que foram infectados pela mãe portadora. A segunda fase chamada de oculta, não apresenta sinais clínicos, mas já evidenciando aglutininas e sensibilidade alérgica e a terceira fase dita localização, na qual a doença expressa toda a sua sintomatologia clínica (BEVILACQUA, 2008).

Os principais sinais clínicos observados nos animais infectados estão ligados a problemas reprodutivos. O mais comum é o aborto no terço final da gestação, natimortos e nascimento de bezerros fracos. Frequentemente há retenção placentária e infertilidade temporária ou permanente. Nos machos, a infecção por *B. abortus* pode causar orquite com conseqüente infertilidade por diminuição da qualidade espermática (LAGE et al., 2008). Em algumas fazendas em seus rebanhos com infecção crônica, os abortos são frequentes nas fêmeas de primeiro parto e nos animais que foram comprados e introduzidos ao plantel. Em decorrência do desenvolvimento de resistência a *B. abortus*, é praticamente improvável que ocorra o aborto na segunda gestação e mais difícil ainda nas próximas (PNCEBT, 2010).

Em touros, os sinais clínicos mais frequentes são a orquite e a epididimite. O saco escrotal pode ser acometido por intumescimento agudo e doloroso e aumento do seu tamanho normal. O inchaço perdura por um período considerável e o testículo acaba necrosando por liquefação, ocasionando sua perda total (CHATE, 2010).

Os touros que contraem a doença apresentam orquite aguda, podendo tornar-se estéreis se ocorrer a destruição dos dois testículos. Como sequela, pode haver atrofia dos órgãos afetado. Edemas higromatosos, especialmente nos joelhos, devem ser considerados como suspeitos para a brucelose, pois a *Brucella abortus* é frequentemente isolada nesses tecidos (BLOOD; RODOSTITS, 1993).

A *B. abortus* causa deformidades placentárias características. Visualmente se percebe uma inflamação, que gera necrose cotiledonária e expansão de tecido conectivo de granulação, com fibrose e aderência do cotilédone e carúncula materna. No córionintercotiledônico, há edema e progressivo espessamento placentário com exsudação de líquido viscoso e aderente de cor acastanhada. Microscopicamente encontram-se no útero focos inflamatórios granulomatosos, com células epitelióides e ao redor um halo linfoplasmocitário (CHATE, 2010).

Nos seres humanos, os principais sintomas são observados na fase de bacteremia, semelhante aos quadros de infecção generalizada como a febre alta contínua e intermitente, respiração bem ofegante, calafrios e suores noturnos com um odor particular (SCHEIN et al., 2004).

A sintomatologia da brucelose aguda nos homens consiste em astenia, fadiga, constipação, anorexia, cefaléia e artralgia que são dores nas articulações provenientes de vários tipos de ferimentos e complicações no sistema nervoso levando a neurastenia, depressão, impotência sexual. Com a evolução do caso surgem artrites, espondilites, bursites, reumatismo inflamação na medula óssea e em muitos órgãos onde a bactéria tem preferência em se alojar, principalmente fígado, baço e sistema linfático (SCHEIN et al., 2004).

Uma grande parte dos pacientes se recupera em um a dois anos, com ou sem a realização do tratamento. Os sintomas crônicos são causados pela sensibilidade as proteínas produzidas pela *B. abortus*. O diagnóstico clínico da brucelose em seres humanos é muito complicado e de difícil precisão, pois os sintomas são inespecíficos, de uma infecção generalizada (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003).

3.3 - DIARREIA VIRAL BOVINA (BVD)

3.3.1 – Histórico

Em 1946, nos Estados Unidos da América (EUA), investigadores da Universidade de Cornell descreveram uma nova doença transmissível entre bovinos. Olafson et al. (1946)

caracterizaram esta doença por leucopenia, febre alta, depressão, diarreia e desidratação, anorexia, salivação, descargas nasais, erosões gastrointestinais e hemorragias em vários tecidos.(OLAFSON; MACCALLUM; FOX, 1946). Esta afecção tinha sido inicialmente observada em Ithaca (Nova Iorque) pelo Dr. Francis Fox, que na primeira abordagem considerou estar perante uma clássica disenteria de Inverno. (DEREGT, 2005).

Posteriormente, novos surtos da doença ocorreram noutros rebanhos da área. Em cinco rebanhos atingidos inicialmente, a morbidade variou entre 33-88% e a mortalidade entre 4-8%. Outros sinais clínicos foram, também, observados: a produção de leite diminuiu, ocorreram abortos entre 10 dias a 3 meses após a infecção, bem como algumas das vacas de um dos rebanhos desenvolveram pneumonia (DEREGT, 2005). Não foi encontrada nenhuma bactéria no sangue ou tecidos que produzisse os mesmos sinais clínicos em animais saudáveis(BROCK, 2003). Considerou-se, no entanto, a leucopenia grave observada nos animais afetados clinicamente como indicadora de etiologia viral (DEREGT, 2005). Foi, assim, denominada como Diarreia Viral Bovina ou em inglês *Bovine Viral Diarrhea* (BVD) (FLORES, 2003).

As lesões da BVD assemelhavam-se às da peste bovina, uma doença considerada exótica nos EUA. Contudo, a doença observada por Olafson e colaboradores não se comportou como a peste bovina. A peste bovina apresentava um quadro clínico mais devastador com alta taxa de transmissão e mortalidade, comparativamente à BVD(DEREGT, 2005). Após o relato da forma aguda em Nova Iorque, Childs (1946) descreveu uma doença idêntica, mas mais grave no gado bovino, no Canadá (DEREGT, 2005). Este relato foi considerado por Pritchard (1963), na sua revisão, como a primeira descrição da Doença das Mucosas (MD)(DEREGT, 2005). Anteriormente, em 1953, Ramsey e Chivers (1953) relataram a MD nos EUA, dando este nome à doença. Tal como Olafson, estes investigadores observaram lesões ulcerativas nas mucosas e diarreia(BROCK, 2003) com fezes aquosas, por vezes sanguinolentas (DEREGT, 2005). As lesões do tacto gastrointestinal verificadas na MD eram muito mais graves que aquelas observadas na BVD. Além disso, a MD afetou apenas alguns animais do rebanho, mas teve índices mais elevados de casos fatais (DEREGT, 2005).

Estudos efetuados no início da década de 1960 por Gillespie, Kniazeff, Thomson, Savan e seus colaboradores, utilizando neutralização viral, determinaram que os agentes virais isolados da BVD e da MD na América do Norte e na Europa eram os mesmos e que as diferentes manifestações clínicas das doenças eram causadas pelo mesmo agente

(DEREGT, 2005). O agente foi denominado por Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) (RIBEIRO; PEREIRA, 2004).

Com o isolamento de uma amostra, em 1960, que produziu efeito citopatogénico em histoculturas (amostra Oregon C24V), ensaio realizado por Gillespie e colaboradores, e que serviu de referência internacional, muito progresso foi feito no estudo do BVDV (GONDIM, 2006).

A descoberta de estirpes citopatogénicas permitiu o desenvolvimento da soroneutralização e de ensaios em placa de neutralização. Assim, a soroneutralização tornou-se um importante exame de diagnóstico, sendo ainda amplamente utilizado(DEREGT, 2005).

Nos anos 70, ficou estabelecido que animais com infecções congénitas com o BVDV eram economicamente inviáveis e, geralmente, morreriam em poucos meses, mas quando sobreviviam ficavam persistentemente infectados com o vírus e possuíam quantidades deficitárias de anticorpos seroneutralizantes contra o BVDV. As lesões microscópicas dos animais PI foram primeiramente observadas no cérebro e rins, por Cutlip et al. (1980) (DEREGT, 2005).

Já nos finais dos anos 80 ocorreram avanços significativos na biologia molecular do BVDV, com a primeiro sequenciamento genético das estirpes de BVDV, a descoberta da proteína marcadora para o vírus citopatogénico e a primeira evidência do RNA recombinante nas estirpes citopatogénicas dos vírus da Diarreia Viral Bovina (DEREGT, 2005).

Em 2001, a Organização Internacional de Epizootias (OIE) adicionou a BVD à sua lista de doenças, tanto devido à sua propagação a nível internacional, como à sua importância para o comércio de animais. É, assim, um forte sinal que a BVD está a tornar-se uma prioridade internacional (LINDBERG et al., 2006).

Atualmente, o vírus da Diarreia Viral Bovina tem distribuição mundial (FLORES, 2003; RIBEIRO; PEREIRA, 2004) e causa perdas económicas significativas para a pecuária bovina em todo o mundo, devido a perdas produtivas e reprodutivas, (BROCK, 2003; GONDIM, 2006) tais como menores ganhos de peso, perda na produção leiteira, baixos índices reprodutivos e morte.(FLORES, 2003; DEREGT, 2005) Nas últimas duas décadas, os avanços das pesquisas em genética molecular conduziram ao aumento da compreensão da vasta gama de doenças clínicas associadas à BVD(BROCK, 2003).

3.3.2 Etiologia

O BVDV pertence à Família Flaviviridae, Gênero Pestivirus, juntamente com outros dois vírus antígenicamente relacionados: o vírus da Peste Suína Clássica [Classical Swine Fever vírus, CSF] e o vírus da Doença da Fronteira que acomete ovinos [Border disease vírus], (RADOSTITS et al., 2002, POTGIETER, 2004). Segundo Oliveira (1996), o vírus da Doença da Fronteira (muito similar ao BVDV) até o presente não foi identificado em nosso meio, mas o BVDV pode infectar ovinos e ocasionalmente, suínos.

Os pestivirus são vírus envelopados, esféricos, com diâmetro entre 40 a 60 nm, cujo genoma consiste de uma fita simples de RNA de polaridade positiva, com 12,5 quilobases (POTGIETER, 2004).

O BVDV é sensível a solventes lipídicos (éter, clorofórmio) e é inativado por tratamento com tripsina. O vírus é mais estável na faixa de pH 5,7 a 9,3 com estabilidade máxima em pH 7,4. É facilmente mantido em estado liofilizado ou congelado a - 70°C por vários anos (HIRSH; ZEE, 2003).

