

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS BOVINO
TIPO 1 (BoHV-1) EM BOVINOS DE CORTE NÃO VACINADOS NA
MICRORREGIÃO DE IMPERATRIZ**

Ermilton Júnio Pereira de Freitas

São Luís - MA
2012

Ermilton Júnio Pereira de Freitas

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS BOVINO
TIPO 1 (BoHV-1) EM BOVINOS DE CORTE NÃO VACINADOS NA
MICRORREGIÃO DE IMPERATRIZ**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência animal.

Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira

São Luís - MA
2012

Freitas, Ermilton Júnio Pereira de.

Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1(BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados na microrregião de Imperatriz / Ermilton Júnio Pereira de Freitas.– São Luís, 2012.

77 f

Mestrado (Dissertação) – Curso de Mestrado em Ciência Animal Universidade Estadual do Maranhão, 2012.

Orientador: Prof. Helder de Moraes Pereira

1.Elisa indireto. 2.Soroneutralização. 3.IBR. 4.Gado de corte. I.Título

CDU: 636.2:616.9(812.1)

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 27/02/2012 pela banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. DSc. Hamilton Pereira Santos
1º Membro

Prof. DSc. Ricardo de Macêdo Chaves
2º Membro

Prof. DSc. Helder de Moraes Pereira
Orientador

Aos meus pais, Ermilto Gomes de Freitas e Maria do Rosário Pereira de Freitas por todo apoio, incentivo, conselhos e por depositar toda confiança em mim, durante essa jornada, e por serem as grandes razões da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tantas bênçãos que tem derramado na minha vida, por ter sido minhas mãos e pés nos momentos de maior dificuldade.

A minha família, representada pelo meu pai, Ermilto Gomes de Freitas, minha mãe, Maria do Rosário Pereira de Freitas e meu irmão, Amauri Pereira de Freitas, por todo carinho, atenção e amor.

A Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), por participar de mais um momento de minha formação, responsável por me transformar no profissional que sou hoje.

Ao meu Orientador Professor DSc. Helder de Moraes Pereira, pelo depósito da confiança, por ter acreditado em mim, pelos conselhos e ensinamentos durante esta etapa de minha vida, os meus sinceros agradecimentos.

Ao Professor DSc. Hamilton Pereira Santos pelo apoio e conselhos dados, durante a realização deste trabalho.

A todos os professores do Curso de Mestrado em Ciência Animal, pela contribuição na minha formação.

A todas as funcionárias que passaram pela coordenação do mestrado, Carol, Laudicéia, que sempre se empenharam em organizar o que precisávamos.

Aos meus amigos e irmãos de coração Iralberth Santos Carvalho e Leandro Macedo Miranda, por todo apoio, e companheirismo durante esse período.

A minha grande amiga e irmã Janaira Silva Sá, conselheira, por sempre ter me dado uma palavra certa, nos momentos em que eu precisava, jamais irei esquecer.

Ao amigo José Manoel de Moura Filho, grande amigo e parceiro de coletas, importantíssimo para a realização desse trabalho, agradeço ainda pelos bons conselhos, momentos de brincadeira, que com toda certeza sempre lembrarei.

A todo o Grupo de Pesquisa e Estudos com Ruminantes Domésticos, em especial aqueles que contribuíram de forma direta na execução deste trabalho, Vanessa Evangelista de Sousa, Carlos Eduardo Rabêlo Lopes, Thamiza Carla Costa, Shirley Christiane de Castro Fonseca, Emerson Antônio Araújo de Oliveira, Wallington Pereira da Cunha, Gabriel Xavier Silva e Rafael Rodrigues Soares.

Aos meus colegas de mestrado, em especial a Verônica Saraiva César e Arannadia Barbosa Silva, por mais uma etapa cumpridos juntos.

A Universidade Federal de Minas Gerais, por ceder seu espaço para cumprimento de parte da pesquisa.

Ao técnico do laboratório de virologia, Eduardo, da Escola de Veterinária da UFMG, por toda paciência e ensinamentos para realização de parte dessa pesquisa.

Aos amigos da UFMG, em especial Ana Patrícia, Auricélio e Érica Costa Azevedo.

Ao motorista “Seu Marion” pela seriedade, honestidade, e pela grande amizade que ficou construída.

A todos os proprietários que nos receberam de portas abertas.

Ao Instituto de Agronegócios do Maranhão - InAgro, pelo apoio prestado a esse trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa para pesquisa.

*“Temos o destino que merecemos.
O nosso destino está de acordo com os nossos méritos.”*

Albert Einstein

RESUMO

FREITAS, E. J. P. **Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados da Microrregião de Imperatriz.** [Frequency of antibodies against bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) in beef cattle not vaccinated in Microregion of the Imperatriz]. 2012. (73 folhas). Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), é responsável por manifestações clínicas como a rinotraqueíte infecciosa bovina, abortamentos, conjuntivite, balanopostite e vulvovaginite pustular infecciosa. Esse vírus tem sido responsável por grandes prejuízos produtivos e reprodutivos em diversos rebanhos do país. Deste modo, o objetivo desse trabalho foi estimar a frequência de anticorpos contra o BoHV-1 em fêmeas bovinas de corte, não vacinadas na Microrregião de Imperatriz, Maranhão; além de identificar a faixa etária mais acometida pelo vírus, bem como realizar um estudo dos fatores associados à infecção do vírus e avaliar a técnica ELISA indireto utilizando a soroneutralização (SN) como padrão de referência. O estudo foi realizado em 48 rebanhos de corte, distribuídos em 12 municípios da Microrregião de Imperatriz. As amostras foram coletadas de fêmeas bovinas estratificadas em três faixas etárias, ≤ 12 meses, entre 12 e 36 meses e ≥ 36 meses de idade. As amostras foram submetidas a dois testes sorológicos, ELISA indireto e SN. Em cada rebanho, foi aplicado um questionário epidemiológico, com o objetivo de obter informações sobre manejo sanitário e reprodutivo, para o estudo de fatores de risco. A frequência de anticorpos contra o BoHV-1 na Microrregião de Imperatriz foi de 63,23%, os municípios de Açailândia e Buritirana, apresentaram as maiores frequências, ambos com 80,44%, a faixa etária mais acometida, na Microrregião, foi a dos animais com idade ≥ 36 meses (69,65%). Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que a frequência de anticorpos contra o BoHV-1 é alta; entre as faixas etárias mais acometidas foram a dos animais com idade ≥ 36 meses; foram considerados fatores de risco para a transmissão do vírus, retorno ao cio, reposição de animais oriundos de outros estados/região e a criação de caprinos/ovinos associados com bovinos; a técnica ELISA indireta apresentou concordância moderada quando comparada a técnica de SN, que é a técnica padrão ouro de diagnóstico para BoHV-1.

Palavras - chave: ELISA indireto, soroneutralização, IBR, gado de corte.

ABSTRACT

FREITAS, E. J. P. **Frequency of antibodies against bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) in beef cattle not vaccinated in the Microregion of the Imperatriz.** [Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados da na Microrregião de Imperatriz]. 2012. (73 folhas). Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2012.

Bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1), is responsible for clinical manifestations such as infectious bovine rhinotracheitis, abortion, conjunctivitis, infectious pustular vulvovaginitis and balanoposthitis. This virus has been responsible for major losses in different productive and reproductive herds in the country. Thus, the objective of this study was to estimate the frequency of antibodies against BoHV-1 in beef heifers not vaccinated in Microregion of Imperatriz, Maranhao, and identify the age group most affected by the virus, as well as a study of factors associated with virus infection and to evaluate the indirect ELISA using the serum neutralization (SN) as a reference standard. The study was conducted in 48 herds, cutting, distributed in 12 counties of Microregion of Imperatriz. The samples were collected from female cattle stratified into three age groups, ≤ 12 months, between 12 and 36 months and ≥ 36 months of age. The samples were subjected to two serological tests, ELISA and SN. In each herd, an epidemiological questionnaire was applied in order to obtain information on management and reproductive sanitary, for the study of risk factors. The frequency of antibodies against BoHV-1 in Microregion of Imperatriz was 63.23%, and the municipalities of Açailândia Buritirana showed the highest frequencies, both with 80.44%, the most affected age group, the Microregion, was animals aged ≥ 36 months (69.65%). Based on the results we can conclude that the frequency of antibodies against BoHV-1 is high, between the age groups most affected were the animals aged ≥ 36 months were considered risk factors for virus transmission, return to estrus, recovery of animals from other states / region and the creation of goat / sheep associated with bovine, the indirect ELISA technique showed moderate concordance when compared to SN technique, which is the gold standard technique for diagnosis of BoHV-1.

Key - words: Indirect ELISA, neutralization, IBR, beef cattle.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVOS.....	21
2.1 Geral.....	21
2.2 Específicos	21
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	23
3.1 Etiologia.....	23
3.2 Epidemiologia	23
3.3 Latência	24
3.4 Sinais clínicos	25
3.5 Situação do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) no mundo	26
3.6 Situação do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) no Brasil	26
3.7 Diagnóstico	27
3.8 Comparação do teste, ELISA indireto e de soroneutralização	28
3.9 Profilaxia.....	29
3.10 Prejuízos causados pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1).....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Área de estudo	31
4.2 Rebanhos	31
4.3 Coleta das amostras.....	33
4.4 Análise das amostras	34
4.5 Análise univariada da associação dos fatores de risco associados à infecção do BoHV-1	36
4.6 Comparação das técnicas ELISA indireto e de soroneutralização	36
4.7 Planejamento estatístico.....	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6 CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS	62
APÊNDICES	73
ANEXO	77

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Distribuição dos rebanhos e amostras, para detecção do herpesvírus tipo 1 (BoHV-1), de acordo com os municípios da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012 32
- Tabela 2.** Distribuição das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados nos municípios que compõem a Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012..... 39
- Tabela 3.** Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012..... 42
- Tabela 4.** Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Cidelândia, Maranhão, 2012..... 43
- Tabela 5.** Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Açailândia, Maranhão, 2012..... 44
- Tabela 6.** Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Buritirana, Maranhão, 2012..... 44

Tabela 7. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Amarante, Maranhão, 2012.....	45
Tabela 8. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Lageado Novo, Maranhão, 2012.....	46
Tabela 9. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de João Lisboa, Maranhão, 2012.....	47
Tabela 10. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Imperatriz, Maranhão, 2012.....	47
Tabela 11. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Senador La Rocque, Maranhão, 2012.....	48
Tabela 12. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Ribamar Fiquene, Maranhão, 2012.....	49

Tabela 13. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Governador Edison Lobão, Maranhão, 2012.....	49
Tabela 14. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Itinga, Maranhão, 2012..	50
Tabela 15. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no município de Montes Altos, Maranhão, 2012.....	51
Tabela 16. Distribuição por Rebanhos das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012.....	52
Tabela 17. Distribuição das variáveis para análise da associação dos fatores de risco com a infecção do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012	53
Tabela 18. Comparação das técnicas de ELISA Indireto e Soroneutralização, em amostras de soro bovino, da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012.....	55
Tabela 19. Comparação das técnicas de ELISA Indireto e Soroneutralização, em amostras de soro bovino com idade \leq 12 meses, da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012	57

Tabela 20.	Comparação das técnicas de ELISA Indireto e Soroneutralização, em amostras de soro bovino com idade entre 12 e 36 meses, da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012	57
Tabela 21.	Comparação das técnicas de ELISA Indireto e Soroneutralização, em amostras de soro bovino com idade \geq 36 meses, da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012	58

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Imagem da localização geográfica da Microrregião de Imperatriz, Maranhão..... 31
- FIGURA 2.** Fotografias das etapas da técnica ELISA indireto. 1. Kit comercial utilizado; 2. Organização do material para realização do teste ELISA indireto; 3. Distribuição das amostras em placa; 4. Procedimento de lavagem da placa; 5. Adição do último reagente, solução de bloqueio; 6. Leitor ELISA..... 35
- FIGURA 3.** Fotografias das etapas do teste de soroneutralização. 1. Inativação das amostras a 56° por 30 minutos; 2. Organização do material para realização do teste de SN; 3. Distribuição do meio contendo vírus; 4. Microscópio de campo invertido 36

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

IBR - Rinotraqueíte Infecciosa Bovina

BoHV-1 - Herpesvírus Bovino Tipo 1

IPV - Vulvovaginite Pustular Infecciosa

IPB – Balanopostite Pustular Infecciosa

EIE - Ensaio Imunoenzimático

ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay

SN - Soroneutralização

MEN - Meio Mínimo Essencial Eagle

MDBK - Madin Darly Bovine Kidney

IA - Inseminação Artificial

MN – Monta Natural

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta um efetivo de 209.541.109 cabeças de bovinos, onde 13,73% (28.762.119) está localizada na região Nordeste do Brasil. Nessa região encontra-se o Estado do Maranhão, o qual ocupa uma colação de destaque no cenário da pecuária nordestina, já que a bovinocultura é a principal atividade pecuária, em especial a exploração de corte, com o segundo maior efetivo desta espécie na região, com 24,27% (6.979.844), ficando atrás apenas do estado da Bahia (IBGE, 2010).

