

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS BOVINO TIPO
1 (BoHV-1) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NO ESTADO DO
MARANHÃO**

Danilo Cutrim Bezerra

São Luís – MA
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Danilo Cutrim Bezerra

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O HERPESVÍRUS BOVINO TIPO
1 (BoHV-1) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NO ESTADO DO
MARANHÃO**

Dissertação apresentada como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre
em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Sanidade Animal

Orientador: Prof. DSc. Hélder de Moraes Pereira

São Luís – MA

2009

Bezerra, Danilo Cutrim

Frequencia de anticorpos contra o Herpesvírus bovino Tipo 1 (BoHV-1) em Bovinos leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão/ Danilo Cutrim Bezerra. – São Luis, 2009.
103 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2009.

Orientador: Prof.Dr. Helder de Moraes Pereira

1.Freqüência 2.Anticorpos 3.BoHV-1 4- Elisa
5-Bovinos leiteiros I.Titulo

CDU: 636.2.034: 616.98 (812.1)

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 22/12/2009 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. DSc. Luíz Carlos Rêgo Oliveira

1º Membro

Prof. DSc. José de Sousa Torres Junior

2º Membro

Prof. DSc. Hélder de Moraes Pereira

Orientador

À minha esposa, Nancyleni P. Chaves Bezerra, pelo companheirismo, paciência, compreensão e pelo amor puro e verdadeiro o qual só nos engrandece a cada dia, que sejamos sempre felizes e companheiros. A meu pai, João José A. Bezerra e minha mãe Mirtes C. Bezerra (exemplo de abnegação, dedicação e amor, sem os quais nada ...), grande bênção de Deus concedida em minha vida e que, apesar das dificuldades, foram exemplos plenos de amor, dedicação e doação. A vocês, todo meu amor e minha eterna gratidão. Aos meus irmãos, Alencar, Celina, Marcos Vinícios e Priscila pela grande amizade, amor e carinho.

À José Altevir de Azevedo Bezerra e Geusa Felipa de Barros Bezerras, os meus segundos pais, pilares do meu incentivo e caráter, meus mais sinceros agradecimentos por toda vida e aos primos e irmãos Rodrigo B. Bezerra e Bruno B. Bezerra, por tê-los ao meu lado e continuarmos a privar de tão valiosa união.

Ao primo Luiz de O. Gomes, pela grande amizade, ajuda, apoio e... no começo desta caminhada pela profissão tão sonhada, aquele muito obrigado de hoje e sempre.

Aos tios D`Jesus, Fátima, Marliude, Antônio Meireles, Edir, Valdir, Louro, Orlando, José Arnaldo, Adauto e aos primos Romildo, Valmir, Branco, Elisângela, Katia, Dandara, Caitano, Francinete, Jaqueline, Charliane, Belna, Cintya, André, Luciano, Alan, Marcos, Jonh Lenon e Alessandro, a meus avos paternos Heider e Celina Clara e maternos Nilo e Francisca (in memoriam), a todos as minhas mais sinceras desculpas pelas presenças e ausências ao longo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por tudo que consegui até o dia de hoje com os agradecimentos do teu humilde servo...

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), pela oportunidade de realização desta pós-graduação tão esperada.

Ao Professor Orientador Dsc. Hélder de Moraes Pereira, os mais sinceros votos de estima e consideração, pela orientação e mão amiga nos momentos mais difíceis desta jornada; um sincero e especial agradecimento, pela sua dedicação em me orientar e por ter depositado em mim total confiança na execução deste trabalho sem poupar esforços para a realização deste.

Ao Professor Hamilton Pereira Santos, pela amizade, apoio e incentivo durante toda minha vida acadêmica e na pós-graduação. Sou e serei eternamente grato pelas oportunidades oferecidas e que me foram dadas na busca do conhecimento e pela confiança depositada, nunca me esquecerei de ti mestre.