Conforme Bolin e Grooms (2004) a alta frequência de mutações, recombinação, a pressão seletiva pela resposta imune estimulada por infecções naturais ou vacinação tem levado a criação de uma grande variedade de variantes genéticas e antigênicas do BVDV.

O BVDV apresenta dois biótipos reconhecidos pelo efeito causado em sua replicação em cultivo celular, os biótipos Citopático (CP) e não-Citopático (NCP) (FLORES et al., 2005). Os vírus NCP constituem a maioria dos isolados de campo, e está associada com as diversas manifestações clínicas da infecção, inclusive a geração de bezerros persistentemente infectados (PI - ocorre após infecção fetal entre os dias 40 e 120 de gestação). Por outro lado, os vírus CP estão presentes quase que exclusivamente em casos da doença das mucosas (DM). Tem sido demonstrado que os vírus CP se originam dos vírus NCP nos animais PI, por meio de mutações ou recombinações no genoma (BOTTON, 1998).

Conforme Smith (1993), a compreensão do significado clínico dos biótipos na atualidade é que qualquer um pode causar moléstia clínica em bovinos adultos e jovens, qualquer dos biótipos pode causar abortamentos ou malformações fetais; a infecção persistente, com seqüela a infecção in útero, parece envolver apenas o biótipo não citopático; a infecção com ambos os biótipos é necessária para o desenvolvimento da doença das mucosas (BVD crônica) e a antigenicidade não depende, nem está ligada ao biótipo.

O BVDV também se apresenta em dois genótipos, BVDV tipo I e BVDV tipo II, conforme propriedades antigênicas e análise filogenética. Os isolamentos do tipo I são mais frequentes e usados na produção da vacina, testes e pesquisas diagnósticas. Os isolamentos do tipo II são provenientes do soro fetal bovino, de animais persistentemente infectados nascidos de mães vacinadas e dos bovinos que morreram da forma aguda da doença, denominada doença hemorrágica (RADOSTITS et al., 2002).

Do ponto de vista imunológico, o BVDV é semelhante ao vírus da Peste Suína Clássica. A inoculação experimental em suínos não provoca a doença, mas protege esses animais contra o vírus da Peste Suína Clássica (BLOOD; HENDERSON; RADOSTITS, 1983).

3.3.3 Epidemiologia

O BVDV tem distribuição mundial e a prevalência de anticorpos chega a atingir 70 a 80% dos animais e até 80% dos rebanhos na América do Norte e em alguns países europeus. Nestes países, que são livres de Febre Aftosa, o BVDV é considerado o agente viral mais importante de bovinos e tem sido alvo de numerosos estudos e de programas de controle e/ou erradicação durante décadas (FLORES et al., 2005).

Os bovinos de todas as idades são suscetíveis, embora a doença aguda ocorra com maior frequência em animais jovens, de oito meses a dois anos de idade (BLOOD; HENDERSON; RADOSTITS, 1983). Os títulos de anticorpos contra o BVDV obtidos pela infecção natural normalmente diminuem lentamente, e frequentemente quando um animal é infectado, ele terá anticorpos contra o vírus por toda a vida (HOUE, 1995). Rebanhos que contém bovinos PI têm alta proporção de animais soropositivos. Rebanhos com poucos animais imunes têm mais risco de infecção o que aumenta a suscetibilidade do rebanho ao BVDV e conseqüentemente a possibilidade de nascimento de bovinos PI (POTGIETER, 2004).

O número de animais PI é determinado pela incidência de infecções agudas entre os animais soronegativos no começo da gestação e pela transmissão vertical pelos próprios bovinos PI (HOUE, 1995).

Uma incidência maior da doença parece ocorrer no inverno, com os casos aparecendo tanto nos animais estabulados como nos que estão a pasto, e esta enfermidade, parece ser mais comum no gado de corte do que no de leite (BLOOD; HENDERSON; RADOSTITS, 1983).

A BVD é transmitida por inoculação oral ou parenteral de material obtido de animais infectados. Em condições naturais a disseminação da doença ocorre por contato direto ou indireto (BLOOD; HENDERSON; RADOSTITS, 1983). A infecção pós-natal de bovinos que não tiveram exposição prévia ao vírus causa uma viremia transitória seguida de produção de anticorpos. A infecção fetal no início da gestação, entre 90 e 120 dias, produzirá imunotolerância ao BVDV, o bovino nasce PI, e é nesse animal que ocorre a doença das mucosas (HOUE, 1995).

Os bovinos PI são importantes na epidemiologia da doença, pois são a fonte de infecção mais importante em um rebanho (HOUE, 1995; RADOSTITS et al., 2002; POTGIETER, 2004). O sangue desses animais pode ter alta dose viral, da mesma forma a saliva, secreção nasal, sêmen, leite, urina e fezes (HOUE, 1995; POTGIETER, 2004). A doença também se espalha pelo contato direto com animais mortos e através de insetos sugadores segundo Bailey (1987) por meio de agulhas/material cirúrgico contaminado e luvas de palpação (FLORES, 2003).

A infecção persistente pode ser estabelecida apenas na primeira metade da vida fetal. Em comparação com muitos outros patógenos, a sobrevivência fetal após a infecção intrauterina precoce com BVDV é comum, podendo ser de até 70%. Os animais não vacinados, inadequadamente vacinados ou aqueles cuja situação imune declinou são mais suscetíveis à infecção e possuem potencial para doença clínica (RADOSTITS et al., 2002).

A transmissão pode ocorrer de forma vertical e horizontal (HOUE, 1995; POTGIETER, 2004). A transmissão é de uma geração para outra. Conseqüentemente pode se dizer que todos os bovinos PI são produzidos pela transmissão vertical (HOUE, 1995). Porém, na maioria dos casos, ela é precedida da transmissão horizontal da mãe, e durante essa, o vírus atravessa a placenta e infecta o feto (HOUE, 1995; POTGIETER, 2004).

A transmissão horizontal pode ser direta ou indireta (HOUE, 1995; POTGIETER, 2004). Contato direto entre bovinos suscetíveis e PI é um importante meio de transmissão (HOUE, 1995; POTGIETER, 2004).

O sêmen de touros PI contém alta concentração de BVDV e pode resultar em baixo grau de concepção em novilhas ou vacas suscetíveis. Novilhas ou vacas inseminadas se tornam transitoriamente infectadas e podem produzir bovinos PI. Apenas uma pequena proporção de novilhas soronegativas inseminadas com sêmen de touros infectados se torna infectada (POTGIETER, 2004). A transmissão indireta envolve um veículo para transmitir o patógeno entre os animais infectados e suscetíveis conforme Houe (1995) e depende da estabilidade do vírus fora do hospedeiro (HOUE, 1995; POTGIETER, 2004).

3.3.4 Sinais clínicos

As lesões ocorrem primariamente no trato gastrointestinal, no sistema linfático e no trato respiratório superior (HIRSH; ZEE, 2003). O epitélio escamoso do trato digestório superior apresenta úlceras róseas bem demarcadas. Essas lesões são redondas, ovais ou irregulares ocorrendo no pulvino dental, no palato, nas superfícies ventral e lateral da língua, nas gengivas dos dentes incisivos, na superfície mucosa das gengivas, no focinho e nas porções rostrais das narinas. Úlceras semelhantes ocorrem, embora menos frequente, na faringe (CARLTON; MCGAVIN, 1998).

No esôfago, úlceras pequenas e irregulares frequentemente se unem para formar úlceras lineares. Úlceras também ocorrem nos pilares do rúmen e nas folhas do omaso. As bases das úlceras que ocorrem no rúmen e no omaso são hiperêmicas e, às vezes hemorrágicas (CARLTON; MCGAVIN, 1998). O abomaso se apresenta inflamado e edematoso (HIRSH; ZEE, 2003), a mucosa apresenta hiperemia difusa com muitas petéquias e, freqüentemente, úlceras pequenas e redondas, com bordas róseas devido à hiperemia (CARLTON; MCGAVIN, 1998)

O intestino delgado tem a mucosa hiperêmica, salpicada por petéquias e conteúdo líquido, freqüentemente misturado a estrias de muco e células epiteliais descamadas (CARLTON; MCGAVIN, 1998). Depressão linfoide ou lesões das células imunocompetentes é freqüentemente observada. As placas de Peyer estão aumentadas de tamanho, completamente desprovidas de tecido linfoide, vermelho-brilhantes e freqüentemente, cobertas por muco e exsudato fibrinonecrótico. Linfonodos do trato gastrointestinal podem estar aumentados (HIRSH; ZEE, 2003).

Microscopicamente, as lesões no epitélio escamoso estratificado começam focalmente com degeneração hidrópica e necrose do estrato espinhoso. Segue-se erosão e ulceração com hiperemia e influxo de granulócitos nas margens e nas bases das úlceras. No abomaso, intestino delgado, ceco e cólon, o epitélio das criptas está necrótico. A perda de epitélio é extensa. As células epiteliais que sobrevivem são delgadas por terem se estendido (CARLTON; MCGAVIN, 1998).

A necrose de linfócitos é extensa dentro do centro germinativo das placas de Peyer. Esses folículos linfoides freqüentemente têm centros acelulares com epitélio cístico de criptas ou detrito necrótico e muco. Uma pseudomembrana fibrinonecrótica pode cobrir as placas de Peyer, o íleo e o intestino grosso (CARLTON; MCGAVIN, 1998).

Em bezerros infectados por via congênita, pode-se observar hiperplasia cerebelar, catarata, degeneração e hipoplasia da retina e neurite de nervos ópticos. Imunocomplexos constituídos de BVD, anticorpos antivirais e complemento podem ser encontrados no glomérulo renal dos bovinos doentes (HIRSH; ZEE, 2003).