De acordo com Martins et al., (2000), o estado do Maranhão possui condições climáticas satisfatórias à produção de bovinos de corte. A Microrregião de Imperatriz está localizada na mesorregião oeste maranhense e possui um efetivo equivalente a 1.576.938 cabeças, sendo, portanto entre todas as microrregiões, a que possui o maior efetivo de bovinos (IBGE, 2010). É caracterizada por apresentar propriedades com áreas que variam de 500 a 5000 hectares (ha), com animais criados em sua maioria em sistema extensivo tecnificado, onde a raça Nelore e seus mestiços predominam.

As bacias hidrográficas presentes nessa microrregião são as do Tocantins, Gurupi, Pindaré e Mearim; sua geomorfologia é formada principalmente por Chapadões, Chapadas e “Custas”; apresenta uma vegetação formada principalmente por pastagens, florestas abertas, vegetação degradada com babaçu e cerrados; com temperatura média anual entre 25°C e 26°C, umidade relativa do ar variando de 73% a 79%; precipitação pluviométrica entre 1200 e 1600 mm; possui um clima com variações do úmido, sub-úmido e sub-úmido seco (GEPLAN, 2002).

Os bovinos são susceptíveis a várias enfermidades, e apesar da Microrregião de Imperatriz constituir uma pecuária desenvolvida e tecnificada, problemas sanitários ainda ocorrem, ocasionados principalmente por falhas na informação e falta de conhecimento sobre alguns agentes infecciosos, como por exemplo, o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), que é o vírus responsável

por ocasionar a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), bem como a Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IPV).

Este vírus pertence à família *Herpesviridae*, subfamília *Alfaherpesvirinae* (PORTERFIELD, 1989; ROIZMAN et al., 1995; FAUQUET et al., 2005) e gênero *Varicellovirus* (FAUQUET et al., 2005). A espécie Bovina é a principal fonte de infecção do BoHV-1, sendo portanto as principais vias de eliminação do vírus a secreção respiratória, ocular, genital (muco prepucial e muco vaginal), e sêmen de animais infectados (LEMAIRE et al., 1994; ENGELS et al., 1996; CALDERON et al., 2003). O diagnóstico laboratorial da infecção pelo BoHV-1 pode ser etiológico ou sorológico. As técnicas sorológicas mais utilizadas na detecção de anticorpos específicos incluem a Soroneutralização (SN) e Ensaio Imunoenzimático (EIE) (TAKIUCHI et al., 2001).

Considerando a importância que a enfermidade possui dentro dos rebanhos bovinos, principalmente aqueles voltados à exploração de corte, juntamente aos poucos dados epidemiológicos da ocorrência de BoHV-1 nos rebanhos do Maranhão, em especial a Microrregião de Imperatriz, aliado a prática deficiente e/ou inexistente de sanidade nas propriedades e a ausência de programas de assistência técnica especializada é que se propôs realizar este trabalho.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Estimar a frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas de corte não vacinadas na Microrregião de Imperatriz, Maranhão.

2.2 Específicos

- Conhecer a ocorrência do BoHV-1, através de estudo sorológico em uma amostra da população de fêmeas bovinas de aptidão corte na Microrregião de Imperatriz, Maranhão;
- Identificar a faixa etária de fêmeas bovinas em que mais ocorre o BoHV-1;
- Realizar um estudo dos fatores de risco associados à infecção do BoHV-1;
- Avaliar a técnica ELISA indireto para a detecção de anticorpos para o BoHV-1 em soros bovinos, utilizando a técnica de soroneutralização (SN) como padrão de referência.

REVISÃO DE LITERATURA

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Etiologia

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1), conhecido como vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina e também da Vulvovaginite Pustular Infecciosa, é um membro da família *Herpesviridae*, subfamília *Alfaherpesvirinae* (PORTERFIELD, 1989; ROIZMAN et al., 1995; FAUQUET et al., 2005) e gênero *Varicellovirus* (FAUQUET et al., 2005). O BoHV-1 apresenta uma partícula viral entre 70 a 110nm de diâmetro e é constituída por um capsídeo icosaédrico, envelope glicoproteico e genoma DNA linear de fita dupla (FENNER, 1987).

Os isolados de BoHV-1 foram agrupados em dois subtipos, denominados BoHV-1.1 e BoHV-1.2, de acordo com os perfis de restrição enzimática do genoma do vírus. O BoHV-1.2 foi subdividido em BoHV-1.2a e BoHV-1.2b (METZLER et al., 1986). O subtipo 1 (BoHV-1.1) é relacionado ao grupo que causa doença respiratória clássica; o subtipo 2a (BoHV-1.2a) abrange as cepas associadas com IBR/IPV e aborto, enquanto o subtipo 2b (BoHV-1.2b) causa vulvovaginite ou balanopostite, mas geralmente não está associado com abortamento (MILLER, 1991).

3.2 Epidemiologia

A espécie bovina é a principal fonte de infecção do BoHV-1, sendo portanto as principais vias de eliminação do vírus a secreção respiratória, ocular, genital (muco prepucial e muco vaginal), e sêmen de animais infectados. O vírus tem como principal forma de transmissão, a via horizontal que ocorre pelo contato direto entre os animais e também pela cópula, secreções respiratórias, oculares e genitais, a partir de animais infectados; por outro lado o embrião e o feto podem infectar-se pela via vertical (transplacentária). Outra forma de transmissão ocorre de forma indireta e

ocorre principalmente por aerossóis, fômites, ingestão de água e alimentos contaminados, tendo a inseminação artificial (IA) um importante papel na disseminação desta enfermidade em rebanhos que nunca tiveram contato com o vírus (LEMAIRE et al., 1994; ENGELS et al., 1996; CALDERON et al., 2003).

O sêmen geralmente é contaminado durante a ejaculação, por contato com o vírus presente na mucosa prepucial. Vários estudos demonstraram que muitos patógenos presentes no sêmen podem manter-se viáveis frente ao processo de congelamento, tornando a prática da IA, uma possível biotecnologia veiculadora de doenças no rebanho (EAGLESOME et al., 1992; CALDERON et al., 2003). A IA de vacas com sêmen contaminado pelo BoHV-1 reduz a taxa de concepção e pode causar infertilidade, endometrite, aborto e o desenvolvimento anormal do feto (ELAZHARY et al., 1980; WYLER et al., 1989). O manejo adotado pode ser fundamental para a transmissão do vírus, como por exemplo, aglomerações e a reunião de animais de vários lugares em eventos como leilões, exposições e torneios, além também da criação sem critério de todas as faixas etárias (MARS et al., 1999).

3.3 Latência

Os herpesvírus induzem latência, caracterizada pela presença do genoma viral nos gânglios nervosos, principalmente no trigêmeo e sacral, sem produção de progênie viral (ENGELS et al., 1996). Uma vez tendo sofrido infecção primária, o animal será portador do BoHV-1 por toda a sua vida, potencialmente atuando como fonte de infecção para indivíduos susceptíveis, assegurando a permanência da infecção no plantel (LEMAIRE et al., 1994).

O animal portador latente pode reativar o vírus, se for exposto a fatores predisponentes e estressantes, que diminuem a resistência imunológica. Este mecanismo justifica os períodos de reexcreção viral, acompanhados ou não de sinais clínicos, de forma que os animais uma vez infectados pelo BoHV-1 serão portadores do vírus e potenciais disseminadores da doença no rebanho por toda a vida produtiva (COLODEL et al., 2002).

3.4 Sinais Clínicos

A infecção causada pelo BoHV-1 atinge principalmente os tratos respiratório e genital dos bovinos e pode ser subdividida em duas formas clínicas denominadas Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e Vulvovaginite / Balanopostite Pustular Infecciosa (IPV/IPB). Este vírus também é responsável pelo desencadeamento de outros sinais clínicos como: conjutivite e abortamentos (GIBBS et al., 1977). Este vírus é de crescimento rápido *in vitro* e causa lise das células infectadas (FENNER et al., 1993).

O vírus é também responsável pelo nascimento de animais debilitados e quadros de enterite, causando a morte de neonatos (LEMAIRE et al., 1994), além de mortalidade embrionária precoce e/ou tardia, com repetições de cios a intervalos regulares e/ou irregulares; natimortos; mortalidade neonatal e infertilidade (STRAUB, 1991).

A forma respiratória caracteriza-se por aumento da temperatura corporal, hiperemia das mucosas, rinite, dispnéia, corrimento nasal seroso, lesões erosivas na mucosa nasal e, ocasionalmente, pneumonia. A taxa de mortalidade é baixa, mas podem ocorrer complicações em decorrência de infecções bacterianas secundárias ou de outras infecções virais superpostas (WYLER et al., 1989).

Em fêmeas, a forma genital manifesta-se clinicamente pelo aparecimento de pequenas vesículas de 1 a 2 mm de diâmetro que evoluem para pústulas e erosões localizadas na vulva e vagina. O epitélio vulvar apresenta-se edemaciado, hiperêmico e com secreção que pode tornar-se mucopurulenta devido à contaminação bacteriana secundária. Em touros, lesões similares são encontradas no prepúcio e pênis (GIBBS et al., 1977; WYLER et al., 1989).

3.5 Situação do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) no mundo

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) encontra-se amplamente disseminado em rebanhos bovinos de corte e leite, de praticamente todo o mundo, determinando grandes prejuízos econômicos aos países que exploram a bovinocultura como atividade econômica (GIBBS et al., 1977; KIRKBRIDE, 1985; VAN OIRSCHOT et al., 1998).

O isolamento do BoHV-1 foi realizado pela primeira vez em 1950, nos Estados Unidos (EUA), mas somente na década de 60, os aspectos respiratórios graves da infecção por esse agente tornaram-se proeminentes naquele país. Já na Europa, a forma de IBR mais grave foi descrita em princípios de 1972 (EDWARDS, 1988; ACKERMANN et al., 1990a).

Na maioria dos países europeus, a situação é endêmica e as taxas de infecção descritas são muito variáveis. Na Grã-Bretanha o percentual de rebanhos reagentes alcança 40 a 50%, e na Bélgica 62%. Por outro lado, Dinamarca e Suíça, devido à baixa frequência de animais reagentes e a implementação de um rígido programa de erradicação, com o sacrifício dos animais portadores, conseguiram obter a condição de países livres do BoHV-1 (ACKERMANN et al., 1990a). Eiras et al., (2009), em trabalho realizado na região Noroeste da Espanha, na Galícia, avaliaram 403 amostras de soro bovino pela técnica ELISA indireto, obtiveram uma frequência de 26,6% de amostras reagentes.

3.6 Situação do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) no Brasil

O vírus está disseminado por todas as regiões do Brasil, atingindo elevados índices de infecção nos rebanhos (PITUCO et al., 1999; RICHTZENHAIN et al., 1999), grande parte das propriedades apresentam animais sorologicamente reagentes para o BoHV-1 (RAVAZZOLO et al., 1989; LOVATO et al., 1995; VIDOR et al., 1995), o que salienta a importância da

adoção de medidas com vistas a identificar estes animais, os quais são potenciais disseminadores da infecção (FENNER et al., 1996).

O BoHV-1 foi isolado pela primeira vez no Brasil por Alice (1978), no Estado da Bahia, a partir de pústulas de vaginas de vacas. No mesmo ano, Muller et al., (1978), no Estado de São Paulo, isolaram e identificaram o BoHV-1 a partir do rim de um feto bovino colhido em matadouro. O primeiro levantamento sorológico no Brasil foi realizado no estado da Bahia, realizado por Galvão et al., (1962/1963), onde foram submetidos ao teste de soroneutralização (SN) e desses 34,5% foram reagentes.