A todos os professores e funcionários da Faculdade de Veterinária da UEMA, por tornarem possível a minha estada nesta pós-graduação. E ao INAGRO, em nome do Profº. Ataíde pelas constantes ajudas a este grupo de pesquisas...

Ao professor Porfírio Candanedo Guerra, pela amizade, apoio e incentivo durante a vida acadêmica onde me ensinou quando e como ingressar na vida científica, aquele muito obrigado de hoje e sempre...

A todos os amigos de turma da graduação e da pós-graduação. E aos amigos de trabalho Denise, Rosany, Nina, Sheila, Andrade, Campelo, Rodolfo, Santana, Manuel... e a SEMURH por tornarem possível a adequação dos horários para o desenvolvimento deste trabalho...

Ao amigo Silvio Muniz e família, pelo incentivo, amizade e apoio ao longo desta jornada...

Ao primo Aragão Neto e aos amigos, Marly Abdala, Raimundo Cutrim, Dico Serra, João Evangelista, Chico Serra, Antonio Serra, Fernando Firveda e família e a tantos outros pela fraterna convivência.

Aos funcionários da AGED, Ricardo Wagner Martins, Nádia Oliveira Medeiros, Ana Célia Mendes Melo, Richard Wagner de O. Júnior, Wilson Martins e Manoel, pelo suporte logístico na localização das propriedades.

Ao laboratório TECPAR em nome do Dr. Jorge Agottani e da Dra. Josiane Brodwikis pela liberação dos Kits e por tornarem possível a análise das amostras e por todo apoio para que fosse feito todo desenvolvimento deste tão sonhado experimento.

Muito Obrigado!!!

*“Na conduta no caráter e no estilo
em tudo a simplicidade é a virtude da vida”.*

Henry W. Longfellow.

RESUMO

BEZERRA, D.C. **Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão.** [Frequency of antibodies against the bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) in non vaccinated dairy cattle in the state of Maranhão]. 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

O Herpesvírus Bovino Tipo 1(BoHV-1) apresenta distribuição mundial e é descrito como um sério problema sanitário, gerando perdas produtivas e reprodutivas para os rebanhos infectados. Deste modo, a pesquisa foi realizada, com o objetivo de estabelecer a frequência de anticorpos contra o BoHV-1 na bacia leiteira do Estado do Maranhão. Amostras de soro sanguíneo de 920 fêmeas bovinas não vacinadas contra BoHV-1 foram analisadas por meio da técnica de ELISA indireto. O estudo foi realizado em 92 propriedades leiteiras, pertencentes a 23 municípios localizados nas regionais de Açailândia, Bacabal, Ilha de São Luís, Imperatriz e Pedreiras. As amostras de soro foram coletadas de fêmeas com ou sem sinais clínicos da infecção pelo vírus e estratificadas segundo a faixa etária (> 3 anos, entre 3 a 7 anos e > 7anos). Durante a coleta das amostras, aplicou-se questionário epidemiológico para investigar fatores que poderiam estar associados à infecção. Das 920 amostras de soro analisadas, 71,30% (n=656) foram reagentes, 17,40% (n=160) suspeitas e 11,30% (n=104) não reagentes. Nas regionais obtiveram-se frequências de 68,12% (n=109), 68,21% (n=191), 71,67% (n=86), 78,75% (n=126) e 72% (n=144), para Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal, respectivamente. Nos 23 municípios amostrados foram encontrados animais reagentes, com detecção de bovinos sorologicamente positivos em 100% das propriedades. As frequências de reagentes por faixa etária foram 45,57% (3 a 7 anos), 9,57% (< 3 anos) e 4,79% (> 7 anos). Estes resultados indicam que estatisticamente a idade esteve associada à infecção ($P < 0,05$). Das variáveis consideradas fatores de risco, nenhuma apresentou significância estatística ($P > 0,05$) associada à soropositividade para o BoHV-1. Os resultados obtidos demonstram percentuais elevados de frequência do vírus no rebanho bovino de aptidão leiteira do Estado do Maranhão. Esses achados indicam a necessidade da realização de diagnóstico sistemático e monitoramento dos rebanhos, além da implantação de medidas de controle e profilaxia, como remoção gradual de animais infectados, realização de quarentena ao ingresso de novos animais nas propriedades, realização de exames sorológicos e vacinações.