3.4 HERPESVÍRUS VÍRUS BOVINO TIPO 1 (BOHV-1)/ RINOTRAQUEÍTE INFECCIOSA BOVINA (IBR)

3.4.1 – Histórico

Em 1954, os pesquisadores Schroeder e Moys registraram o primeiro caso de IBR, na Califórnia, Estados Unidos, descrevendo-a como uma nova doença do aparelho respiratório superior, incidente em gado leiteiro, a qual aparece repentinamente, causando febre alta, agalactia, e sinais respiratórios. Naquele momento a causa era desconhecida, porém era possível determinar que sua transmissão ocorre de tecidos e exsudatos proveniente de animais contaminados (SCHROEDER; MOYS, 1954).

A partir da primeira notificação, esta doença foi descrita em bovinos de leite e de corte, de todas as idades, principalmente os animais criados em sistemas semi- intensivos. A Rinotraqueíte Infecciosa Bovina começou a ser denominada como a “*Rednose*”, “*dust pneumonia*”, e em 1955, passou a ser chamada de *Infectious Bovine Rhinotracheitis*, sendo hoje conhecida pela sigla IBR (MCKERCHER, et al., 1955).

Anos mais tarde, após a descoberta do vírus, Saxegaard (1970), verificou que o mesmo agente causador da IBR, também é responsável pela manifestação de doenças venéreas, como a vulvovaginite pustular (VPI) em vacas. Outros estudos determinam ainda que o vírus possa ter chegado à América do Norte através de animais com infecção subclínica vindos da Alemanha, por volta de 1930. O BHV-1 provavelmente só havia se manifestado como uma doença venérea até ocorrer uma intensificação das criações, nas quais os animais começaram a ser mantidos aglomerados, favorecendo a modificação da virulência do agente, que neste momento, começou a se manifestar na sua forma respiratória (YATES, 1982).

Posteriormente a IBR foi largamente notificada em várias partes do mundo, ocorrendo em várias espécies de bovídeos, prevalecendo principalmente nos bovinos e bubalinos (PACELLE et al., 2005; GUARINO et al., 2008).

3.4.2 Etiologia

Herpesvírus bovino 1 pertence à família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae, gênero Varicellorirus. O genoma viral é constituído por uma molécula de DNA fita dupla linear e circundado por nucleocapsídeo icosaédrico. Recobrimo o capsídeo, há uma camada proteica amorfa denominada tegumento, e a camada mais externa é o envelope lipoproteico, que contém, em sua superfície, espículas de glicoproteínas com grande potencial imunogênico, responsáveis pela indução de anticorpos no hospedeiro (METTENLEITER, 2004). Por análises de restrição genômica (REA) e de reatividade com anticorpos monoclonais (AcMs), BoHV-1 pode ser classificado em três subtipos: BoHV-1.1 (IBR “like”) está relacionado aos quadros com sintomatologia respiratória e problemas reprodutivos, como infertilidade e abortamentos; o subtipo BoHV-1.2a tem sido associado a uma vasta variedade de manifestações clínicas, que incluem transtornos reprodutivos (abortamento), doenças do trato genital (IPV e IPB) e problemas respiratórios; por sua vez, episódios de doença respiratória leve, IPV e IPB podem ser atribuídos ao subtipo BoHV-1.2b, sendo que a ocorrência de abortamentos nunca foi associada a este genótipo (FLORES, 2007). Porém, a base molecular do tropismo dos subtipos BoHV-1.1 e 1.2 pelo trato respiratório e genital, respectivamente, não está completamente elucidada; logo, a associação dos subtipos com cada quadro clínico pode não ser mutuamente exclusiva. Os isolados dos três subtipos apresentaram ainda elevada reatividade sorológica cruzada, o que pode dificultar a sua diferenciação em testes diagnósticos feitos por soroneutralização (SPILKI ET AL., 2004).

Uma característica peculiar a todos os herpesvírus é a capacidade de induzir um estado de latência nos glângliostriogeminal ou sacral. Durante a latência, o genoma viral se mantém na forma circular episomal e a expressão gênica ocorre de forma limitada ou mesmo ausente. O genoma viral encontra-se associado a histonas e, assim, permanece em estado latente em neurônios infectados. Quando os animais são expostos a fatores estressantes, têm a imunidade suprimida, criando condições ideais para a reativação viral, que cursa com síntese e excreção de progênie infecciosa (Jones, 2003). Em estudo realizado por HENZEL ET AL. (2008), foi observada em bezerras inoculadas pronunciada recrudescência clínica durante o período de reativação viral, além de reexcreção de BoHV-1 nas secreções vaginais em títulos moderados, o que parece ser suficiente para manter a circulação do vírus em rebanhos.

A relação de BoHV-1 e estresse é bem conhecida, conforme relatado por Proudfoot et al. (2012), referindo-se aos estudos realizados por Van Reenen et al. (2000), quando bezerros isolados socialmente e inoculados experimentalmente com BoHV1 excretaram mais vírus que aqueles que permaneceram junto aos lotes de costume.

O ciclo viral replicativo ou lítico ocorre em células permissivas à replicação e resulta na produção da progênie infecciosa, típico de infecção aguda. In vivo, a replicação de BoHV-1 ocorre na mucosa do trato respiratório ou na mucosa genital, variando de acordo com a via de infecção. O vírus penetra nas terminações nervosas periféricas e migra, via axônio, para os neurônios dos gânglios trigêmeo ou sacral, onde estabelece infecções latentes (ROIZMAN ET AL., 1995).

3.4.3 Epidemiologia

A IBR é uma doença cosmopolita, facilmente transmitida através de secreções respiratórias oculares e reprodutivas, sendo a última, a via de entrada mais comum em rebanhos (URBINA; RIVERA; CORREIA, 2005).

Touros utilizados na de sêmen que possuem o vírus em estado de latência, apresentam-se como um problema especial, uma vez que o sêmen pode sofrer contaminação com grande quantidade de HBV-1 nos episódios de reativação viral. Animais clinicamente saudáveis, no qual a reativação do vírus está ocorrendo, podem apresentar infecções leves ou subclínicas. O reconhecimento de sinais clínicos será, portanto, de pouco valor na transmissão pela monta (ROCHA; GOUVEIA; LEITE, 2005).

Portando, o sêmen contaminado pelo HBV-1, desempenha um papel fundamental na cadeia epidemiológica, podendo transmitir o agente pela monta natural e inseminação artificial (IA) (TAKIUCHI; ALFIERI; ALFIERE, 2001). O HBV-1 presente no sêmen permanece viável quando preservado a 4°C por sete dias, e por cinco dias em temperatura ambiente (OIE, 2008).

O animal portador latente pode reativar o vírus se for exposto a fatores estressantes e predisponentes que diminuem a resistência imunológica. Este mecanismo evidenciam os períodos de reexcreção viral, acompanhados ou não de sinais clínicos (COLODEL et al., 2002).

O BoHV-1 é responsável por ocasionar IBR, IPV (Vulvovaginite pustular), IPB (balanopostite pustular infecciosa), conjuntivite, e distúrbios reprodutivos como infertilidade, repetições de cio, mortalidades embrionária e fetal, natimortalidade e

mortalidade neonatal (STRAUB, 1991). Além disso, a infecção pelo vírus pode ocasionar o nascimento de animais debilitados e quadro de enterite, provocando a morte de neonatos (LEMAIRE et al., 1994).

3.4.4 Sinais clínicos

Dois a três dias após a infecção, o animal pode apresentar febre, inapetência, aumento da frequência respiratória, rinotraqueíte e conjuntivite. A severidade dos achados clínicos parece estar relacionada à amostra do vírus, o estado imunológico do animal no momento da infecção, aos agentes estressores ambientais e à idade do animal, sendo considerado um dos agentes mais importantes do complexo de doenças respiratórias dos bovinos. Em vacas prenhes, a viremia pode causar abortamento, bem como infertilidade, nascimento de bezerros débeis e natimortos (LEMAIRE; PASTORET; THIRY, 1994; TIKOO; CAMPOS; BABIUKI, 1995).

Nem sempre ocorrem lesões fatais no feto e, quando nascidos, os bezerros apresentam anticorpos contra o vírus, mas estão persistentemente infectados, sem sintomas clínicos da doença, podendo eliminar vírus quando estressados e são uma fonte de infecção para bezerros susceptíveis (MILLER, 1991).

A enfermidade genital, caracterizada pela vulvovaginite pustular infecciosa das vacas e a balanopostite infecciosa dos touros, apresenta lesões de aspecto focal, que surgem como pequenas pápulas avermelhadas na mucosa vaginal e prepucial, evoluindo para pústulas. As mucosas vaginais e prepuciais tornam-se edemaciadas, os animais apresentam micção frequente e as fêmeas levantam a cauda (ROCHA, 1999).

A primo-infecção pode trazer perdas por problemas reprodutivos e respiratórios, principalmente pelo aparecimento de sintomas clínicos em animais soronegativos, pois o animal não apresenta ainda resposta imunológica contra o HVB-1 (LEMAIRE; PASTORET; THIRY, 1994). Os efeitos do HVB-1 demonstram que a infecção pode interferir nos índices reprodutivos dos plantéis infectados (ALFIERI; ALFIERI; KERLEI, 1998). A infecção pelo HVB-1 pode comprometer tanto o desenvolvimento do embrião como do feto, embora seja observado abortamento com maior frequência, em condições de campo, no segundo e terceiro trimestres de gestação (ROERE; WEMLEN, 2000).

Em touros, a replicação viral durante a reativação geralmente ocorre sem sintomas clínicos da doença e pode estar eliminando intermitentemente vírus no sêmen (VAN

ENGELENBURG et al., 1995). O HVB-1 não interfere na qualidade do ejaculado, uma vez que não age sobre os espermatozoides (; VANENGELENBURGetal.,1993).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL

O material utilizado nesta pesquisa é oriundo de 24 municípios (figura1)que fazem parte do banco de amostras coletadas pelo órgão de defesa do estado do Maranhão, a Agência de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED) em parceria com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), no ano de 2012, nos meses de abril a junho. O mesmo foi utilizado para um estudo da avaliação de circulação viral da febre aftosa e foi conduzido em toda a região que compõe a proposta de ampliação da zona livre com vacinação, constituída pelos Estados de Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Rio Grande do Norte, mais regiões nordeste e norte do Estado do Pará (BRASIL, 2013).