No estado do Rio Grande do Sul a prevalência de anticorpos para o BoHV-1 foi de 18,8% (LOVATO et al., 1995) e 31,9% (VIDOR et al., 1995). Médici et al., (2000a), estudaram a prevalência de anticorpos neutralizantes contra o BoHV-1, em rebanhos com distúrbios reprodutivos, observaram uma frequência de 61,5% de sororeagentes. No estado do Goiás a soroprevalência para o BoHV-1, realizada através da técnica de ELISA, foi de 83% (VIEIRA et al., 2003), e pela técnica de SN, 51,9% (BARBOSA et al., 2005) e 84,5% (AFFONSO et al., 2010), no Paraná Dias et al., (2008) pesquisaram através do teste ELISA indireto, e encontraram uma prevalência de 64,41% de animais reagentes. Em trabalho sorológico realizado no estado do Maranhão em rebanho leiteiro, Bezerra (2009); observou que das 920 amostras analisadas, para pesquisa de anticorpos contra o BoHV-1 com o uso da técnica Elisa Indireto 71,30% foram reagentes, 17,40% foram considerados suspeitos e 11,30% não reagentes.

3.7 Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo BoHV-1 pode ser etiológico ou sorológico. As técnicas sorológicas mais utilizadas na detecção de anticorpos específicos incluem a SN e o ELISA. Para que se evite o risco da introdução de animais infectados em rebanhos ou em centrais de inseminação, livres do BoHV-1, os testes sorológicos devem ser sensíveis o suficiente para

evitar resultados falso-negativos, principalmente quando os títulos de anticorpos específicos para o vírus são baixos. Entretanto, as técnicas de SN e ELISA podem ser inviabilizadas para o diagnóstico em rebanhos que utilizam a vacinação contra o BoHV-1 (TAKIUCHI et al., 2001).

A SN por apresentar grande especificidade e boa sensibilidade é considerada a técnica de referência para o diagnóstico sorológico das infecções por BoHV-1. Todavia, ela apresenta alguns inconvenientes na sua realização, pois depende de cultivo celular (WYLER et al., 1990); devido a sua pouca praticidade, alternativas tem sido buscadas, e testes imunoenzimáticos tem sido empregados no diagnóstico sorológico de infecções pelo BoHV-1 (EDWARDS et al., 1987; OSÓRIO et al., 1989; SHEN et al., 1991; KRAMPS et al., 1994; GRAHAM et al., 1998; VAN OIRSCHOT et al., 1998).

Para a realização do diagnóstico definitivo da infecção pode-se realizar o isolamento viral ou a detecção de antígenos e/ou genoma de BoHV-1 em material biológico. Contudo, essas metodologias apresentam fatores limitantes, tais como coleta, conservação e transporte da amostra e mesmo a disponibilidade de laboratórios de diagnóstico que realizem essas técnicas rotineiramente (CANANT, 1984). Como medida alternativa, tem-se utilizado testes sorológicos (PRITCHARD, 1985).

3.8 Comparações dos testes ELISA indireto e de soroneutralização

De acordo com Médici et al., (2000b), em estudo onde foi realizada a avaliação do desempenho de um sistema de ELISA comercial, na detecção de anticorpos anti-BoHV-1, e a comparação dos resultados obtidos com a técnica de SN, eles observaram que o teste imunoenzimático apresentou-se como uma alternativa viável para diagnóstico sorológico e levantamentos epidemiológicos do BoHV-1, além do monitoramento de plantéis livres da infecção e análises do perfil sorológico pós-vacinal (BoHV-1) em rebanhos bovinos.

Teixeira et al., (2001), fizeram um estudo comparativo entre a técnica de SN com um ELISA de bloqueio monoclonal desenvolvido e padronizado por eles, e encontraram uma concordância alta entre os dois testes; Cortez et al., (2001), realizaram comparação entre um ELISA, utilizando um kit comercial, com a técnica de SN, para avaliação em soro sanguíneo de búfalos e encontrou grande discordância entre os dois testes; Oliveira et al., (2011), compararam as duas técnicas em amostras de sangue total e soro sanguíneo coletados em papel filtro e encontraram uma boa concordância entre os testes, nos dois tipos de materiais analisados, com uma especificidade um pouco maior para o sangue total.

3.9 Profilaxia

Países europeus com baixa prevalência do BoHV-1 nunca permitiram o uso de vacinas e erradicaram a enfermidade utilizando sorodiagnóstico e eliminação dos animais reagentes (ACKERMANN et al., 1990a; ACKERMANN et al., 1990b; STRAUB, 1991). Quando a prevalência do BoHV-1 é elevada, a erradicação torna-se onerosa pelo custo dos descartes, sendo mais viável neste caso a utilização de vacina com marcador genético para reduzir a prevalência da infecção, sem, no entanto, prejudicar o monitoramento para avaliação do resultado, pois esta permite a diferenciação entre animais infectados e vacinados utilizando um teste ELISA (VAN OIRSCHOT et al., 1996), porém a comercialização desta vacina não está autorizada no Brasil e no momento dispõe-se de vacinas convencionais para o controle da doença.

3.10 Prejuízos causados pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1)

A introdução do BoHV-1 em rebanhos bovinos determina prejuízos econômicos significativos que são representados por alterações em todos os índices indicativos de eficiência reprodutiva do rebanho. São particularmente comprometidos: I) intervalo entre partos; II) número de doses de sêmen e/ou

número de serviços por prenhez positiva; III) taxa de concepção; IV) taxa de mortalidade embrionária precoce e/ou tardia; V) percentagem de abortos, natimortos e mortalidade neonatal; VI) peso ao nascer; VII) frequência de endometrites; entre outros (WYLER et al., 1989).

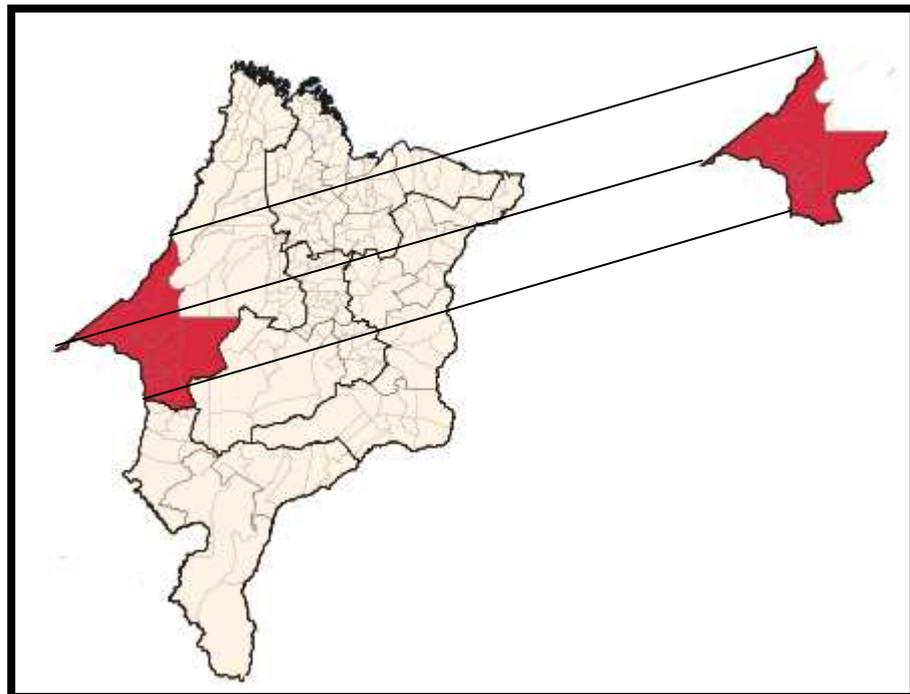
Nesse contexto, devem ser incluídos ainda uma análise dos prejuízos econômicos decorrentes da infecção em um rebanho soronegativo, os custos referentes à redução na produção de leite; perda de peso; tratamento dos animais com sinais clínicos, em especial os que comprometem o sistema respiratório; eventuais óbitos; aumento das despesas com mão de obra, assistência técnica, diagnóstico e profilaxia (WYLER et al., 1989); além das restrições ao comércio internacional de animais vivos e seus produtos como sêmen, embriões e produtos de biotecnologia, previstas no Código Internacional de Saúde Animal (OIE, 2001).

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

A Microrregião de Imperatriz está localizada a noroeste do Estado do Maranhão (FIGURA 1), e é composta pelos Municípios de Açailândia, Amarante, Buritirana, Davinópolis, Cidelândia, Governador Edison Lobão, Imperatriz, Itinga do Maranhão, João Lisboa, Lageado Novo, Montes Altos, Ribamar Fiquene, São Francisco do Brejão, São Pedro da Água Branca, Senador La Rocque e Vila Nova dos Martírios.



Fonte: http://pt.wikipedia.org/wiki/Microrregiao_de_Imperatriz (modificada)

FIGURA 1. Imagem da localização geográfica da Microrregião de Imperatriz, Maranhão.

4.2 Rebanhos

A escolha dos rebanhos foi realizada de forma aleatória, através de sorteio, e estes apresentaram pré-requisitos como, número igual ou superior a 200 fêmeas bovinas por rebanho e sem histórico de vacinação anterior para IBR. Deste modo, somente 12 (doze) municípios atenderam as exigências.

Para determinar o tamanho da amostra coletada utilizou-se a seguinte expressão proposta por Triola (1999); modificada por Callegari & Jacques (2003):

$$n_0 = \frac{1}{(E_0)^2} \quad e \quad n = \frac{N \times n_0}{N + n_0}$$

Onde: n_0 = 1° aproximação do tamanho da amostra;
 E_0 = erro amostral tolerável (3%);
 n = tamanho da amostra;
 N = tamanho da população.

Assim: $n = \frac{128308 \times 1111,11}{128308 + 1111,11} \rightarrow n = 1102$ amostras, foi realizado um ajuste estatístico e o número amostral passou para 1104.

A partir do cálculo, obteve-se 1102 amostras, o qual foi ajustado para 1104, a fim de que, a distribuição do número de amostras fossem homogênea entre os 12 municípios selecionados. Deste modo foram trabalhadas 4 rebanhos por município, sendo selecionados aleatoriamente 23 fêmeas bovinas estratificadas por faixa etária. O percentual de animais dentro de cada faixa etária foi definido de acordo com dados obtidos em pesquisas anteriores, que indicaram que a prevalência da enfermidade é maior em animais mais velhos; como em estudos realizados por Melo et al., (2002); Vieira et al., (2003) e Barbosa et al., (2005). Com base nesta característica, definiu-se 20% (n=240) para animais com idade \leq 12 meses, 20% (n=240) para animais entre 12 e 36 meses e 60% (n=624) para animais com idade igual ou acima de 36 meses.

A distribuição dos rebanhos e o número total de amostras encontram-se listado na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos rebanhos e amostras, para detecção do herpesvírus tipo 1 (BoHV-1), de acordo com os municípios da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

Municípios	Nº de Rebanhos	Nº de amostras por Rebanhos	Total de Amostras por Município
Açailândia	4	23	92
Amarante	4	23	92
Buritirana	4	23	92
Cidelândia	4	23	92
Gov. Edison Lobão	4	23	92
Imperatriz	4	23	92
Itinga do Maranhão	4	23	92
João Lisboa	4	23	92
Lageado Novo	4	23	92
Montes Altos	4	23	92
Ribamar Fiquene	4	23	92
Senador La Rocque	4	23	92
TOTAL	48	1104	1104

4.3 Coleta das amostras

Para a realização das coletas das amostras de sangue de fêmeas bovinas de corte, os animais foram contidos fisicamente com o auxílio de troncos de contenção ou troncos de vacinação; em seguida utilizou-se álcool a 70%, a fim de promover a desinfecção da área a ser puncionada. Posteriormente, as amostras de sangue foram coletadas através da venopunção jugular ou coccígea média, com auxílio de agulhas estéreis, adaptadores e tubos a vácuo de 10 mL.

Após a coleta, as amostras foram mantidas à temperatura ambiente em posição inclinada, até a completa retração do coágulo. Estas foram acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável e encaminhadas ao Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA.

No laboratório o sangue foi centrifugado a 2000 rotações por minuto (rpm), durante 5 minutos. Em seguida as alíquotas de soro foram transferidas para tubos do tipo Eppendorf® em duplicatas e estocadas a – 20° C, até a realização dos testes sorológicos.

Esse trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal - CEEA do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, conforme protocolo nº 010/2010, para a execução da pesquisa.