Palavras - chave: Frequência, anticorpos, BoHV-1, ELISA, bovinos leiteiros.

ABSTRACT

BEZERRA, D.C. **Frequency of antibodies against the bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) in not vaccinated dairy bovine in the State of Maranhão.** [Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão]. 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

The bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) has a worldwide distribution and it is described as a serious health problem producing productive and reproductive losses in infected herds. In this way, the research was realized with the objective to establish the frequency of antibodies against the BoHV-1 in the dairy farms of the state of Maranhão. Serum sanguine samples of 920 bovine females not vaccinated against the BoHV-1 were analysed through the indirect ELISA technique. The study was realized in 92 dairy properties, belonging to 23 districts located in the regions of Açailândia, Bacabal, São Luiz Island, Imperatriz and Pedreiras. The serum samples were collected from females with or without clinical signals of the viral infection and stratified according to the age group (> 3 years, between 3 and 7 years and > 7 years). It was applied an epidemiological questionnaire during the sample collect to research the factors that could be associated to infection. From the 920 serum analysed samples, 71.30% (n=656) were positive, 17.40% (n=160) suspected and 11.30% (n=104) negatives. In the regional samples, they obtained frequency of 68.12% (n=109), 68.21% (n=191), 71.67% (n=86), 78.75% (n=126) e 72% (n=144), for São Luiz Island, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras and Bacabal, respectively. In the 23 studied districts were found reagent animals, with detection of positive serological bovines in 100% of the properties. The frequencies of reagents by age group were 45.57% (3 to 7 years) 9.57% (<3 years) and 4.79% (> 7 years), the results indicate that age was statistically associated with infection ($P < 0.05$). From the considered variables as risk factors, no one presented statistic significance ($P < 0.05$) associated to BoHV-1 seropositivity. The obtained results demonstrated high percentage of virus frequency in the state of Maranhão's dairy aptitude bovine flock. These findings indicate the need of systematic diagnosis accomplishment and the flock monitoring, beyond the implementation of control and prophylaxis measures, as a gradual removal of infected animals, setting on quarantine the new animals added in the proprieties, practicing serological exams and the use of vaccination.

Key-words: Frequency, antibodies, BoHV-1, ELISA, dairy bovines.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	Etiologia.....	20
2.1.1	Propriedades.....	21
2.1.1.1	Morfologia e Estrutura.....	21
2.1.1.2	Composição Química.....	21
2.1.1.3	Características Físico-Químicas.....	22
2.1.1.4	Proteínas.....	22
2.1.1.5	Multiplicação Viral.....	22
2.2	Epidemiologia.....	24
2.3	Patogenia.....	28
2.3.1	Latência.....	29
2.4	Sinais Clínicos e Lesões.....	31
2.4.1	Forma Respiratória e Conjuntivite.....	31
2.4.2	Forma Reprodutiva.....	32
2.4.3	Forma Sistêmica Neonatal.....	33
2.5	Imunologia.....	34
2.6	Situação da Infecção pelo Herpesvírus Bovino Tipo-1.....	35
2.6.1	Situação no Mundo.....	35
2.6.2	Situação no Brasil.....	37
2.7	Diagnóstico.....	45
2.7.1	Ensaio Imunoenzimático (ELISA).....	48
2.8	Controle e Profilaxia.....	48
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.1	Região.....	51
3.2	Propriedades.....	51
3.3	Coleta de Amostras.....	53