Para a presente pesquisa, foram utilizadas 1065 amostras de soro de animais de rebanhos com aptidão para corte, provenientes de 33 propriedades. (tabela 1)

O banco de soros após sua utilização foi mantido a – 20°C no laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão, o mesmo foi cedido para realização deste trabalho.

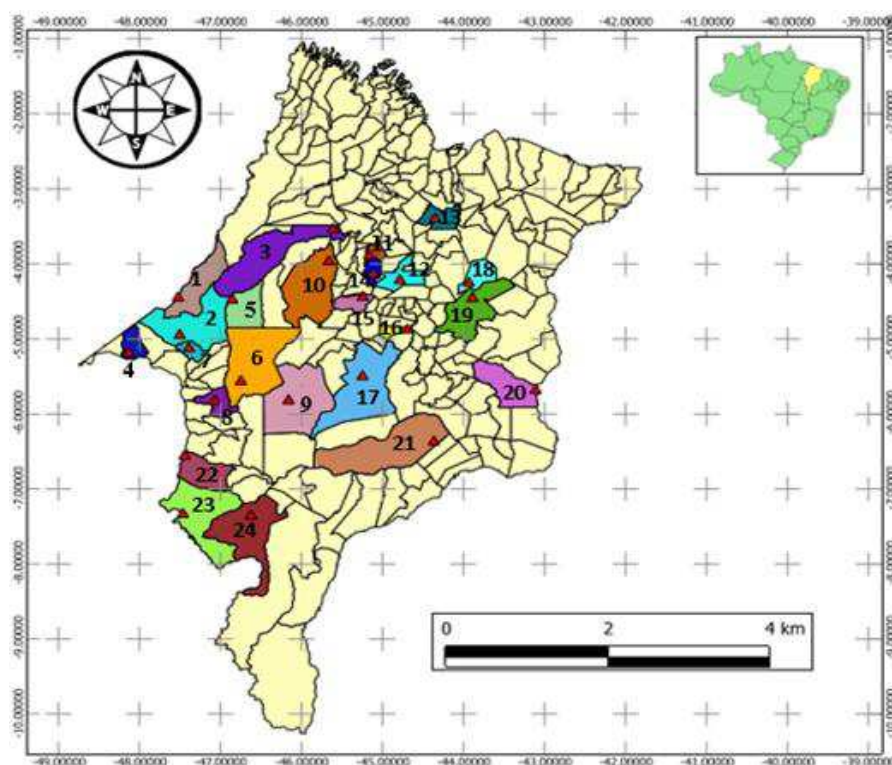


Figura 1. 1. Açailândia, 2. Itinga do Maranhão, 3. Bom Jardim, 4. Vila dos martírios, 5. Bom Jesus das Selvas, Amarante do Maranhão, 7. São Francisco do Brejão, 8. Montes Altos, 9. Grajaú, 10. Santa Luzia, 11. Pio XII, 12. Bacabal, 13. Itapecuru Mirim, 14. Olho D'água das Cunhãs, 15. Paulo Ramos, 16. Esperantinópolis, 17. Barra do Corda, 18. Timbiras, 19. Codó, 20. Parnarama, 21. Mirador, 22. Estreito, 23. Carolina e 24. Riachão.

Tabela 1 – Distribuição dos rebanhos de gado de corte por município, Maranhão 2012.

Município	Nº de Propriedades/Municíp	Total de Amostras/ município
Açailândia	06	70
Amarante do Maranhão	03	45
Bacabal	03	36
Barra do Corda	01	28
Bom Jardim	01	58
Bom Jesus das Selvas	01	30
Carolina	01	24
Codó	01	59
Esperantinópolis	01	20
Estreito	01	21
Grajaú	01	30
Itapecuru Mirim	01	20
Itinga do Maranhão	01	61
Mirador	01	22
Montes Altos	01	27
Olho d'água das Cunhãs	01	30
Parnarama	01	60
Paulo Ramos	01	28
Pio XII	01	27
Riachão	01	28
Santa Luzia	01	61
São Francisco do Brejão	01	29
Timbiras	01	21
Vila dos Martírios	01	56
Total	33	950

4.2 SELEÇÃO DAS PROPRIEDADES E DOS ANIMAIS

Os municípios foram selecionados de forma aleatória simples. Ao iniciar a análise do banco de dados com os rebanhos selecionados observou-se que os rebanhos com explorações direcionadas para o tipo leite e misto, representavam 6% e 10% respectivamente do total amostrado no estudo de circulação viral da febre aftosa (BRASIL, 2013), desta forma, para que evitássemos um viés de análise com relação ao tipo de exploração, para o estado do

Maranhão, foram excluídos rebanhos com exploração tipo leite e misto, com base nisso trabalhamos apenas com rebanhos de aptidão corte, resultando em 33 propriedades, oriundas de 24 municípios.

4.3 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO PARA A LEPTOSPIROSE

Para detectar anticorpos contra *Leptospira interrogans*, todos os soros foram submetidos à prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) com antígenos vivos (World Health Organization, 1967; OIE, 2010).

A prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) foi realizada, no Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infeciosas da Universidade Estadual do Maranhão, com uma coleção de cultura vivas de 24 variantes sorológicas de *Leptospira interrogans* (tabela 2), mantidas em meios semi-sólidos de Fletcher (1928) e meio líquido EMJH (DIFCO®-USA), suplementados com 10% de soro estéril de coelho repassado em filtro Millipore, para maior retenção dos resíduos contidos no soro.

Tabela 2 Distribuição dos 24 sorovares utilizados na prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM)

<i>LEPTOSPIRA INTERROGANS</i>					
24 SOROVARES					
1A	<i>L. Australis</i>	5	<i>L. Canícola</i>	10A	<i>L. Compenahgue</i>
1B	<i>L. Brastilava</i>	5F	<i>L. Sentot</i>	10B	<i>L. Icterohemorragiae</i>
2A	<i>L. Autumnallis</i>	6	<i>L. Whitcombi</i>	11	<i>L. Javanica</i>
2B	<i>L. Butembo</i>	7	<i>L. Cynope</i>	12	<i>L. Panamá</i>
3	<i>L. Castelone</i>	8	<i>L. Grippotyphosa</i>	13A	<i>L. Pomona</i>
				18	<i>L. Adamanda</i>
4A	<i>L. Batavae</i>	9	<i>L. Hebdomadis</i>	14	<i>L. Pyrogenes</i>
				20	<i>L. Patoc</i>

Na SAM, a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. nos soros é verificada a partir de uma diluição 1:50, sendo uma parte de soro sanguíneo para 49 partes de solução salina 0,85%. Dessa diluição são colocadas alíquotas de 25 µL em placas de porcelana escavada (placa de toque), e adicionada igual quantidade do antígeno, o que resulta em uma diluição 1:100. A leitura foi realizada em microscópio de campo escuro com lente objetiva de 10 x 0,20 e ocular de 10 (x100). As diluições de 1:100 foram transferidas das placas de porcelana para lâminas de fundo fosco, para uma melhor visualização das reações de aglutinação no microscópico de campo escuro.

O critério adotado para considerar um soro como reagente foi a aglutinação de pelo menos 50% das leptospiras no campo microscópico no aumento de 100x (figura 2). Os soros reagentes na triagem inicial foram reexaminados em sete diluições seriadas de razão dois e selecionadas apenas as amostras com titulação mínima de 100 (ponto-de-corte), ou seja, todas as reagentes (SANTA ROSA et al. 1975, SANTA ROSA et al. 1980).

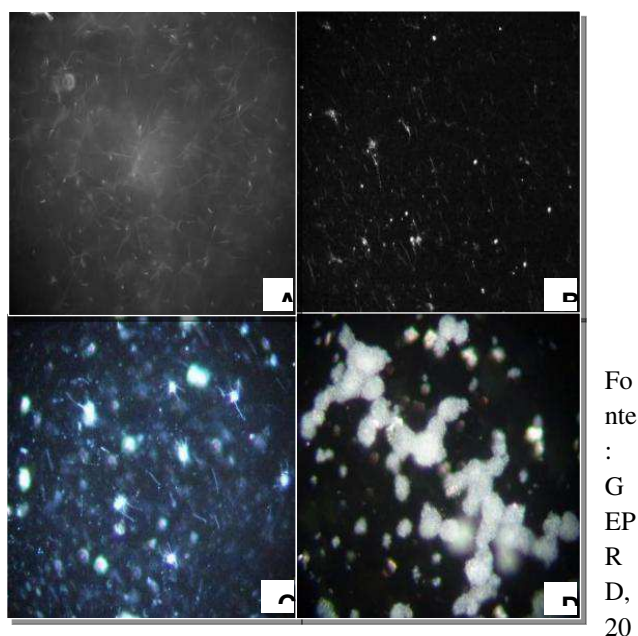


Figura2 .Soro aglutinação Microscópica. **A)** reação negativa (de 0 a 24% de aglutinação no campo). **B)** reação 1+ (de 25 a 49% do campo aglutinado, grande frequência de leptospiras soltas). **C)** reação 2+ (de 50 a 74% de aglutinação, em campo quase repleto, mas ainda observa-se leptospiras soltas). **D)** reação 3+ (de 75 a 100% do campo aglutinado, o mínimo de leptospiras soltas).

Fonte :
G
EP
R
D,
20

4.4 PARA IBR E BVD:

A pesquisa de anticorpos anti-BVDV e anti-IBR foi realizada por kits comerciais de ELISA indireto (IDEXX[®] BVDV total Ab e INDEXX[®] IBR Gb x3).