4.4 Análise das amostras

O processamento das amostras para o teste ELISA indireto, foi realizado no laboratório de doenças infecciosas e leitura no laboratório de imunodiagnóstico, do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão; o processamento e leitura das amostras para o teste de soroneutralização (SN) foi realizado no laboratório de virologia do departamento da Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

A identificação de bovinos portadores de anticorpos anti-BoHV-1 foi realizada mediante a técnica de ELISA-indireta, utilizando Kit comercial (Bovine Rhinotracheitis virus antibody test kit, HerdChek®, IDEXX Laboratories, EUA). Foi realizado o preparo das amostras que englobou as adições de 50µl da solução de lavagem, do controle positivo, do controle negativo, das amostras de soro em cada cavidade. Após essa etapa ocorreu o período de incubação de 2 horas a 37°C e em seguida a lavagem da placa com 300µl solução de lavagem. Foi adicionado o conjugado e incubado durante uma hora na temperatura de 18 a 25°C, para posterior lavagem da placa. Foi adicionado 100µl do substrato e incubado por 10 minutos em temperatura de 18 a 25°C no escuro, após isso foi adicionado 100µl da solução de bloqueio, e encaminhou à placa para leitura em leitor de ELISA, utilizando o comprimento de onda de 450nm.

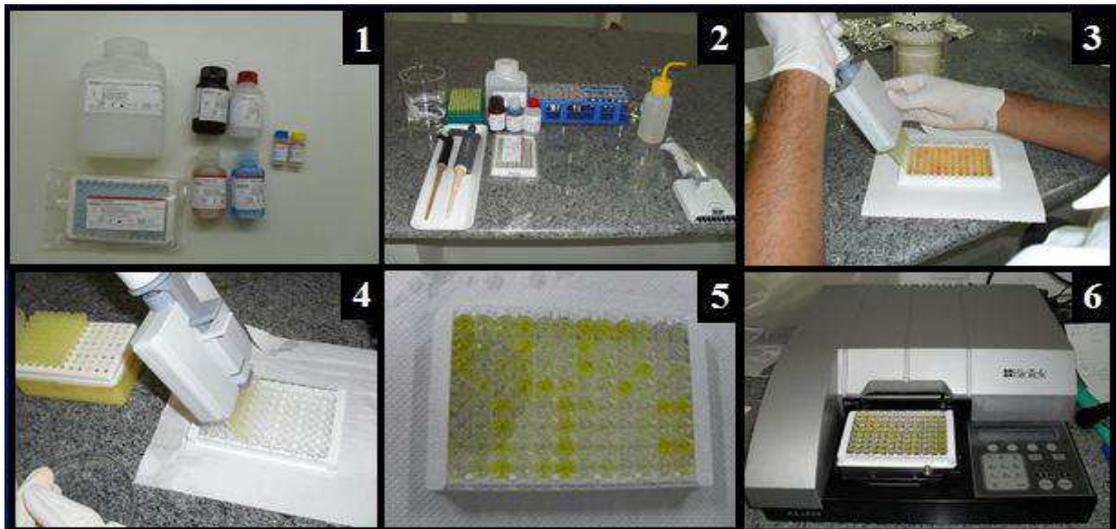


FIGURA 2. Fotografias das etapas da técnica de ELISA indireto. 1. Kit comercial utilizado; 2. Organização do material para realização do teste ELISA indireto; 3. Distribuição das amostras em placa; 4. Procedimento de lavagem da placa; 5. Adição do último reagente, solução de bloqueio; 6. Leitor ELISA.

Foi comparada o sistema do ELISA indireto para detecção de anticorpos contra o BoHV-1 utilizando a microtécnica de soroneutralização (SN) descrita por Britsch, (1978), como técnica de referência. Os soros foram inativados a 56°C por 30 minutos em banho maria, examinados em duplicatas pelo teste de SN, em microplacas de 96 cavidades, foram diluídos a 1:2 em meio essencial mínimo (MEM) e homogeneizados até diluição final de 1:256.

A amostra viral utilizada foi a cepa de referência IBR colorado 1 (ATCC, VR-864) com títulos de $10^{3,64}$ em 50µl. O vírus foi adicionado ao soro e incubado durante uma hora em estufa com tensão de CO₂ controlada a 5%, em temperatura de 37°C. Após esse período foram utilizadas 50µl de suspensão de células de rim de bovino (MDBK), contendo 3×10^5 células/ml, em seguida incubadas durante 72 horas em estufas com tensão de CO₂ controlada a 5%, em temperatura de 37°C. Foram consideradas positivas as amostras que neutralizaram 50% das cavidades calculadas de acordo com o método de Reed & Muench (1938) a leitura foi realizada em microscópio de campo invertido. Foram consideradas amostras de soro reagentes para presença de anticorpos aquelas que neutralizaram o vírus a partir da diluição 1:4.

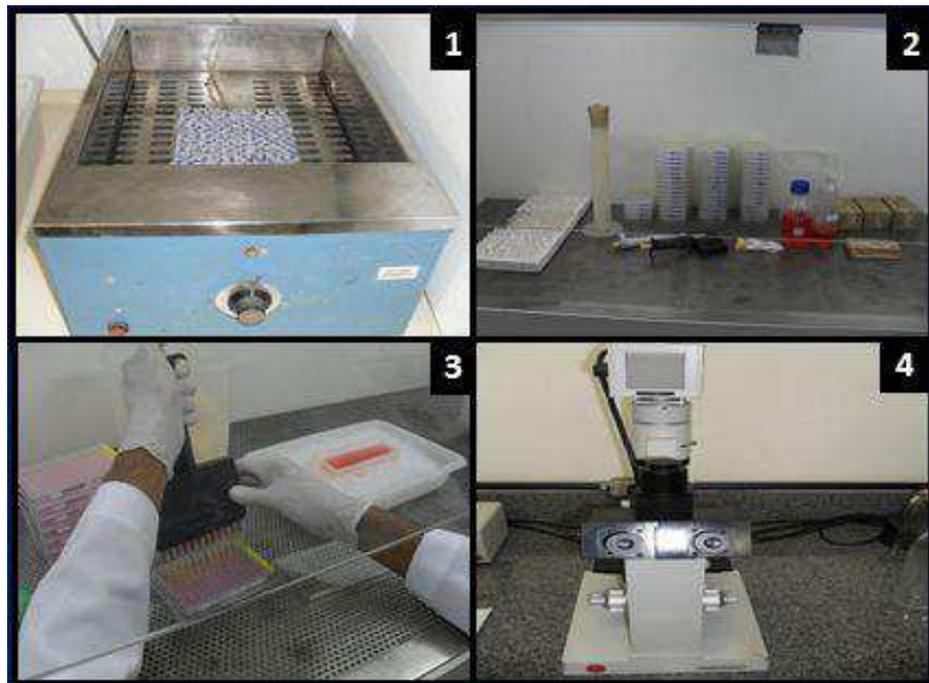


FIGURA 3. Fotografias das etapas do teste de soroneutralização. 1. Inativação das amostras a 56° por 30 minutos; 2. Organização do material para realização do teste de SN; 3. Distribuição do meio contendo vírus; 4. Microscópio de

4.5 Análise univariada da associação dos fatores de risco associados à infecção do BoHV-1

Foi aplicado um questionário epidemiológico a fim de determinar fatores de risco associados à infecção para o vírus como: ocorrência de conjuntivite, abortamento, retorno ao cio, nascimento de bezerro fraco, destino dado ao feto abortado, presença do médico veterinário, o tipo de manejo reprodutivo adotado na propriedade, uso do piquete maternidade para vacas prenhes, reposição de animais e criação associada de caprinos e/ou ovinos com bovinos.

4.6 Comparação das técnicas ELISA indireto e de soroneutralização

A concordância entre as duas técnicas foi realizada através do índice *Kappa* (GART; BUCK), o qual determinou sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, negativo e concordância entre os testes.

4.7 Planejamento estatístico

A presente pesquisa trabalhou com uma variável quantitativa, cujas amostras foram calculadas com base na fórmula descrita por Triola (1999); modificada por Callegari & Jacques (2003). Essas amostras foram classificadas como aleatória por conglomerado e que ao final foi obtida a frequência do vírus segundo os rebanhos, estratos, municípios e na Microrregião como um todo. Os dados obtidos foram analisados através dos programas MINITAB® 16/2010, onde foram submetidos ao teste de Qui-quadrado com um intervalo de confiança de 95% para comparação das frequências em cada município e, por conseguinte na Microrregião; GraphPad InStat versão 3.05/2000 para medir a associação entre variáveis, foi aplicado o teste Exato de Fisher. Para a estimativa do risco, foi utilizado o Odds Ratio (OR), o nível de significância foi fixado em 5% ($p < 0,05$) e OpenEpi, versão 2.3.1/2011 para determinações do índice *kappa*, de sensibilidade, especificidade, valores preditivo positivo e negativo e da concordância do ELISA indireto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 1104 amostras de soro sanguíneo avaliados, observou-se uma frequência de 63,23 % (n=698) de amostras reagentes, 2,26 % (n=25) de amostras suspeitas e 34,51 % (n=381) de amostras não reagentes contra o BoHV-1. Entre os municípios que compõem a Microrregião de Imperatriz, os Municípios de Açailândia e Buritirana obtiveram as maiores frequências, com 80,44% (n=74), em ambos os Municípios, seguidos pelos Municípios de Imperatriz, Ribamar Fiquene, Cidelândia e Governador Edison Lobão com frequências de 75% (n=69), 69,56% (n=64), 64,13% (n=59) e 64,13% (n=59), respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados nos Municípios que compõem a Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

MUNICÍPIOS	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
CIDELÂNDIA	59 ^{aA}	64,13	3	3,26	30	32,61
AÇAILÂNDIA	74 ^{bB}	80,44	2	2,17	16	17,39
BURITIRANA	74 ^{bcC}	80,44	2	2,17	16	17,39
AMARANTE	54 ^{adD}	58,70	0	0,00	38	41,30
LAGEADO NOVO	45 ^{deE}	48,91	0	0,00	47	51,09
JOÃO LISBOA	46 ^{defF}	50,00	7	7,61	39	42,39
IMPERATRIZ	69 ^{bcgG}	75,00	1	1,09	22	23,91
SENADOR LA ROCQUE	48 ^{defhH}	52,17	0	0,00	44	47,83
RIBAMAR FIQUENE	64 ^{bcdgil}	69,56	1	1,09	27	29,35
GOV. EDISON LOBÃO	59 ^{dfgijJ}	64,13	4	4,35	29	31,52
ITINGA	58 ^{dfghijL}	63,04	3	3,26	31	33,70
MONTES ALTOS	48 ^{defhijmM}	52,17	2	2,18	42	45,65
TOTAL	698	63,23	25	2,26	381	34,51

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada município e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todos os Municípios (Qui-quadrado; P<0,05). IC = 95%.

Os resultados deste trabalho assemelham-se aos encontrados por Dias et al., (2008), os quais relataram uma frequência de 64,41%, utilizando a

técnica ELISA indireto, em fêmeas com idade ≥ 24 meses de idade, no Estado do Paraná e Barbosa et al., (2005), no Estado do Goiás, que através da técnica de SN observaram uma frequência de 51,9% e a Rocha et al., (2001), em trabalho desenvolvido no Estado de Minas Gerais utilizando as técnicas ELISA e SN encontraram uma frequência de 58,2% de amostras reagentes.

Diferindo, porém de Lovato et al., (1995), que encontraram uma frequência de 18,8%, através da SN, Médici et al., (2000a), que obtiveram uma frequência de 43,7% em rebanhos com problemas reprodutivos; Eiras et al., (2009), na Galícia, região noroeste da Espanha, utilizando a técnica ELISA indireto, que encontraram uma frequência de 26,6% de amostras reagentes, todos os resultados citados anteriormente demonstraram frequências inferiores aos encontrados neste trabalho.

Vieira et al., (2003), no Estado do Goiás através da técnica ELISA, encontraram uma frequência de 83% de amostras reagentes, Affonso et al., (2010), no Estado do Goiás, avaliaram amostras de animais na linha de abate de frigoríficos localizados na região metropolitana de Goiânia e encontraram uma frequência de 84,5% de amostras reagentes; Bezerra (2009), encontrou uma frequência de 71,30% de amostras reagentes em amostras de soro sanguíneo de rebanhos leiteiros do Estado do Maranhão, demonstrando resultados superiores aos encontrados nessa pesquisa.