3.4	Análise das Amostras.....	55
3.5	Fatores de Risco.....	56
3.6	Análises Estatísticas.....	56
4	RESULTADOS.....	58
5	DISCUSSÃO.....	69
6	CONCLUSÕES.....	77
	REFERÊNCIAS.....	79
	APÊNDICES.....	99

LISTA DE TABELAS

- TABELA 01** – Distribuição das regionais com seus respectivos municípios, bem como o número de amostras/propriedade, Maranhão, 2009.....54
- TABELA 02** – Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras de 23 municípios pertencentes a 05 regionais da Bacia Leiteira do Estado do Maranhão, 2009.....59
- TABELA 03** – Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira da Ilha de São Luís - MA, 200961
- TABELA 04** – Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Imperatriz - MA, 200962
- TABELA 05** – Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Açailândia - MA, 2009..... 63
- TABELA 06** – Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Pedreiras - MA, 200964
- TABELA 07** – Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Bacabal - MA, 200965
- TABELA 08** – Fatores de risco para o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas na bacia leiteira do estado do Maranhão, 2008.....67

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** – Mapa do Estado do Maranhão com as principais regionais produtoras de leite.....52
- FIGURA 2** – Fotografia da coleta de sangue, acondicionamento e processamento das amostras de soro sangüíneo de fêmeas bovinas leiteiras: (a) punção da veia jugular, (b) tubos vacutainer siliconizados com amostras de sangue, (c) material para obtenção das amostras de soro, (d) tubos eppendorf com amostras de soro em duplicata.....55
- FIGURA 3** – Freqüência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas da bacia Leiteira do estado do Maranhão, 200958
- FIGURA 4** – Freqüência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras nas regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal, 2009.....58
- FIGURA 5** – Freqüência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em 23 municípios da bacia leiteira do estado do Maranhão, 2009.....60
- FIGURA 6** – Freqüência de fêmeas bovinas positivas para o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) de acordo com a faixa etária, Maranhão, 2009.66

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- IBR** – Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
BoHV-1 – Herpesvírus Bovino Tipo 1
IPV – Vulvovaginite Infecciosa Bovina
IPB – Balanopostite Infecciosa Bovina
ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay
PCR – Reação de Polimerase em Cadeia
LTC – Linfócitos T Citotóxicos
MHC-I – Complexo de Histocompatibilidade Principal Classe I
RTC– Complexo Receptor de Células
ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay
I-ELISA – Elisa indireto
MDBK – Madin Darly Bovine Kidney
DI – Doses Infectantes
SN – Soroneutralização
EIE – Ensaio Imunoenzimático
IFI - Imunofluorescência Indireta
MEM - Meio Mínimo Essencial Eagle
IHQ - Imunohistoquímica
IPX - Immunoperoxidase
IA – Inseminação Artificial
MN – Monta Natural
OD – Densidade Óptica

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A atividade leiteira tem um importante papel na sustentabilidade das propriedades agrícolas, tanto no autoconsumo, como na geração de renda. O Estado do Maranhão apresenta grande potencial para o desenvolvimento da pecuária leiteira moderna. Dos estados que compõe a Região Nordeste, o Maranhão, está menos exposto a fatores como, instabilidades climáticas periódicas existentes o que permite uma programação em médio prazo, capaz de definir um efetivo de rebanho, compatível com as potencialidades de produção da região.

A bovinocultura leiteira no estado do Maranhão vem passando por significativas mudanças nos últimos anos. O agronegócio vem sofrendo um processo de modernização com a adoção de um modelo mais eficiente de gestão tornando-o mais competitivo a cada ano. Como consequência, a eficiência em todo o processo de produção, tem sido fundamental para o sucesso da exploração em todos os setores que compõe a cadeia da pecuária leiteira. Entretanto, sistemas intensificados favorecem a ocorrência de microrganismos patogênicos nas propriedades. Algumas doenças infecciosas são potencialmente capazes de comprometer a viabilidade de uma produção economicamente. Dentre estas enfermidades destaca-se a infecção pelo BoHV-1, clinicamente denominada de Rinotraqueite Infecciosa Bovina (IBR).