No teste para BVD, após a incubação das amostras teste nas cavidades da placa de ELISA, anticorpos foram detectados pelo conjugado anti-bovino. Depois o conjugado não aderido foi lavado, e uma solução de substrato/cromógeno é adicionada. Na presença de enzima, o substrato é convertido em um produto que reage com o cromógeno para gerar uma coloração azul. Após a adição da solução de interrupção (solução *stop*), uma coloração amarela é gerada. A absorbância foi medida utilizando-se um espectrofotômetro (450 nm). A presença de cor indica a presença de anticorpos contra BVDV nas amostras teste, ou seja, resultado positivo.

Já no teste para IBR, o kit utilizado é caracterizado por um ensaio imunoenzimático projetado para detectar a presença de anticorpos contra IBR em soro ou leite bovino. Além disso, as respostas induzidas por vacinas que contêm a glicoproteína B (gB) do BHV1 são detectadas por este ELISA. O formato de microtitulação foi configurado para imobilizar os antígenos virais do IBR na placa. Depois da incubação de uma amostra de soro para o teste, na cavidade impregnada, o anticorpo específico contra IBR forma um complexo com os antígenos virais imobilizados. Depois de lavar o material não-ligado das cavidades, adiciona-se o conjugado de anticorpo monoclonal gB-específico com Peroxidase de Raiz Forte que não se ligará ao antígeno BHV1 quando o determinante antigênico, reconhecido pelo anticorpo monoclonal for anteriormente ocupado (bloqueado) pelos anticorpos da amostra testada.

Em seguida, o conjugado não ligado foi lavado e foi adicionada uma solução Substrato-cromógeno. Na presença da enzima, o Substrato converte-se em um produto que reage com o cromógeno, gerando cor azul. Com a adição da Solução de interrupção (solução *stop*) foi gerada a cor amarela. A absorbância a um comprimento de onda de 450nm ou comprimento de onda duplo de onda de 450 nm e 620nm é medida através de um espectrofotômetro.

4.5 PARA BRUCELOSE:

Em virtude de dificuldades na aquisição dos antígenos, não possível a compra do AAT em tempo hábil para a realização dos testes antes do mês de agosto. Sendo assim, os mesmos serão realizados em meados de outubro/2016, para que os dados sejam incluídos ao presente trabalho.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO:

5.1 Leptospira:

Foram analisadas um total de 476 amostras de soro bovino provenientes dos 24 municípios acima citados, pertencentes ao Estado do Maranhão, Brasil. Destas, 74,79% (n=356) foram reagentes ao teste de Soro aglutinação Microscópica (SAM). Os resultados obtidos concordam com os de outros estudos semelhantes realizados em bovinos no Brasil.

Este resultado é semelhante ao descrito por Fontana (2011), estudando a relação epidemiológica existente entre duas populações simpátricas de mamíferos no Pantanal do Mato Grosso do Sul, bovinos e porcos-monteiros, onde foram estudadas 12 propriedades, sendo testadas 266 amostras, encontrando um percentual de soro positividade para a leptospirose de 76,69% (n=204), com maior ocorrência para os sorovares *Hardjo*, *Tarassovi* e *Grippotyphosa*. A prevalência dos sorovares *Icterohaemorrhagiae* e *Pomona* nos bovinos foi, entretanto, de apenas 3,75% e 3%, respectivamente, embora nos suínos ferais estes tenham sido os sorovares mais frequentes.

Nossos resultados, corroboram também com os resultados encontrados em estudo realizado por Santos et al. (2015), onde 4.623 amostras provenientes de dez rebanhos de gado de corte, foram submetidas ao teste de SAM contra uma coleção de 24 sorovariedades de *Leptospira*, onde foi observado que todas (100%) as propriedades apresentaram animais sororreagentes. Neste mesmo estudo observou-se, entretanto, 81,03% (n=3.747) animais reagentes, e as sorovariedades *Wolffi* (51,48%), *Hebdomadis* (36,46%), *Shermani* (33,13%) e *Hardjo* (29,63%) foram as que mais ocorreram.

Sánchez et al. em 2015, com o intuito de avaliar o estado sanitário da leptospirose nos bovinos reprodutores da região de Bauru., examinaram amostras de soros de 37 touros sem sintomatologia clínica; mediante a técnica de SAM realizadas com 28 sorovares da bactéria, foram detectados 89,2% (33/37) touros reagentes a pelo menos um sorovar testado; sendo os sorovares *Hardjo*, tipo *Hardjoprajitno* - referência (81,8%), *Hardjo*, tipo *Hardjoprajitno* estirpe Canta Galo-CTG (75,8%), *Wolffi* (57,5%) e *Hardjo*, tipo *Hardjobovis* (51,5%) os mais frequentes. Resultados estes que ratificam, nossos resultados, uma vez que o sorovar com maior frequência em animais reagentes no presente trabalho, também foi *Hardjo*.

A prevalência de leptospirose bovina nos rebanhos amostrados no presente inquérito também foi semelhante a encontrada por Oliveira (2010), conduzidos no Estado da Bahia, que realizou estimativas de prevalências de rebanho e individual, que ficaram em 77,93% e 45,42%, respectivamente, com base em uma amostragem probabilística de diferentes regiões do estado, indicando haver diferença significativa entre as prevalências observadas nos diferentes circuitos pecuários amostrados.

No presente trabalho, todos os 24 sorovares pertencentes à coleção de antígenos foram encontrados nos bovinos examinadas, e em grande parte dos municípios avaliados. Na Bahia Oliveira (2008) detectou 23 de 24 sorovares examinados bovinos, e no estado de São Paulo, Castro (2006) evidenciou que dos 22 sorovares testados 19 estavam presentes em animais da região, corroborando os resultados do presente estudo.

Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstram que 100% (n=33) propriedades apresentaram animais sororeagente para *Leptospirainterrogans*, corroborando com trabalhos realizados por Oliveira et al. (2001) em Garanhuns, estado do Pernambuco, onde testaram rebanhos com aptidão para corte, e encontraram pelo menos um animal sororeagente em todas as propriedades analisadas. Em estudo realizado por Favero et al. (2001) em 21 estados brasileiros, a prevalência de propriedades com pelo menos um animal positivo foi de 84,1%, com valores variando entre 74% e 100%, incluindo rebanhos positivos em todos os estados analisados, assemelhando-se com os resultados do presente trabalho.

Resultado um pouco diferente do encontrado nesta pesquisa, onde como sorovares com maior ocorrência também tivemos o *Hardjo* (45,22%), porém os animais também foram bastante reagentes a *Hebdomadis* (35,39%) e *Wolffi* (28,37%) (tabela 2). No entanto, este resultado corrobora com o resultado de inúmeros trabalhos, como os realizados por Favero et al. (2001), que abrangeu 21 estados do Brasil; por Lilenbaum e Souza (2003), no Rio de Janeiro, com frequências de animais reagentes de 43,8% para o sorovar *Hardjo* e 24,7% para o *Wolffi* e, na mesma área de estudo, por Pellegrin et al., em 1999, tanto em animais quanto em rebanhos.

Estes resultados são bastante relevantes, uma vez que os bovinos são susceptíveis à infecção por vários sorovares de *Leptospira spp.* patogênicas que possam estar presentes em habitat, podendo esta infecção ocorrer de forma direta ou indireta através de 2 fontes: de outros bovinos portadores, e/ou outros hospedeiros que estejam presentes mesmo ambiente (ELLIS et al,1976).

Os diferentes sorotipos encontrados por Ellis et al., (1976), foram classificados por Ellis (1984) em: amostras adaptadas e mantidas pelos bovinos; e amostras não adaptadas que causam infecções acidentais, pois são mantidas por outras silvestres e/ou sinantrópicos, e espécies domésticas. Assim sorovares acidentais como,

Sentot, Adamanda, Hebdomadidis detectados nesse estudo e cujas descrições são relacionadas com animais silvestres (SANTA ROSA et al., 1980), nos levam a suspeita do grande envolvimento dessas espécies da fauna como reservatórios destes sorovares para os bovinos.

Tabela 3. Porcentagens bovinas, reagentes à prova de Soroaglutinação Microscópica para diferentes sorovares de *Leptospirassp.*, Maranhão, Brasil, 2016.

Sorovar	N° de bovinos Reagentes*	%	Sorovar	N° de bovinos Reagentes	%
<i>L.Australlis</i>	50	14,04	<i>L.Compenahgue</i>	22	6,18
<i>L.Brastilava</i>	5	1,40	<i>L.Icterohemorragiae</i>	27	7,58
<i>L.Autuminallis</i>	50	14,04	<i>L.Javanica</i>	6	1,69
<i>L.Butembo</i>	18	5,6	<i>L.Panamá</i>	8	2,25
<i>L.Castelone</i>	20	5,62	<i>L.Pomona</i>	58	16,29
<i>L.Batavae</i>	16	4,49	<i>L.Pyrogenes</i>	19	5,34
<i>L.Canícola</i>	69	19,38	<i>L.Hadjo</i>	161	42,22
<i>L.Sentot</i>	53	14,89	<i>L.Wolffi</i>	101	28,37
<i>L.Whitcombi</i>	56	15,73	<i>L.Shermani</i>	75	21,07
<i>L.Cynope</i>	19	5,34	<i>L.Taransovi</i>	10	2,81
<i>L.Grippotyphosa</i>	32	8,99	<i>L.Adamanda</i>	31	8,71
<i>L.Hebdomadis</i>	126	35,39	<i>L.Guaricura</i>	89	25

*Titulação de anticorpos = 1:100

No presente estudo, a alta prevalência observada para os sorovares *Hardjo*, *Wolffi* está em conformidade com a maioria dos inquéritos sorológicos realizados em bovinos no Maranhão (SILVA et al., 2012) e no Brasil (FAVERO et al., 2001; MAGAJEVSKI et al., 2007). Este resultado apresenta-se bastante significativo, visto que o sorovar *Hardjo* é considerado o mais difundido mundialmente, sendo responsável por grande impacto econômico na atividade pecuária, tendo como suas principais consequências o abortamento, conforme registrado por Gomes (2008).