As diferenças entre os resultados podem ser justificadas pelas diferenças entre o tipo de criação, manejo de animais, grupo ou faixa etária dos animais utilizados na pesquisa, além de fatores geográficos, população amostrada, tipo de exploração utilizada na propriedade que podem influenciar na diferença encontrada.

A frequência de animais reagentes contra o BoHV-1 é alto, o que demonstra que o vírus está presente em toda Microrregião de Imperatriz. Apesar de essa região apresentar uma pecuária tecnificada, foi possível notar um desconhecimento dos proprietários com relação a esse vírus, responsável por ocasionar tantos prejuízos na criação de bovinos, os pecuaristas têm

informações em sua maioria apenas enfermidades que estão inseridas nos programas oficiais de controle do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como febre aftosa, brucelose, tuberculose e raiva, além de algumas clostridioses.

Todos os 12 Municípios que compuseram a área de estudo apresentaram amostras de soro sanguíneo reagentes contra o BoHV-1, com frequências variando de 48,91% (n=45) à 80,44% (n=74), discordando dos resultados obtidos por Lovato et al., (1995), que encontraram 91,9%; Rocha et al., (2001), que encontraram 93,4%; Vieira et al., (2003), que encontraram 97,5% dos Municípios estudados, o que demonstrou uma ampla distribuição do vírus nos rebanhos estudados.

Entre todos os Municípios avaliados obteve-se diferença significativa ($p < 0,05$). Os Municípios de Açailândia e Buritirana que compartilharam das maiores frequências observadas, tiveram diferenças significativa dos Municípios de Cidelândia, Amarante, Lageado Novo, João Lisboa, Senador La Rocque, Governador Edison Lobão, Itinga do Maranhão e Montes Altos ($p < 0,05$), o mesmo não foi observado entre os Municípios de Imperatriz e Ribamar Fiquene ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Avaliando a variável faixa etária na Microrregião de Imperatriz, verificou-se que a faixa mais acometida foram os animais com idade ≥ 36 meses com frequência de 79,65% (n=497) de animais reagentes, seguidos pelas faixas > 12 meses e < 36 meses com 42,92% (n=103) e ≤ 12 com 40,83% (n=98). Entre todas as faixas etárias avaliadas apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre as faixas ≤ 12 meses e > 12 meses e < 36 meses ($p > 0,05$), já as mesmas apresentaram diferença estatisticamente com a faixa ≥ 36 meses ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	98 ^{aA}	40,83	9	3,75	133	55,42
> 12 e < 36 meses	103 ^{aB}	42,92	5	2,08	132	55,00
≥ 36 meses	497 ^{bC}	79,65	11	1,76	116	18,59
TOTAL	698	63,23	25	2,26	381	34,51

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; P<0,05), entre as propriedades. IC = 95%.

Os resultados corroboram com os achados de Lovato et al., (1995), Melo et al., (2002), Vieira et al., (2003), Barbosa et al., (2005), Dias et al., (2008), Eiras et al., (2009) e Bezerra (2009), que em seus estudos observaram uma maior frequência de animais reagentes para o BoHV-1 em animais mais velhos. De acordo com Barbosa et al., (2005), os animais mais velhos têm mais oportunidades de exposição ao agente, principalmente quando estes entram na fase reprodutiva.

Nos Municípios em que não houve diferença significativa entre as faixas ≤ 12 meses e ≥ 36 meses (p>0.05), pode ser justificado pela resposta da imunidade passiva dos animais mais jovens, que de acordo com Hübner et al., (1996), avaliaram a resposta de anticorpos contra o BoHV-1 em bezerros, observaram uma queda nos títulos de anticorpos contra esse vírus após o sexto mês de vida dos animais (Tabelas 5, 7, 14 e 15).

O Município de Cidelândia apresentou uma frequência de 64,13% (n=59) de amostras reagentes, 3,26% (n=3) de amostras suspeitas e 32,61% (n=30) de amostras não reagentes. A faixa etária mais acometida foi à faixa com idade ≥ 36 meses com 75% (n=39) das amostras reagentes seguida pelas faixas > 12 meses e < 36 meses com 55% (n=11) e ≤ 12 com 45% (n=9). Houve diferença significativa entre todas as faixas etária (p<0,05), houve diferença estatística

entre a faixa etária ≤ 12 meses com a idade ≥ 36 meses ($p < 0,05$), porém não ocorreu diferença estatística entre a mesma faixa etária com a idade > 12 meses e < 36 meses ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Cidelândia, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	9 ^{aA}	45,00	1	5,00	10	50,00
> 12 e < 36 meses	11 ^{abB}	55,00	0	0,00	9	45,00
≥ 36 meses	39 ^{bC}	75,00	2	3,85	11	21,15
TOTAL	59	64,13	3	3,26	30	32,61

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; $P < 0,05$), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Açailândia apresentou uma frequência de 80,44% ($n=74$) de amostras reagentes 2,17% ($n=2$) de amostras suspeitas e 17,39% ($n=16$) de amostras não reagentes. Com relação à faixa etária os animais com idade ≥ 36 meses apresentaram a maior frequência de amostras reagentes com 92,31% ($n=48$) seguidos pelas faixas ≤ 12 meses e > 12 meses e < 36 meses com frequências de 85% ($n=17$) e 45% ($n=9$), respectivamente.

Houve diferença significativa entre todas as faixas etária ($p < 0,05$), a faixa etária ≤ 12 meses não apresentou diferença significativa na frequência de amostras reagentes, comparada a faixa etária ≥ 36 meses ($p > 0,05$), a mesma faixa já apresentou diferença estatística da faixa > 12 meses e < 36 meses ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Açailândia, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	17 ^{aA}	85,00	1	5,00	2	10,00
> 12 e < 36 meses	9 ^{bB}	45,00	1	5,00	10	50,00
≥ 36 meses	48 ^{aC}	92,31	0	0,00	4	7,69
TOTAL	74	80,44	2	2,17	16	17,39

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; $P < 0,05$), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Buritirana apresentou uma frequência de 80,44% (n=74) de amostras reagentes, 2,17% (n=2) de amostras suspeitas e 17,39% (n=16) de amostras não reagentes. A faixa etária ≥ 36 meses apresentou maior frequência de amostras reagentes com 92,31% (n=48), seguidas pelas faixas ≤ 12 meses com 85% (n=17) e > 12 meses e < 36 meses com 45% (n=9). Entre todas as faixas etárias apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), houve diferença estatisticamente significativa entre as faixas ≤ 12 meses e ≥ 36 meses ($p < 0,05$), não ocorrendo o mesmo com a faixa > 12 meses e < 36 meses ($p > 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Buritirana, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	13 ^{aA}	65,00	0	0,00	7	35,00
> 12 e < 36 meses	16 ^{aB}	80,00	0	0,00	4	20,00
≥ 36 meses	45 ^{bC}	86,54	2	3,85	5	9,61
TOTAL	74	80,44	2	2,17	16	17,39

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; $P < 0,05$), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Amarante apresentou uma frequência de 58,70% (n=54) de amostras reagentes e 41,30% (n=38) de amostras não reagentes. A faixa etária mais acometida foi ≥ 3 com 69,23% (n=36), seguidos pelas faixas ≤ 12 meses com 50% (n=10) e > 12 meses e < 36 meses com 40% (n=8). A faixa etária mais acometida foi a idade ≥ 36 meses com uma frequência de 69,23% (n=36), seguidos pelas faixas ≤ 12 meses com 50% (n=10) e > 12 meses e < 36 meses com 40% (n=8).

Entre todas as faixas etárias não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$), não houve diferença estatisticamente significativa das faixas ≤ 12 meses comparada com as faixas “ > 12 meses e < 36 meses” e ≥ 36 meses ($p>0,05$), contudo ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as faixas etárias “ > 12 meses e < 36 meses” com a faixa < 36 meses ($p<0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Amarante, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	10 ^{aA}	50,00	0	0	10	50,00
> 12 e < 36 meses	8 ^{abA}	40,00	0	0	12	60,00
≥ 36 meses	36 ^{acA}	69,23	0	0	16	30,77
TOTAL	54	58,70	0	0	38	41,30

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária (Qui-quadrado; $P<0,05$) e letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; $P>0,05$), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Lageado Novo apresentou uma frequência de 48,91% (n=45) de amostras reagentes e 51,09% (n=47) de amostras não reagentes. A faixa etária mais acometida foi à faixa ≥ 36 meses com uma frequência de 69,23% (n=36) seguidas pelas faixas ≤ 12 meses e “ > 12 meses e < 36 meses”, com frequências de 25% (n=5) e 20% (n=4), respectivamente. Entre todas as

faixas etárias apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), não houve diferença estatisticamente significativa entre as faixas ≤ 12 meses e “ > 12 meses e < 36 meses” ($p > 0,05$), o mesmo não ocorrendo quando comparada a faixa ≥ 36 meses ($p < 0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Lageado Novo, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	5 ^{aA}	25,00	0	0,00	15	75,00
> 12 e < 36 meses	4 ^{aB}	20,00	0	0,00	16	80,00
≥ 36 meses	36 ^{bC}	69,23	0	0,00	16	30,77
TOTAL	45	48,91	0	0,00	47	51,09

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; $P < 0,05$), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de João Lisboa apresentou uma frequência de 50% ($n=46$) de amostras reagentes, 7,61% ($n=7$) de amostras suspeitas e 42,39% ($n=39$) de amostras não reagentes. Os animais com idade ≥ 36 meses obtiveram a maior frequência entre as faixas com 76,92% ($n=40$) seguidos pelas faixas “ > 12 meses e < 3 meses” e ≤ 12 meses com frequências de 20% ($n=4$) e 10% ($n=2$).

Houve diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas ($p < 0,05$), não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as faixas ≤ 12 meses e “ > 12 meses e < 36 meses” ($p > 0,05$), o mesmo não ocorrendo com a faixa ≥ 36 meses ($p < 0,05$) (Tabela 9).

Tabela 9. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de João Lisboa, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	2 ^{aA}	10,00	3	15,00	15	75,00
> 12 e < 36 meses	4 ^{aB}	20,00	1	5,00	15	75,00
≥ 36 meses	40 ^{bC}	76,92	3	5,77	9	17,31
TOTAL	46	50,00	7	7,61	39	42,39

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; P<0,05), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Imperatriz apresentou uma frequência de 75% (n=69) de amostras reagentes, 1,09% (n=1) de amostras suspeitas e 23,91% (n=22) de amostras não reagentes. Entre as faixas etárias afetadas a que obteve a maior frequência de amostras reagentes foi a faixa ≥ 36 meses com 90,38% (n=47), seguidos pelas faixas > 12 meses e < 36 meses com frequência de 65% (n=13) e ≤ 12 meses com 45% (n=9). Houve diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas (p<0,05), não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as faixas ≤ 12 meses e “> 12 meses e < 36 meses” (p>0,05), não ocorrendo o mesmo com relação a faixa ≥ 36 meses (p<0,05) (Tabela 10).

Tabela 10. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Imperatriz, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	9 ^{aA}	45,00	0	0,00	11	55,00
> 12 e < 36 meses	13 ^{aB}	65,00	1	5,00	6	30,00
≥ 36 meses	47 ^{bC}	90,38	0	0,00	5	9,62
TOTAL	69	75,00	1	1,09	22	23,91

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; P<0,05), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Senador La Rocque apresentou uma frequência de 52,17% (n=48) de amostras reagentes e 47,83% (n=44) de amostras não reagentes. Os animais com idade ≥ 36 meses apresentaram a maior frequência de amostras reagentes entre as faixas com 86% (n=45), seguidos pelas faixas ≤ 12 meses e “ > 12 meses e < 36 meses” com frequências de 10% (n=2) e 5% (n=1), respectivamente. Houve diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias ($p < 0,05$), ocorreu diferença estatisticamente significativa entre as faixas ≤ 12 meses e ≥ 36 meses ($p < 0,05$), o mesmo não ocorrendo quando comparada a faixa > 12 meses e < 36 meses ($p > 0,05$) (Tabela 11).