Porém, em estudo realizado por Silva et al. (2016), seus resultados chamam a atenção para a alta frequência de outro sorovar. Em Uberlândia, 665 bovinos foram diagnosticados como sororreagentes para leptospirose nos anos de 2010 a 2015, e a frequência de animais sororreagentes para *Leptospira interrogans* sorovar *Hebdomadis* foi respectivamente: 15% (10/63), 21% (7/33), 19,5% (20/103), 38% (103/270), 8,75% (9/105) e 90% (82/91). Esses resultados indicam que a frequência de reatividade para o sorovar *Hebdomadis* aumentou ao longo dos anos, destacando-se o de 2015.

Estes resultados estão de acordo com os resultados do presente trabalho, visto que o sorovar *Hebdomadis* foi o que a apresentou a segunda maior frequência (35,39%) nos animais testados. A possibilidade de reação vacinal não pode ser descartada, embora o sorovar *Hebdomadis* não estar presente em vacinas comercializadas no Brasil contra leptospirose, ele pode vir a apresentar reações cruzadas com anticorpos induzidos por sorovares do grupo *Sejroe* incluídos em tais vacinas.

Tabela 4. Distribuição de anticorpos detectados contra os sorovares de *Leptospiraspp* submetidos à prova de SAM nos 24 municípios com aptidão para corte, Maranhão, Brasil, 2016.

Municípios	Animais Testados	Animais Reagentes
Açailândia	70	43
Amarante do Maranhão	45	34
Bacabal	43	29
Barra do Corda	14	11
Bom Jardim	30	30
Bom Jesus das Selvas	15	15
Carolina	12	10
Codó	30	22
Esperantinópolis	10	8
Estreito	11	8
Grajaú	15	8
Itapecuru Mirim	10	9
Itinga do Maranhão	31	21
Mirador	11	10
Montes Altos	14	8
Parnarama	30	14
Paulo Ramos	14	14
Riachão	14	11
Santa Luzia	31	25
São Francisco do Brejão	15	15
Timbiras	11	11
TOTAL	476	356
	%	74,79%

*Títulos de anticorpos =1:100

A leptospirose bovina encontra-se presente em todos os municípios estudados, observando-se alta prevalência, nos animais testados. Apesar de os sorovares *Hardjo*,

Hebdomadis e *Wolffiserem* os mais prevalentes neste estudo, não são os únicos a circularem na população bovina da região, devendo isto ser considerado para aplicação de práticas de profilaxia e controle da doença.

5.2 BVD:

A frequência de bovinos reagentes ao BVD_v, no estudo, foi de 55,43% (n=215). Este resultado indica que a infecção por este vírus está presente nos rebanhos bovinos maranhenses. Em todos os municípios foram encontrados animais reagentes para o teste realizado com as amostras, cujas proporções variaram de 6,66 a 100,00%.(tabela 4).

O percentual de animais reagentes para o BVD_v foi próximo ao encontrado por Chaves et al. (2009) e Chaves et. al (2012), quando observaram uma frequência de 69,44% e 65,66%, respectivamente, em bovinos no Maranhão. Esse valor está de acordo com as estimativas de prevalência de anticorpos contra BVD_v na população bovina, que varia de 50 a 90% (HOUE, 1999).

A prevalência de anticorpos para BVD_v, entre as 460 amostras de soros bovinos testados no presente estudo de 55,43%, foi inferior aos encontrados por Melo et al., (1997), no Estado do Sergipe, onde foram observados índices entre 58,23% e 71,18%. Os resultados mostram-se inferiores mais uma vez, quando comparados aos resultados obtidos por Piovesan et al. (2013) onde foi verificado 85,4% de animais sorologicamente positivos para BVD, valores obtidos de animais vacinados e não-vacinados, no estado do Rio Grande do Sul. Também se mostrou inferior ao resultado observado por Sousa et al. (2013) onde a frequência de animais reagentes foi de 67,3% (n=105), em estudo feito na Ilha de São Luís, Maranhão.

Porém superior aos 43,6% encontrados por Pellegrin et al. (1999), em propriedades localizadas no Pantanal.

Tabela5. Porcentagem e número de animais reagentes e suspeitos no soro sanguíneo submetidos ao teste de ELISA para detecção de anticorpos contra o vírus da BVD nas propriedades estudadas no estado do Maranhão, 2016.

Municípios	Nº Total de animais	Positivo	% positivos	Suspeitos	% suspeito
Açailândia	64	25	39,06	3	4,69
Amarante do Maranhão	35	10	28,57	0	0,00

Bacabal	14	7	50,00	0	0,00
Barra do Corda	14	9	64,29	0	0,00
Bom Jardim	30	24	80,00	0	0,00
Bom Jesus das Selvas	15	15	100,00	0	0,00
Carolina	11	6	54,55	1	9,09
Codó	30	25	83,33	0	0,00
Estreito	17	4	23,53	2	11,76
Grajaú	15	2	13,33	0	0,00
Itapecuru Mirim	10	6	60,00	0	0,00
Itinga do Maranhão	31	29	93,55	0	0,00
Mirador	11	7	63,64	0	0,00
Montes Altos	18	4	22,22	0	0,00
Olho d'água das Cunhãs	15	12	80,00	0	0,00
Parnarama	6	1	16,67	0	0,00
Paulo Ramos	14	12	85,71	1	7,14
Pio XII	15	15	100,00	0	0,00
Riachão	16	6	37,50	0	0,00
Santa Luzia	31	17	54,84	0	0,00
São Francisco do Brejão	15	1	6,67	0	0,00
Timbiras	12	6	50,00	1	8,33
Vila dos Martírios	21	12	57,14	8	38,10
Total	460	255	55,43	8	

Dos 24 municípios amostrados, 100% apresentaram pelo menos um animal reagente ao BVD_v, como descrito por Guimarães et al. (2000), em estudo realizado em Goiânia. Dos municípios analisados, 2 (dois) apresentaram 100% de animais reagentes. Foram eles Pio XII e Bom Jesus. O alto percentual de animais reagentes para o BVD_v comprova que o vírus da diarreia viral bovina se encontra difundido na região estudada.

Presume-se que variação dos resultados se deve provavelmente aos diferentes sistemas de criação empregado nas fazendas, que aliado ao manejo e a origem desses animais, reflete uma pré-exposição ao BVD_v em algum momento de sua vida. Segundo Houe, 1999, o sistema de criação extensivo não favorece a transição do vírus se comparado aos sistemas intensivos e semi-intensivos, uma vez nestes sistemas o contato direto é mais provável que ocorra, sendo esta a forma mais comum de transmissão do BVD_v. Em propriedades com sistema de criação extensivo que apresentaram uma alta prevalência de animais reagentes, podemos presumir que se tratou de introdução de um animal no rebanho ou mesmo pela origem dos bovinos desconhecida.

Os maiores problemas causados pelo BVD_v estão relacionados à esfera reprodutiva (FLORES, 1997). Assim, o comprometimento do desempenho reprodutivo, se dá principalmente quanto à ocorrência de aborto.

Estes altos índices de animais reagentes podem sugerir que no maranhão a imunização dos animais pode estar sendo negligenciada, o que pode vir a provocar um grande impacto na economia do estado, já que se torna um entrave para a exportação desses animais.

A alta frequência de anticorpos anti-BVD é um atento à implementação de medidas visando a prevenção e controle da infecção na região estudada. A prevenção de novas infecções pode ser realizada utilizando-se estratégias relacionando a combinação entre a remoção gradual dos animais infectados e a eliminação dos animais PI, juntamente com a realização de quarentena no ingresso de bovinos na propriedade e exames sorológicos anuais, buscando impedir a reintrodução de animais infectados no rebanho (DIAS & SAMARA, 2003).

5.3 IBR:

Das 460 amostras de soro sanguíneo avaliados, 66,52% (n=306) foram reagentes, e 0,86 % (n=4) suspeitas ao BHV-1. (tabela 5)

Estes resultados assemelham-se aos descritos por Bezerra et al. (2012) em rebanhos bovinos da região Amazônica maranhense com frequência de 69,25% de amostras reagentes. Assemelham-se também aos resultados observados por Freitas et al. (2014), onde 1104 amostras de soro sanguíneo de bovinos de corte foram avaliados, e 63,23 % (n=698) foram reagentes contra o BoHV-1. Nossos resultados acabam corroborando com o que foi observado por Pasqualotto, Sehnem e Winck (2015) onde do total de amostras analisadas 57,54% (482/842) foram positivas para o agente BHV-1.

O resultado da pesquisa foi superior a um estudo citado por Dias et al. (2008), que foi realizado no Estado do Paraná em propriedades que apresentavam um histórico de problemas reprodutivos, onde foi verificado uma incidência de 41,9% animais positivos ao vírus. Foi superior também ao valor encontrado em estudo realizado por Weiblen (2004 apud Flores et al., 2005), que encontrou soro positividade de 39,3% ao

testar por 14535 bovinos procedentes de 1264 propriedades rurais do Rio Grande do Sul. Porém o valor encontrado no presente trabalho, assemelha-se ao encontrado por Vidor (2004 apud Flores et al., 2005), que relatou uma taxa de soro positividade de 58,8% ao analisar por 697 bovinos provenientes de 47 propriedades rurais de 17 municípios da metade sul, também no Rio Grande do Sul.

No entanto, a frequência de animais reagentes, foi ligeiramente menor do encontrado por Vieira et al. (2003), no Estado do Goiás, também através da técnica ELISA, onde foi encontrada uma frequência de 83% de amostras reagentes, também em Goiás, Affonso et al. (2010), avaliaram amostras de animais na linha de abate de abatedouros localizados na região metropolitana de Goiânia, e encontraram uma frequência de 84,5% de amostras reagentes, demonstrando resultados superiores aos encontrados nesse estudo.

Tabela6 Porcentagem e número de animais reagentes e suspeitos no soro sanguíneo submetidos ao teste de ELISA para detecção de anticorpos contra o vírus da IBR nas propriedades estudadas no estado do Maranhão, 2016.