Tabela 11. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Senador La Rocque, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	2 ^{aA}	10,00	0	0,00	18	90,00
> 12 e < 36 meses	1 ^{aB}	5,00	0	0,00	19	95,00
≥ 36 meses	45 ^{bC}	86,54	0	0,00	7	13,46
TOTAL	48	52,17	0	0,00	44	47,83

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; $P < 0,05$), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Ribamar Fiquene apresentou uma frequência de 69,56% (n=64) de amostras reagentes, 1,09% (n=1) de amostras suspeitas e 29,35% (n=27) de amostras não reagentes. A faixa etária mais acometida foi a faixa ≥ 3 com uma frequência de 88,46% (n=46), seguidos pelas faixas > 12 meses e < 36 meses com 70% (n=14) e ≤ 1 com 20% (n=4). Houve diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas ($p < 0,05$), ocorreu diferença estatisticamente significativa entre a faixa etária ≤ 12 meses com as demais faixas “ > 12 meses e < 36 meses” e ≥ 36 meses ($p < 0,05$) (Tabela 12).

Tabela 12. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Ribamar Fiquene, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	4 ^{aA}	20,00	0	0,00	16	80,00
> 12 e < 36 meses	14 ^{bB}	70,00	0	0,00	6	30,00
≥ 36 meses	46 ^{cC}	88,46	1	1,92	5	9,62
TOTAL	64	69,56	1	1,09	27	29,35

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; P<0,05), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Governador Edison Lobão apresentou uma frequência de 64,13% (n=59) de amostras reagentes, 4,35% (n=4) de amostras suspeitas e 31,52% (n=29) de amostras não reagentes. A faixa etária que obteve a maior frequência de amostras reagentes foi à faixa ≥ 36 meses com 86,54% (n=45) seguidos pelas faixas > 12 meses e < 36 meses com 45% (n=9) e ≤ 12 meses com 25% (n=5). Ocorreu diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (p<0,05), não houve diferença estatisticamente significativa entre as faixas ≤ 12 meses e “> 12 meses e < 36 meses” (p>0,05) e ocorreu diferença estatisticamente significativa quando comparada a faixa etária ≥ 36 meses (p<0,05) (Tabela 13).

Tabela 13. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Governador Edison Lobão, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	5 ^{aA}	25,00	2	10,00	13	65,00
> 12 e < 36 meses	9 ^{aB}	45,00	1	5,00	10	50,00
≥ 36 meses	45 ^{bC}	86,54	1	1,92	6	11,54
TOTAL	59	64,13	4	4,35	29	31,52

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; P<0,05), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Itinga apresentou uma frequência de 63,04% (n=58) de amostras reagentes, 3,26% (n=3) de amostras suspeitas e 33,70% (n=31) de amostras não reagentes. A faixa etária mais acometida foi à faixa ≥ 36 meses com frequência de 71,16% (n=37), seguidos pelas faixas ≤ 12 meses e “ > 12 meses e < 36 meses” com frequências de 60% (n=12) e 45% (n=9), respectivamente. Não houve diferença estatisticamente entre todas as faixas etárias ($p>0,05$), quando comparada cada faixa também não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) (Tabela 14).

Tabela 14. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Itinga, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	12 ^{aA}	60,00	2	10,00	6	30,00
> 12 e < 36 meses	9 ^{aA}	45,00	0	0,00	11	55,00
≥ 36 meses	37 ^{aA}	71,16	1	1,92	14	26,92
TOTAL	58	63,04	3	3,26	31	33,70

Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; $P>0,05$), entre as propriedades. IC = 95%.

O Município de Montes Altos apresentou uma frequência de 52,17% (n=48) de amostras reagentes, 2,18% (n=2) de amostras suspeitas e 45,65% (n=42) de amostras não reagentes. A faixa etária que apresentou a maior frequência de amostras reagentes foi à faixa ≥ 36 meses com 63,46% (n=33), seguidos pelas faixas ≤ 12 meses com 50% (n=10) e > 12 meses e < 36 meses com 25% (n=5). Ocorreu diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etária ($p<0,05$), a faixa etária ≤ 12 meses não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparada as outras duas faixas etárias ($p>0,05$), houve diferença estatisticamente significativa entre as faixas “ > 12 meses e < 36 meses” e ≥ 36 meses ($p<0,05$) (Tabela 15).

Tabela 15. Distribuição por faixa etária das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados no Município de Montes Altos, Maranhão, 2012

FAIXA ETÁRIA	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
≤ 12 meses	10 ^{aA}	50,00	0	0,00	10	50,00
> 12 e < 36 meses	5 ^{abB}	25,00	1	5,00	14	70,00
≥ 36 meses	33 ^{acC}	63,46	1	1,92	18	34,62
TOTAL	48	52,17	2	2,18	42	45,65

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre cada faixa etária e letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre todas as faixas etárias (Qui-quadrado; $P < 0,05$), entre as propriedades. IC = 95%.

Foram realizadas visitas em 48 rebanhos distribuídos em 12 Municípios da Microrregião de Imperatriz, todos os rebanhos apresentaram animais reagentes, a frequência de animais reagentes variou de 21,74% ($n=5$) até 95,65% ($n=22$). Houve diferença estatisticamente significativa entre todos os rebanhos ($p < 0,05$) (Tabela 16). Esses resultados discordam dos encontrados por Lovato et al., (1995), que encontrou pelo menos um animal reagente em 54,4% dos rebanhos, Vieira et al., (2003) que encontrou em 97,5% e Barbosa et al., (2005) que encontrou em 98,5%.

Tabela 16. Distribuição por Rebanhos das frequências de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

REBANHOS	REAGENTE		SUSPEITO		NÃO REAGENTE	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	17	73,91	0	0,00	6	26,09
2	10	43,48	0	0,00	13	56,52
3	17	73,91	1	4,35	5	21,74
4	15	65,22	2	8,70	6	26,08
5	18	78,26	1	4,35	4	17,39
6	17	73,91	0	0,00	6	26,09
7	20	86,96	1	4,35	2	8,69
8	19	82,61	0	0,00	4	17,39
9	16	69,57	0	0,00	7	30,43
10	14	60,87	1	4,35	8	34,78
11	22	95,65	0	0,00	1	4,35
12	22	95,65	1	4,35	0	0,00
13	11	47,83	0	0,00	12	52,17
14	11	47,83	0	0,00	12	52,17
15	16	69,57	0	0,00	7	30,43
16	16	69,57	0	0,00	7	30,43
17	16	69,57	0	0,00	7	30,43
18	12	52,17	0	0,00	11	47,83
19	5	21,74	0	0,00	18	78,26
20	12	52,17	0	0,00	11	47,83
21	8	34,78	1	4,35	14	60,87
22	14	60,87	2	8,70	7	30,43
23	11	47,83	1	4,34	11	47,83
24	13	56,52	3	13,04	7	30,44
25	16	69,56	1	4,35	6	26,09
26	15	65,22	0	0,00	8	34,78
27	20	86,96	0	0,00	3	13,04
28	18	78,26	0	0,00	5	21,74
29	10	43,48	0	0,00	13	56,52
30	12	52,17	0	0,00	11	47,83
31	13	56,52	0	0,00	10	43,48
32	13	56,52	0	0,00	10	43,48
33	14	60,87	0	0,00	9	39,13
34	16	69,56	0	0,00	6	26,09
35	19	82,61	0	0,00	4	17,39
36	15	65,22	0	0,00	8	34,78
37	16	69,56	2	8,70	5	21,74
38	18	78,26	0	0,00	5	21,74
39	13	56,52	1	4,35	9	39,13
40	12	52,17	1	4,35	10	43,48
41	12	52,17	1	4,35	10	43,48
42	17	73,91	1	4,35	5	21,74
43	13	56,52	1	4,35	9	39,13
44	16	69,57	0	0,00	7	30,43
45	13	56,52	1	4,35	9	39,13
46	16	69,57	0	0,00	7	30,43
47	8	34,78	1	4,35	14	60,87
48	11	47,83	0	0,00	12	52,17

Diferença estatisticamente significativa entre todos os rebanhos (Qui-quadrado; $P < 0,05$), entre as propriedades, $p = 0,000$. IC = 95%.

Foram avaliadas dez variáveis do questionário epidemiológico para verificar os prováveis fatores de risco associados à infecção pelo BoHV-1, nessa avaliação 2,26% (n=25) das amostras foram desconsideradas, que foram as amostras suspeitas no teste ELISA indireto. As variáveis, retorno ao cio, reposição de animais de outros estados, criação de caprinos/ovinos apresentaram as maiores frequências com 69,88%, 69,09%, 67,80%, respectivamente.

Dentre as variáveis as que foram consideradas fatores de risco foram, retorno ao cio, reposição de animais de outros estados/região e criação de caprinos/ovinos associados a criação de bovinos. As variáveis, nascimento de bezerros fracos, aborto deixado na pastagem, ausência de piquetes maternidades, apesar de não apresentaram grande risco, obtiveram o valor de “p” significativo ($p < 0,05$), o que nos permite afirmar que as variáveis tiveram associação com a transmissão do BoHV-1 (Tabela 17).

Tabela 17. Análise univariada da associação dos fatores de risco com a infecção do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

VARIÁVEIS		REAGENTES		NÃO REAGENTES		TOTAL		OR	IC 95%	VALOR DE P
		Nº	%	Nº	%	Nº	%			
CONJUNTIVITE	SIM	207	62,16	126	37,84	333	30,86	0,8532	0,6525-1,116	0,2699
	NÃO	491	65,82	255	34,18	746	69,14			
ABORTAMENTOS	SIM	606	64,13	336	35,67	942	87,71	0,8822	0,6028-1,291	0,5664
	NÃO	92	67,15	45	32,85	137	12,69			
RETORNO AO CIO	SIM	485	69,88	209	30,12	694	64,32	1,874	1,447-2,426	0,0001*
	NÃO	213	55,32	172	44,68	385	35,68			
BEZERROS FRACOS	SIM	404	62,15	246	37,85	650	60,24	0,7541	0,5825-0,9763	0,0372*
	NÃO	294	68,53	135	31,47	429	39,76			
DESTINO DO ABORTO	PASTAGEM	456	61,62	284	38,38	740	78,56	0,5566	0,3928-0,7887	0,0009*
	QUEIMA/ENTERRA	150	74,26	52	25,74	202	21,44			
ASSISTÊNCIA VETERINÁRIA	NÃO	345	64,13	193	35,83	538	49,86	0,952	0,7416-1,222	0,7029
	SIM	353	65,25	188	34,75	541	50,14			
MANEJO REPRODUTIVO	MN	462	63,90	261	36,10	723	67,01	0,9001	0,6891-1,176	0,4567
	MN+IA	236	66,29	120	33,71	356	32,99			
PIQUETES MATERNIDADES	NÃO	55	49,11	57	50,89	112	10,38	0,4862	0,3279-0,7209	0,0004*
	SIM	643	66,49	324	33,51	967	89,62			
REPOSIÇÃO DE ANIMAIS	OUTROS ESTADOS/REGIÃO	266	69,09	119	30,91	385	35,68	1,356	1,040-1,767	0,0282*
	REGIÃO	432	62,25	262	37,75	694	64,32			
CRIAÇÃO DE CAPRINOS/OVINOS	SIM	398	67,80	189	32,20	587	54,40	1,348	1,049-1,732	0,0213*
	NÃO	300	60,98	192	39,02	492	45,60			

OR – Odds Ratio; IC – intervalo de confiança; MN – Monta natural; IA – Inseminação artificial; (*) Associação significativa em nível de 5%; (a) Teste exato de Fischer.

Em estudos realizados por Dias et al., (2008), foram considerados fatores de risco número maior ou igual a 23 fêmeas com idade \geq 24 meses, compra de reprodutores, pasto comum com outras propriedades, histórico de aborto e presença de animais silvestres de vida livre. Barbosa et al., (2005) avaliaram variáveis como tipo de exploração, tipo de criação, tipo de ordenha, uso de inseminação artificial, raça, presença de outros animais domésticos ou silvestres, assistência veterinária, piquete maternidade, entre outros, mas nenhuma das variáveis foram consideradas fatores de risco para transmissão do vírus.

A infecção causada pelo BoHV-1 pode ocasionar conjuntivite e aborto (GIBBS et al., 1977), além de mortalidade embrionária precoce e/ou tardia, com repetições de cios a intervalos regulares e/ou irregulares (STRAB, 1991) e nascimento de bezerros fracos (WYLER et al., 1989), sinais clínicos observados em outras enfermidades como diarreia viral bovina, neosporose, brucelose, entre outras doenças que necessitam de diagnóstico diferencial.

A ausência de piquetes maternidade é um importante fator de risco para transmissão do vírus, uma vez que esses animais apresentam nessa fase uma baixa na defesa imunológica, o animal portador latente pode reativar o vírus, se for exposto a fatores predisponentes estressantes, que diminuem a resistência imunológica, e com isso períodos de reexcreção viral (COLODEL et al., 2002), a manutenção desses animais em locais separados minimiza a transmissão para outros bovinos do rebanho.

Dias et al., (2008), afirmaram que aquisição de animais sem controle sanitário, é um importante fator na introdução da doença em propriedades livres. Bovinos em contato com outras espécies animais, mesmo que não exerçam papel importante na disseminação do vírus, podem atuar como transmissores mecânicos quando se deslocam de um local a outro dentro e entre propriedades (VAN SCHAİK et al., 1998), nos rebanhos que apresentavam criação associada com caprinos e/ou ovinos, foi possível notar que as instalações como cercas de divisão de piquetes principalmente, eram

apropriadas apenas para criação de bovinos, o que facilita o trânsito desses animais, em toda a propriedade bem como acesso a propriedades vizinhas.

Para comparação entre as técnicas, ELISA indireto e SN foram desconsideradas amostras suspeitas no teste ELISA e que apresentaram efeito citotóxico no teste de SN. Das 1073 amostras de soro avaliadas 43,90% (n=471) foram reagentes nos dois testes. O índice *Kappa* encontrado, com um intervalo de confiança de 95%, entre as duas técnicas foi de 0,57, o que indica um grau moderado de concordância entre as duas técnicas (LANDIS; KOCH, 1977). Utilizando a SN como referência o ELISA indireto apresentou sensibilidade de 97,31% e especificidade de 61,63%. O valor preditivo positivo foi de 67,63% e o valor preditivo negativo foi de 96,54% e concordância de 77,73% (Tabela 18).

Tabela 18. Comparação das técnicas de ELISA Indireto e Soroneutralização, em amostras de soro bovino, da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

ELISA INDIRETO	SORONEUTRALIZAÇÃO		
	REAGENTE	NÃO REAGENTE	TOTAL
REAGENTE	471	226	697
NÃO REAGENTE	13	363	376
TOTAL	484	589	1073

Sensibilidade = 97,31%, Especificidade = 61,63%, Concordância = 77,73% e *Kappa* = 0,57.

Esses resultados discordam dos realizados por Médici et al., (2000b), que encontraram sensibilidade de 100%, especificidade de 94,88%, índice *Kappa* de 0,94 e concordância de 97,05%, porém apesar de terem usado kit comercial proveniente da mesma empresa do kit utilizado nessa pesquisa foram utilizados comprimentos de onda no leitor de ELISA entre 620 e 650nm. Teixeira et al., (2001), desenvolveram e padronizaram um ELISA de bloqueio monoclonal e compararam os resultados aos encontrados no teste de SN, a sensibilidade do teste desenvolvido foi de 92,37%, especificidade de 92,56%, valor preditivo negativo de 93,83%, valor preditivo positivo 90,83%, concordância de 92,48% e índice *Kappa* de 0,85. Ferreira et al., (2005), avaliaram a técnica ELISA indireta com a técnica de SN, a sensibilidade foi de

98,3%, especificidade de 95,2%, valor preditivo positivo de 95,2%, valor preditivo negativo de 98,3%, concordância de 97,7% e índice *Kappa* de 0,93. Oliveira et al., (2011), compararam a técnica ELISA indireto e SN, de sangue total e soro sanguíneo coletados em papel filtro, no soro sanguíneo o ELISA apresentou sensibilidade de 95%, especificidade 94%, valor preditivo positivo 80%, valor preditivo negativo 99% e índice *Kappa* 0,83; no sangue ele apresentou sensibilidade de 91%, especificidade 97%, valor preditivo positivo 87%, valor preditivo negativo 98% e índice *Kappa* 0,86.

Cortez et al., (2001), avaliaram o desempenho de um kit comercial para ELISA, comparada a técnica de SN como padrão de referência, analisando soros sanguíneos de búfalos, encontrou uma sensibilidade próximo aos nossos resultados com 97,7%, especificidade e índice *kappa* inferior ao encontrado em nosso trabalho com 46,06% e 0,44, respectivamente; Vieira et al., (2003), encontrou o índice *Kappa* de 0,68.

As diferenças encontradas neste trabalho podem ser justificadas pelo fato das técnicas ELISA, serem em sua maioria desenvolvida e padronizada pelos mesmos autores, os kits comerciais utilizados por outros pesquisadores, foram realizados há alguns anos, e embora alguns trabalhos tenham utilizados kits comerciais provenientes da mesma empresa, na qual foi obtido o kit para realização deste trabalho, foi possível verificar diferenças dentro da metodologia, como por exemplo, no emprego do comprimento de onda utilizado na configuração do leitor de ELISA.

Ferreira et al., (2005), afirmaram que apesar da técnica de SN, constituir a técnica padrão ouro de diagnóstico do BoHV-1, é uma técnica laboriosa, demorada e requer a manutenção de linhagens celulares para sua realização; de acordo com eles a técnica ELISA indireto tem como principal vantagem a rapidez na conclusão dos resultados e a possibilidade de automação que padroniza os resultados finais. Apesar dos dois testes nesse trabalho terem apresentado concordância moderada, é um teste que ainda deve ser recomendado, pois apresentou características essenciais a um teste de triagem, como por exemplo, valores altos para sensibilidade e valor preditivo

negativo; os animais reagentes no ELISA indireto, diagnosticados através do kit comercial utilizado nessa pesquisa, devem ser submetidos ao teste de SN, para confirmação do resultado.

Foi realizada a comparação entre as técnicas ELISA e SN por faixa etária, os índices *Kappa* em todas as faixas etárias apresentaram grau moderado de concordância entre os dois testes, a faixa etária ≤ 12 meses de idade apresentou, sensibilidade de 93,02%, especificidade de 70,21%, valor preditivo positivo de 41,67%, valor preditivo negativo de 97,78%, concordância de 74,46% e índice *Kappa* de 0,4286 (Tabela 19).

Tabela 19. Comparação das técnicas de ELISA Indireto e Soroneutralização, em amostras de soro bovino com idade ≤ 12 meses, da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

ELISA INDIRETO	SORONEUTRALIZAÇÃO		
	REAGENTE	NÃO REAGENTE	TOTAL
REAGENTE	40	56	96
NÃO REAGENTE	3	132	135
TOTAL	43	188	231

Sensibilidade = 93,02%, Especificidade = 70,21%, Concordância = 74,46% e *Kappa* = 0,4286.

A faixa etária entre 12 meses e 36 meses, apresentou sensibilidade de 95,83%, especificidade de 68,52%, valor preditivo positivo de 57,5%, valor preditivo negativo de 97,37%, concordância de 76,92% e índice *Kappa* de 0,543 (Tabela 20).

Tabela 20. Comparação das técnicas de ELISA Indireto e Soroneutralização, em amostras de soro bovino com idade entre 12 e 36 meses, da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

ELISA INDIRETO	SORONEUTRALIZAÇÃO		
	REAGENTE	NÃO REAGENTE	TOTAL
REAGENTE	69	51	120
NÃO REAGENTE	3	11	114
TOTAL	72	162	234

Sensibilidade = 95,83%, Especificidade = 68,52%, Concordância = 76,92% e *Kappa* = 0,543.

A faixa etária ≥ 36 meses, apresentou sensibilidade de 98,20%, especificidade de 48,20%, valor preditivo positivo de 77%, valor preditivo negativo de 93,86%, concordância de 80,13% e índice *Kappa* de 0,5189 (Tabela 21).

Tabela 21. Comparação das técnicas de ELISA Indireto e Soroneutralização, em amostras de soro bovino com idade ≥ 36 meses, da Microrregião de Imperatriz, Maranhão, 2012

ELISA INDIRETO	SORONEUTRALIZAÇÃO		
	REAGENTE	NÃO REAGENTE	TOTAL
REAGENTE	385	115	500
NÃO REAGENTE	7	107	114
TOTAL	392	222	614

Sensibilidade = 98,21%, Especificidade = 48,20%, Concordância = 80,13% e *Kappa* = 0,5189.

Na faixa etária ≤ 12 meses, 58,33% (n=56) foram reagentes apenas no ELISA, seguidos pelas faixas entre 12 e 36 meses e ≥ 36 meses, com 42,5% (n=51) e 23% (n=115), respectivamente. A faixa etária dos animais mais jovens foi a que apresentou o maior percentual de amostras reagentes apenas no ELISA, a justificativa para isso pode está relacionado ao fato de alguns animais dessa faixa etária estar influenciados pela imunidade passiva, onde de acordo com estudos realizados por Hübner et al., (1996), avaliando a resposta de anticorpos contra o BoHV-1 em bezerros, observou a queda nos títulos de anticorpos contra esse vírus após o sexto mês de vida dos animais.

Cortez et al., (2001), afirmaram em estudos que a técnica ELISA indireto detecta qualquer anticorpo direcionado contra proteína estruturais e não-estruturais do BoHV-1, e de acordo com eles, o ELISA tem a capacidade de gerar sinal a partir de quantidades pequenas de anticorpos, o que poderia explicar a sua aparente perda de especificidade em relação a Soroneutralização.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que:

- A frequência de anticorpos contra o BoHV-1 é alta;
- Entre as faixas etárias mais acometidas foram a dos animais com idade ≥ 36 meses;
- Foram considerados fatores de risco para a transmissão do vírus, retorno ao cio reposição de animais oriundos de outros estados/região e a criação de caprinos/ovinos associados com bovinos;
- A técnica ELISA indireta apresentou concordância moderada quando comparada a técnica de SN, que é a técnica padrão ouro de diagnóstico para BoHV-1, podendo ser recomendada, pois apresenta características essenciais a um teste de triagem.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ACKERMANN, M.; BELAK, S.; BITSCH, V.; EDWARDS, S.; MOUSSA, A.; ROCKBORN, G.; THIRY, E. Round table on infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginites virus infection diagnosis and control. **Veterinary Microbiology**, v. 23, n. 1-4, p. 361-363, 1990a.

ACKERMANN, M.; MULLER, H.K.; BRUCHNER, L.; KIHM, U. Eradication of infectious bovine rhinotracheitis in Switzerland: review and prospects. **Veterinary Microbiology**, v. 23, n. 1-4, p. 365-370, 1990b.

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**, v. 11, n. 4, p. 892-898, out./dez. 2010.

ALICE, J. F. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), no Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 38, n. 4, p. 919–920, 1978.

BARBOSA, A. C. V. C.; BRITO, W. M. E. D.; ALFAIA, B. T. Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) no estado de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1368-1373, 2005.

BEZERRA, D. C. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus bovino Tipo 1 (BoHV-1) em Bovinos Leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão. São Luís, 2009. 103f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Maranhão, UEMA, 2009.

BRITSCH,V. The modification of the infectious bovine rhinotracheitis virus serum neutralization test. **Acta Veterinaria Scandinava**, v.19, p.497-505, 1978

CALDERON, S. J. J.; CORREA, S. V. M.; CORREA, S. J. C.; ISLAS, A. A. Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 57, p. 199-208, 2003.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. (2003). Testes não-paramétricos. In: Bioestatística: CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed. cap. 18, 2003.

CANANT, J.C. Diagnosis of the cause bovine abortion, part 1. **Modern Veterinary Practice**, v. 1, p. 929-931, 1984.

COLODEL, E. M.; NAKAZATO, L.; WEIBLEN, R.; MELLO, R. M.; SILVA, R. R. P.; SOUZA, M. A.; FILHO, J. A. O.; CARON, L. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por herpesvírus bovino no Estado de Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, v. 32, n. 2, p. 293-298, 2002.

CORTEZ, A.; HEINEMANN, M. B.; ALFIERI, A. A.; MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. F.; OLIVEIRA, D. B.; MEYER, A. D.; SOARES, R. M.; SAKAMOTO, S. M.; AMARAL, R.; BARUSELLI, P. S.; FUJII, T.; RICHTZENHAIN, L. J. Comparação das técnicas de ELISA indireto e de soroneutralização na detecção de anticorpos contra o BHV-1 em amostras de soro bubalino (*Bubalus bubalis*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 3, p. 146-148, 2001.

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

EAGLESOME, M. D.; GARCIA, M. M. Microbial agents associated with bovine genital tract infectious and semen. Part I. Brucella abortus, Leptospira, Campylobacter and Trichomonas foetus. **Veterinary Bulletin**, v. 62, n. 8, p.743-775, 1992.