Municípios	Nº Total de		% positivo	Suspeitos	% suspeitos
	animais	Positivos			
Açailândia	64	38	59,38	0	0
Amarante do Maranhão	35	30	85,71	0	0
Bacabal	14	11	78,57	0	0
Barra do Corda	14	0	0,00	0	0
Bom Jardim	30	19	63,33	0	0
Bom Jesus das Selvas	15	7	46,67	0	0
Carolina	11	6	54,55	1	9,09
Codó	30	16	53,33	3	10,00
Estreito	17	15	88,24	0	0
Grajaú	15	15	100,00	0	0
Itapecuru Mirim	10	3	30,00	0	0
Itinga do Maranhão	31	9	29,03	0	0
Mirador	11	6	54,55	0	0
Montes Altos	18	16	88,89	0	0
Olho d'água das Cunhãs	15	10	66,67	0	0
Parnarama	6	4	66,67	0	0
Paulo Ramos	14	8	57,14	0	0
Pio XII	15	11	73,33	0	0
Riachão	16	13	81,25	0	0
Santa Luzia	31	27	87,10	0	0

São Francisco do Brejão	15	10	66,67	0	0
Timbiras	12	11	91,67	0	0
Vila dos Martírios	21	21	100,00	0	0
Total	460	306	66,52	4	

Apenas o município de Barra do Corda, não apresentou nenhum animal reagente. Nos demais municípios a frequência de animais reagentes variou de 29,03% até 100. Esses resultados diferem dos encontrados por Lovato et al. (1995), onde o mesmo encontrou pelo menos um animal reagente em 54,4% dos rebanhos estudados, Vieira et al. (2003) que encontrou em 97,5% e Barbosa, Brito e Alfaia (2005) que encontrou em 98,5%.

Segundo Lemaire, Pastoret e Thiry (1994), uma vez que há infecção primária, o animal torna-se portador do BHV-1 por toda sua vida, atuando como potencial fonte de infecção aos indivíduos susceptíveis, assegurando assim a manutenção da infecção no plantel. O impacto econômico desta enfermidade é observado principalmente pelo retardo do crescimento de animais jovens, queda na produção leiteira, morte embrionária e fetal, abortamentos principalmente no segundo e terceiro trimestres de gestação (BARR; ANDERSON, 1993), baixa eficiência reprodutiva de matrizes e touros (LEMAIRE; PASTORET; THIRY, 1994), bem como das restrições ao comércio internacional de animais vivos e seus produtos como sêmen, embriões e produtos de biotecnologia.

É importante destacar que a infecção pelo BoHV-1 está difundida nos municípios maranhenses estudados, de acordo com os coeficientes de frequência apresentados em animais, propriedades e municípios. E, ao contrário de infecções que cursam de forma aguda, esta, por ser causada por um vírus predispõem uma infecção latente. Assim, soro positividade para o vírus representa a presença do animal portador e potencial disseminador do vírus no rebanho por toda a vida. Portanto, em suma, o estudo realizado mostrou que o BoHV-1 consiste em mais um problema de caráter sanitário com o qual os produtores ainda convivem.

Em decorrência da latência do BoHV-1 e da elevada frequência de anticorpos verificado no presente estudo, faz-se importante alertar sobre mecanismos para o controle e monitoramento desta infecção. Para prevenir novas infecções, pode-

serealizada uma combinação entre a remoção gradual de animais infectados, realização de quarentena no ingresso de novos bovinos na propriedade, bem como exames sorológicos anuais, buscando assim impedir a reintrodução de animais infectados no rebanho, e o uso de vacinas marcadas que permitam a identificação de animais vacinados e infectados, como sugerido por Quincozes (2007).

6 CONCLUSÃO:

Os resultados encontrados demonstram a importância dessas enfermidades que acometem bovinos do estado, e no Brasil. A elevada prevalência dessas doenças é resultado da dificuldade que os criadores e técnicos têm para exercer um controle sanitário efetivo desses agentes. Nesse contexto, cresce a importância da utilização dos Laboratórios de Diagnóstico para identificar e propor soluções, a médio e longo prazo, de modo a minimizar os prejuízos causados à produtividade nos rebanhos bovinos.

REFERÊNCIAS

- 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, out./dez. 2010.
- ALVES, A. J. S.; GONÇALVES V. S. P.; FIGUEIREDO V. C. F.; LÔBO J. R.; BAHIENSE L.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; DIAS, R. A. **Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Bahia.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária*. São Paulo, v.61, n.1, 2009. Disponível: www.bv.fapesp.br. Acesso em: 22/04/2016.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Fundação Nacional da Saúde. Brasília. **Manual de Leptospírose.** Centro Nacional de Epidemiologia. 1995
- BRASIL, Ministério da Educação. **A agropecuária do Estado do Maranhão.** Brasília, 2001. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/setec/arquivos/pdf/agropec_ma.pdf>. Acessado em 06 de agosto de 2016.
- BRASIL, DEPARTAMENTO DE DEFESA ANIMAL. 2013. Projeto de ampliação da zona livre de febre aftosa com vacinação – 2013. Anexo: Estudo soro epidemiológico, baseado em risco, para avaliar circulação viral na área proposta para ampliação da zona livre de febre aftosa. Relatório final. Brasília, Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Ago 2013.
- 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, jan./mar. 2012.
- BEVILACQUA, M. R. **Brucelose em bovinos.** 2008. Monografia, Instituto Qualittas, Universidade Castelo Branco, Campo Grande, 2008.
- BLOOD, D. C.; RODOSTITS, O. M., HENDERSON J.A. (1983) **Diseases of the respiratory system** in *Veterinary Medicine* 6th edn. PP 317-47. London. Balliere Tindall.
- BLOOD, D. C.; RODOSTITS, O.M. **Clínica veterinária.** 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.
- BROCK KV. **The persistence of bovine viral diarrhoea virus.** *Biologicals*. 2003;31:133-135.
- CABRAL, J. W. **Diagnóstico e prevenção da brucelose bovina no município de Imbuia (SC).** Monografia (Especialização em Sanidade Animal), Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Lages, 2000.
- CHATE, S. C. **Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Mato Grosso do Sul.** 2010. Tese. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

- COELHO, Sandra G.; LIMA, Juliana A. M.; SILPER, Bruna F.; LEÃO, Juliana M., Cuidados com vacas e bezerros ao parto. *InteRural*, p. 38-40, maio, 2012.
- COLODEL, E. M.; NAKAZATO, L.; WEIBLEN, R.; MELLO, R. M.; SILVA, R. R. P.; SOUZA, M. A.; FILHO, J. A. O.; CARON, L. Meningoencefaliteneocrosante em bovinos causada por herpesvírus bovino no Estado de Mato Grosso, Brasil. *Ciência Rural*, v. 32, n. 2, p. 293-298, 2002.
- COSTA, R. D.; COSTA, C. A.; IGREJA, H. P. **RESUMO: Brucelose animal e risco potencial para infectar humanos em um matadouro-frigorífico no extremo sul da Bahia.** Bahia: UESC, 2008.
- DEREGT D. IntroductionandHistory. In: Goyal SM, Ridpath JF. **Bovine Viral DiarrheaVirus: Diagnosis, Management andControl.** 1ª ed. Oxford, UK: BlackwellPublishing, 2005:3-33.
- ELLIS, W. A., Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. **Preventive Veterinary Medicine**, London, v. 2, p. 411-422, 1984.
- ELLIS, W. A., O'BRIEN, J. J. Bovine leptospirosis: infection by the Hebdomadis serogroup and mastitis. **The Veterinary Record**, Londres, v. 6, p. 368-370, 1976.
- FAINE, S. ALER, B.; BOLIN, C. A.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis.** 2 ed. Melbourne: MedSci, p. 272, 1999.
- FAVERO, M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, F. & FERREIRA NETO, J.S. 2001. **Leptospirose bovina: variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil.** Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 68(2):29-35.
- FLETCHER, W. Recent work ou leptospirosis, tssugmushi disease and tropical typhus in the Federated Maloy States. *Trav. Roy Soc. Med. Hug.*, 21ª.m, 267 – 87, 1928. In: **Manual sobre metodos de lalaboratorios para leptospirose. Centro Panamericano de Zoonosis** (Nota Tecnica, 9, 1928).
- FLORES, E. F. **Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV).** *Biológico*, São Paulo. 2003;65(1-2): 3-9.
- 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.* 2005. V.25, n.3 p.125-134.
- FLORES, E. F. **Diagnóstico laboratorial das infecções víricas.** In: FLORES, E. F. (Ed.). *Virologia Veterinária.* Santa Maria: Editoraufsm, 2007. p. 295-326.
- Freitas, E.J.P. de; Lopes, C.E.R.; Filho, J.M.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, maio/jun. 2014.
- GOMES, MARCOS J.P. **Gênero Leptospira spp. Rio Grande do Sul,** 2013. Disponível em <<http://www.ufrgs.br/labacvet>>. Acesso em: 18 ago. 2016.