EDWARDS, S. & GITAO, G. C. Highly sensitive antigen detection procedures for the diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis: amplified ELISA and reverse passive haemagglutination. **Veterinary Microbiology**, v.13, p.135-1411, 1987.

EDWARDS, S. Changing trends in infectious bovine rhinotracheitis in Great Britain. **Veterinary Record**, v. 123, p. 614 – 618, 1988.

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

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

ENGELS, M. & ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. **Veterinary Microbiology**, v. 53, n. 1-2, p. 3-15, 1996.

FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. (Eds.). Virus Taxonomy, **VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. London: Elsevier/Academic Press. 2005.

FENNER, F. **Veterinary Virology**. 1st ed. Londres: Academic Press, 1987. p. 445, 1987.

FENNER, F. J.; GIBBS, E. P. J.; MURPHY, F. A.; ROTT, R.; STUDERT, M. J.; WHITE, D. O. **Veterinary Virology**. 2^a ed. San Diego: Academic Press, 666p, 1993.

FENNER F. J.; PAUL E.P.; GIBBS E. J.; MURPHY F. A.; HORZINEK M. C.; STUDDERT M. J. **Veterynary Virology**. 2nd ed. Academic Press, San Diego. p. 676, 1996.

GALVÃO, C. L.; DORIA, J. D.; ALICE, F. J. Anticorpos neutralizantes para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos, em bovinos do Brasil. **Boletim do Instituto Biológico da Bahia**, v. 6, n. 1, p. 15-25, 1962/1963.

GART, J. J.; BUCK, A. A. Comparison of a screening test and a reference test in a epidemiology studies. **American Journal of Epidemiology**, v. 83, p. 593-602, 1966.

GEPLAN, Gerência de planejamento e desenvolvimento econômico, laboratório de geoprocessamento-UEMA. Atlas do Maranhão. São Luís, 2002.

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

GRAHAM, D. A.; MCSHANE J.; MAWHINNEY K. A.; MCLAREN I. E.; ADAIR B. M.; MERZA M. Evaluation of a single dilution ELISA system for detection of seroconversion to bovine viral diarrhea virus, bovine respiratory syncytial virus, parainfluenza-3 virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus: comparison with testing by virus neutralization and hemagglutination inhibition. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 10, p. 43-48, 1998.

HÜBNER, S. O.; WEIBLEN, R.; SILVA, A. M.; MORAES, M. P. Evolução da imunidade passiva contra o herpesvírus bovino tipo 1. **Ciência Rural**, v. 26, n. 3, p. 435-439, 1996.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2010. Disponível em:<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=24&i=P>> . Acesso em: 5 Janeiro de 2012.

KIRKBRIDE, C.A. Managin and outbreak of livestock abortion 2: diagnosis and control of bovine abortion. **Veterinary Medicine**, v. 80, n. 5, p. 70-79, 1985.

KRAMPS, J. A.; MAGDALENA J.; QUAK, J.; WEERDMEESTER, K.; KAASHOEK M. J.; MARIS-VELDHUIS, M. A.; RISJEWIJK, F. A. M., KEIL G.; VAN OIRSCHOT J. T. A simple, specific, and highly sensitive blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine herpesvirus 1. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 9, p. 2175-2181, 1994.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, p. 159-174, 1977.

LEMAIRE, M.; PASTORET, P. P.; THIRY, E. Le contrôle de l'infection par Le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. **Annales de Médecine Vétérinaire**, v. 138, n. 3, p. 167-180, 1994.

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, p. 425-430, 1995.

MARS, M. H.; BRUSCHKE, C. J. M.; VAN, OIRSCHOT, J. T. Airborne transmission of BHV 1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. **Veterinary Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 197-207, 1999.

MARTINS, G. A.; MARTINS FILHO, R.; LIMA, F. A. M.; LÔBO, R. N. B. Influência de Fatores Genéticos e de Meio sobre o Crescimento de Bovinos da Raça Nelore no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 103-107, 2000.

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

MÉDICI, K. C.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F. Ensaio imunoenzimático comercial no diagnóstico sorológico das infecções por herpesvírus bovino 1. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 343-346, 2000b.

MELO, C. B.; LOBATO, Z. I. P.; CAMARGOS, M. F.; SOUZA, G. N.; MARTINS, N. R. S.; LEITE, R.C. Distribuição de anticorpos para herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 54 n. 6, Belo Horizonte, 2002.

METZLER, A. E.; SCHUDEL, A. A.; ENGELS, M. Bovine herpesvirus type 1: molecular and antigenic characteristics of variant viruses isolated from calves with neurological disease. **Archives of Virology**, v. 87, p. 205-217, 1986.

MILLER, J.M. The effects of IBR virus infections on reproductive function of cattle. **Veterinary Medicine**, v. 86, n. 1, p.790-794, 1991.

MUELLER, S. B. K.; IKUNO, A. A.; CAMPOS, M. T. G. R.; RIBEIRO, L. O. C. Isolamento e identificação do vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos de um rim de feto de bovino (IPV/IBR). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 45, n. 3, p. 187-190, 1978.

OIE, OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. List B Diseases: Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV). In: **International Animal Health Code**. Paris: OIE, 2001.

OLIVEIRA, A. P.; DAVID, C.; ESTEVES, P. A.; SPILKI, F. R.; SILVA, A. D.; HOLZ, C.; SIMONETTI, A. B.; Blood or Serum Collected on Filter Paper for Detection of Antibodies to Bovine Herpesvirus Type 1 (BoHV-1). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 1, p. 948, 2011.

OSÓRIO F. A.; SRIKUMARAN S.; RHODES M.; CHRISTENSEN D.; SRIKUMARAN P. Detection of bovine herpesvirus-1-specific IgM using a capture enzyme immune assay with isotype-specific monoclonal antibodies. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 1, p. 39-145, 1989.

PITUCO, E. M.; CARNEIRO, B.; MENZ, I.; STEFANO, E.; OKUDA, L. H. Detecção de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino tipo 1 (HoVB-1) em rebanhos de corte e leite com problemas reprodutivos no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 3., 1999, São Paulo. *Resumos*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 66, supl., p. 126, 1999.

PORTERFIELD, J. S. Andrewes' Viruses of Vertebrates. 5th ed. **Baillière Tindall**, London. 457p, 1989.

PRITCHARD, G. Diagnosing the cause of bovine abortion. **In Practice**, v. 12, n. 3, p. 92-97, 1985.

RAVAZZOLO, A. P.; DAL PIZZOL, M.; MOOJEN, V. Evidência da presença de anticorpos para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos em alguns municípios do Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária- UFRGS**, v. 7, p. 95-98, 1989.

REED, L. J.; MUENCH, H. A simple method of estimating 50 per cent end point. **American Journal of Hygiene**, v. 27, p. 493-497, 1938.

RIGHTZENHAIN, L. J.; ALFIERI, A.; LEITE, R. C.; WEIBLEN, R.; MORO, E.; UMEHARA, O. Pesquisa de anticorpos séricos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1) em fêmeas bovinas de propriedades com histórico de problemas reprodutivos localizados em 21 Estados brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 3., 1999, São Paulo. *Resumos*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.66, supl., p. 127, 1999.

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

ROIZMAN, B.; DESROSIERS, R. C.; FLECKENSTEIN, B.; LOPEZ, C.; MINSON, A. C.; STUDDERT, M. J. Family Herpesviridae. **Archives of Virology**, v. 140, supl. 10, p. 114-127. 1995.

SHEN, D. T.; BURGER D.; LI, Z. GORHAM, J. R. Characterization of monoclonal antibodies to bovine herpesvirus type 1, Los Angeles strain. **Veterinary Microbiology**, v. 28, p. 25-37, 1991.

STRAUB, O. C. BHV-1 Infectious: Relevance and spread in Europe. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.14, n.2, p.175-186, 1991.

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

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

TRIOLA, Mário. F. **Introdução à Estatística**. 7ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999.

VAN OIRSCHOT, J. T.; KAASHOEK, M. J.; RIJSEWIJK, F. A. M. Advances in development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. **Veterinary Microbiology**, v. 53, n. 1/2, p. 43-54, 1996.

VAN OIRSCHOT, J. J.; KAASHOEK M. J., MARIS-VELDHUIS, M. A; WEERDMEESTER, K.; JSEWIJK, F. A. M. An enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against glycoprotein gE of bovine herpesvirus 1 allows differentiation between infected and vaccinated cattle. **Journal of Virological Methods**, v. 67, p. 23-24, 1997.

VAN OIRSCHOT, J. T. The BHV-1 Situation in Europe. In SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, p. 69-72, 1998.

VAN SCHAİK, G.; SCHUKKEN, Y. H.; NIELEN, M.; DIJKHUIZEN, A. A.; BENEDICTUS, G. Risk factors for introduction of BHV1 into BHV1-free Dutch dairy farms: A case-control study. **Veterinary Quarterly**, v. 23, n. 2, p. 71-76, 2001.

VIDOR T.; HALFEN D. C.; LEITE T. E.; COSWIG L. T. Herpes Bovino tipo 1 (BHV-1) I. Sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, p. 421-424, 1995.

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

WYLER, R.; ENGELS, M.; SCHWYZR, M. Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV-1). In: WITTMANN, G. Herpesvirus diseases of cattle, horses and pigs. Boston: **Kluwer Academic Publishers**, p. 1-72, 1989.

APÊNDICES

APÊNDICE A – FICHA CADASTRAL DA PROPRIEDADE

Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (Bohv-1) em bovinos de corte não vacinados na microrregião de Imperatriz

Ficha nº _____

Coordenadas Geográficas nº _____

DADOS GERAIS

1. Nome da propriedade: _____

2. Cidade _____

3. Endereço: _____

4. Nome do proprietário _____

5. Raça dos animais: _____

6. Sistema de Criação: _____

7. Número de animais:

Até 12 meses de idade _____ Fêmeas ()

Entre 12 e 36 meses de idade _____ Fêmeas ()

Acima ou igual à 36 meses _____ Fêmeas ()

Total _____ Fêmeas ()

APENDICE B - QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

Ficha nº _____

INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS

1. Possui propriedades vizinhas: () Sim () Não
 Distancia aproximada: _____
 Contato entre os animais da propriedade vizinha () Sim () Não
 Contato de fômites das propriedades vizinhas () Sim () Não
2. Vacinação:
 () Aftosa () Raiva () Brucelose () Leptospirose () IBR () BVD
3. Ocorrências de doenças: () Sim () Não
4. Diagnosticadas: () Sim () Não
5. Sinais Clínicos: () Sim () Não
- 5.1 Respiratórios: () Sim () Não
 Quais: _____
- 5.2 Conjuntivite: () sim () Não
- 5.3 Reprodutivos () Sim () Não
 Quais: _____
 Eficiência reprodutiva:
 () Retorno ao cio () Aumento do intervalo entre cios () Abortamentos
 () Nascimento Bezerros Fracos () Natimorto () outros
 Quais: _____
- 5.3 Destino do Aborto:
 () Enterra () Queima () os dois anteriores () Deixa na pastagem
 () outros
 Quais: _____
- 5.4 Neurológicos () Sim () Não
 Quais: _____
- 5.5 Sacrifício de animais () Sim () Não
6. Assistência Veterinária () Sim () Não

7. Manejo Reprodutivo () MN () IA () TE () FIV
8. Compra de animais para reprodução () Sim () Não
() Leilões () Exposições () Comerciantes () Outra fazendas
() Outros estados
9. Piquetes Maternidades () sim () Não
10. Reposição de animais: () Região () Estado () Outros estados
11. Realiza quarentena? () sim () não
12. Destino dos animais: () Abate () Venda
13. Criação de caprinos/ovinos: () sim () não

ANEXO



Universidade Estadual do Maranhão

COMISSÃO DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

DECLARAÇÃO

Declaramos para devidos fins que o projeto intitulado **“Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados na Microrregião de Imperatriz”** foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal - CEEA do Curso de Medicina Veterinária da Uema, conforme protocolo nº 010/2010, para a execução da pesquisa, pelo pós-graduando do Mestrado em Ciência Animal/UEMA, Ermilton Júnio Pereira de Freitas por atender as normas de Bem Estar Animal da Resolução do CFMV nº 879 de 15/02/2008.

São Luís-Ma, 15 de maio de 2012

Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa
Presidente do CEEA/CMV/UEMA
(Matrícula 9357)