- GONDIM ACLO. **Diarreia Viral Bovina**. Curso de Pós-Graduação “Latu Sensu” em Produção e Reprodução de Bovinos, Universidade Castelo Branco. Brasília, Brasil, 2006.
- GONÇALVES, V. S. P.; RIBEIRO, L. A.; CALDAS, R. A.; FRANCISCO, P. F. C. DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; FERREIRA NETO, J. S.; FIGUEREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; BORGES, J. R. J. **Situação epidemiológica da brucelose bovina no Distrito Federal**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária, São Paulo, v.61, n.1, 2009. Disponível em: www.scielo.br. Acesso em: 15/06/2015.
- HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p.362-365.
- HOUE, H.; BAKER, J. C.; R. MAES, K.; RUEGG, P. L.; LLOYD, J. W. **Application of antibody titers against bovine viral diarrhoea virus (BVDV) as a measure to detect herds with cattle persistently infected with BVDV**. Journal Veterinary Diagnostic Investigation, v.7, p.327- 332, 1995.
- HOUE, H. **Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections**. Veterinary Microbiology, v.64, p.89-107, 1999.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006**. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. 777 p.
- IBGE. **Censo Agropecuário**, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home>. Acesso em: 8 Mai 2016.
- JOUGLARD, SANDRA DENIZE DORNELES. **Diagnóstico de leptospirose por pcr e caracterização de isolados de *Leptospira* spp. por seqüenciamento do 16s RDNA e análise de VNTR**. 2005. 71f Tese (Pós-Graduação em Biotecnologia Agrícola) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2005.
- KISHIDA, G. V. **Brucelose bovina: revisão literária**. 2008. Monografia (Especialização em Vigilância em Saúde e Defesa Sanitária Animal). Universidade Castelo Branco, Campo Grande, 2008.
- LAGE, A. P.; POESTER, F. P.; PAIXÃO, T. A.; SILVA, T. M. A.; XAVIER, M. N.; MINHARRO, S.; MIRANDA, K. L.; ALVES, C. M.; MOL, J. P. S.; SANTOS, R. L. **Brucelose bovina: uma atualização**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.32, n.3, p. 202-212, jul./set. 2008. Disponível em: www.cbra.org.br. Acesso em: 10/02/2016.
- LEMAIRE, M.; PASTORET, P. P.; TRIRY, E. **Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine**. Annales de Médecine Vétérinaire, Bruxelles, v. 138, p. 167-180, 1994.
- LINDBERG A, BROWNLIE J, GUNN GJ, HOUE H, MOENNIG V, SAATKAMP HW, SANDVIK T, VALLE PS. **The control of bovine viral diarrhoea virus in Europe: today and in the future**. Revscitech Offint Epiz. 2006;25(3):961-979.

- LOVATO, L. T.; WEIBLEIN, R.; TOBIAS, F. L.; MORAES, M. P. **Herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1): inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 25, n. 3, p. 425-430, 1995.
- MARQUES, M. E. O; MAIA JUNIOR, J. F. **Controle e erradicação da brucelose bovina.** Revista Brasileira Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça, v.1, n.10, jan. 2008. Disponível em: www.revista.inf.br. Acesso em: 17/06/2015.
- MESQUITA, B. A. **Desenvolvimento econômico recente no Maranhão:** Uma análise do crescimento do PIB e perspectivas. São Luís: IMESC, 2008. 70 p (Cadernos IMESC, 7).
- Chaves P.N., Bezerra D.V., Borges F.C., Sousa V.E., Santos H.P. & Pereira H.M. **Frequência e fatores associados à infecção pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados nas regiões de Bacabal e Pedreiras, estado do Maranhão.** Ciênc. Anim. Bras., Suplemento 1. Anais VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, Belo Horizonte, MG, p.502-507, 2009. (Resumo)
- CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. **Frequência e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina em bovinos leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão.** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 79, p., 495-502, 2012.
- NASCIMENTO, M. V.; SILVA, R. D.; ARAUJO JUNIOR, P. P.; OLIVEIRA, L. R.; FERREIRA, W.; MOTERANI, L. G.; MARTINS, L. A. **Aspectos epidemiológicos da *Brucella abortus*.** Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça, v.2, n. 4, p.45-60, jan. 2005.
- O.I.E.,2010. Worldorganisation for animal healt.Leptospirosis. Chapter 2.2.4. Disponível em: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00043.htm. Acessado em 21 de maio de 2016.
- Espanha. Organización Internacional de Epizooties. Código Zoonosológico Internacional. p.15. Disponível em: <http://www.oie.int.htm> acesso em: 12/06/2015.
- Espanha. Organización Mundial de laSalud. Comité Mixto FSO/OMS de expertos enbrucelosis. Ginebra: OMS. 2010.p.149.
- OLAFSON P, MACCALLUM AD, FOX FH. **Anapparently new transmissible disease of cattle.** Cornell Vet. 1946;36:205-213.
- OLIVEIRA, E.A.S. 1996. **Caracterização antigênica de amostras de vírus da diarréia vírica bovina com anticorpos monoclonais.** 65 p. Dissertação. (Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre. 1996
- PAULIN, L. M.; FERREIRA NETO, J. S. **Artigo de revisão a experiência brasileira no combate à brucelose bovina.** Arq. Inst. Biol. São Paulo, v.69, n.2, p.105-112, 2002.
- PAULIN, L. M.; FERREIRA-NETO, J. S. **O combate à brucelose bovina: Situação brasileira.** Jaboticabal: Funep, v.16, 154p. 2003.

- PESSEGUEIRO; P.; BARATA, C.; CORREIA; J. **RESUMO Brucelose – uma revisão sistematizada**, Medicina Interna Vol. 10, n. 2, 2008
- POESTER, F.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; GONÇALVES, V. S. P.; LAGE, A. P.; ROXO, E.; MOTA, P. M. P. C.; MÜLLER, E. E.; FERREIRA NETO, J. S. **Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do programa nacional de controle e erradicação de brucelose e tuberculose: introdução**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo, v. 61, supl. 1, p. 1-5, 2009.
- Pasqualotto, W.; Sehnem, S. e Winck, C.A. **Incidência de Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (Ibr), Diarreia Viral Bovina (Bvd) e Leptospirose em Bovinos Leiteiros da Região Oeste de Santa Catarina – Brasil**. Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, Maringá (PR), 2015.
- PELLEGRIN, A. O. et al. **Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal MatoGrossense. Embrapa Pantanal: comunicado técnico**, n. 22. p. 1-9, nov. 1999.
- PIOVESAN, M.; FERNANDES, M. H. V.; CORRÊA, R. A.; PRADO, M. H. J.; CAMARGO, A. D.; RODRIGUES, P. R. C. **Anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1, Vírus Da Diarreia Viral Bovina e Vírus da LeucoseEnzoótica Bovina na região da campanha do Estado do Rio Grande do Sul**. Science and Animal Health, V.1 N.1 JUL/DEZ 2013 P. 38-49.
- PNCEBT. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): Manual técnico**, BRASIL, 2010. 190p.
- PORRO, R.; MESQUITA, B. A.; SANTOS, I. J. P. **Expansão e trajetórias da pecuária na Amazônia: Maranhão, Brasil**. Editora UNB, 2004. 184 p.
- POTGIETER, L.N.D. **Bovine viral diarrheandmucosaldisease**. In: InfectiousDiseasesofLivestock. 2 ed. Oxford University Press Southern África, Cape Town. 2004. v.2. p.946-96.
- QUINCOZES, C.G. **Prevalência e fatores de risco associados às infecções pelos herpesvírus bovino tipo 1 e 5 (BHV-1 e 5) e pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) nos rebanhos dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí**. 2007. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 2007.
- RADOSTITS. O.M; GAY, C.; BLOOD.D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clinica veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.
- RIBEIRO JN, PEREIRA A. **Aspectos da epidemiologia da infecção e persistência do vírus da diarreia viral bovina em explorações de bovinos leiteiros**. RevPortCienc Vet. 2004;99:41-51.
- RIET CORREA F.; SCHILD A.L., MENDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2Ed. São Paulo: Varela. v.1, p.351-362, 2001.

- SANTA ROSA, C.A.; SULZER, C.R.; YANAGUITA, R.M.; SILVA, A.S. 1980. **Leptospirosis in wildlife in Brazil: Isolation of serovars Canicola, Pyrogenes and Grippotyphosa**. Intern. J. Zoonoses 7:40-43.
- SANTOS, R. F.; FRIAS, D. F. R.; SILVA, T. R.1; SILVA, G. C. P.; ASSIS, N. A.; SILVA, L. O. C; SOUZA, V. F.; MATHIAS, L. A. **Caracterização Soroepidemiológica e Molecular da Infecção por *Leptospira Spp.* em gado de corte de elite do estado de Mato Grosso do Sul – Resultados Preliminares**. Consensos Brasileiros em Leptospirose Animal, 2015.
- SÁNCHEZ, G. P.; LEMOS, F. A.; PAIXÃO, M. S.; ALVES-MARTIN, M. F.; GUIRALDI, L. M.; SANTOS, W. J.; LUCHEIS, S. B. **Detecção de Anticorpos Antileptospira Spp. em Touros em Idade Reprodutiva em Rebanhos do Município de Bauru, Estado de São Paulo, Brasil**. Consensos Brasileiros em Leptospirose Animal, 2015.
- SILVA, D. M.; PIRES, B. C.; CUCCATO, L. P.; REIS, T. F. M.; CIUFFA, A. Z.; GOMES, D. O.; REZENDE, L. M.; LIMA, A. M. C. **Aumento da Frequência de Bovinos Sororreagentes para *Leptospira Interrogans* Sorovar *Hebdomadis* na Região de Uberlândia, Estado de Minas Gerais, Brasil**. Consensos Brasileiros em Leptospirose Animal, 2016.
- STRAUB, O. C. BHV-1 Infectious: Relevance and spread in Europe. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.14, n.2, p.175-186, 1991.
- TOLÊDO, K. A. T. **Produção e reprodução de bovinos: brucelose bovina**. Monografia, Curso De Pós-Graduação "Lato Sensu" Em Produção e Reprodução de Bovinos Brucelose Bovina. Universidade Castelo Branco, Brasília, 2006.
- SOUSA, V. E. de ; BEZERRA, D. C. ; CHAVES, N. P. ; SANTOS, H. P. ; PEREIRA, H. M. **Frequência de anticorpos contra os Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) e do Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV1) em fêmeas bovinas leiteiras**. Rev. Bras. Med. Vet., 35(1):21-25, jan/mar 2013.
- VIEIRA, S.; BRITO, W.M.E.D.; SOUZA, W.J.; ALFAIA, B.T.; LINHARES, D.C.L. **Anticorpos para o herpesvírus bovino 1(BHV-1) em bovinos do Estado de Goiás**. Ciência Animal Brasileira, v.4, n.2, p.131-137, 2003
- ZAMBAN, L. T. **Abordagem sistemática da brucelose bovina e sua importância para pecuária brasileira**. 2008. Monografia (Especialização em Vigilância em Saúde e Defesa Sanitária Animal), Universidade Castelo Branco, Campo Grande, 2008.