O BoHV-1 é considerado um dos principais patógenos de bovinos sendo responsável por perdas significativas para a exploração pecuária. O BoHV-1 pertence à família Herpesviridae, subfamília Alfa herpesvirinae, gênero Varicellovirus (ICTV, 2000) e é subdividido nos subtipos BoHV-1.1 e BoHV-1.2 (D'ARCE et al., 2002).

A infecção pelo BoHV-1 pode resultar em uma grande variabilidade de sinais clínicos, associados à enfermidade respiratória, conhecida como rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), além de conjuntivite, vulvovaginite pustular infecciosa (IPV), balanopostite pustular infecciosa (IPB), reabsorção embrionária, abortamento, infertilidade temporária, nascimento de animais fracos e infecção multissistêmica fatal dos neonatos (CERQUEIRA et al., 2000; KAHRS, 2001; VIEIRA et al., 2003).

Uma característica importante do BoHV-1 é a capacidade de estabelecer latência em gânglios de nervos sensoriais, principalmente os gânglios trigêmeo e sacral. Os herpesvírus podem ser reativados quando os animais são submetidos a fatores estressantes, que diminuem a resistência imunológica (ROCK, 1994; ENGELS & ACKERMANN, 1996; COLODEL et al., 2002). A reativação leva à reexcreção de partículas virais, sendo responsável pela perpetuação do vírus na população bovina (CERQUEIRA et al., 2000; VIEIRA et al., 2003). Uma vez tendo sofrido infecção primária, o animal será portador do BoHV-1 por toda vida, potencialmente atuando como fonte de infecção para animais susceptíveis, assegurando a permanência da infecção no rebanho (LEMAIRE et al., 1994).

O BoHV-1 pode ser transmitido pelas secreções respiratória, ocular e genital, a partir de animais infectados (CALDERON et al., 2003). Pode também ser transmitido pelo sêmen (WENTINK et al., 1993; CALDERON et al., 2003).

A via mais importante de transmissão do BoHV-1 é a horizontal, pelo contato direto entre os animais infectados e susceptíveis e também pela cópula; porém o embrião e feto podem infectar-se pela via vertical (transplacentária). A transmissão indireta ocorre principalmente por aerossóis, fômites, tendo a inseminação artificial importante papel na entrada da doença em rebanhos que não tiveram contato com o vírus (LEMAIRE et al., 1994).

O BoHV-1 tem distribuição mundial e é descrito como um sério problema sanitário gerando perdas produtivas e reprodutivas para os rebanhos infectados (REINHARDT et al., 2001; COLODEL et al., 2002; BRACKENBURY et al., 2003; KUNRATH et al., 2004).

No Brasil, foram realizados isolamentos do BoHV-1 nas regiões Sudeste, Sul, Centro-Oeste e Nordeste (VIDOR, 1974; MULLER et al., 1979; GALVÃO, 1985; NOGUEIRA et al., 1986; LOVATO, 1998; WEIBLEN et al., 1991; HÜBNER et al., 1994; WEIBLEN et al., 1996b; FLORES et al., 2000a; PINTO et al., 2001). Foram realizados também, inquéritos sorológicos nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Ceará, Bahia e Sergipe, que comprovam que o vírus está disseminado na população bovina do

país (ROCHA et al., 1994; LOVATO et al., 1995a; VIDOR et al., 1995; BARROS FILHO et al., 1997; PITUCO et al., 1997; ROEHE et al., 1998; ROCHA et al., 2001).

O diagnóstico do BoHV-1 é realizado através da detecção do vírus (ou componentes virais) e da demonstração de anticorpos específicos. O isolamento deste vírus em cultivo celular confirma a presença do agente nos animais infectados (RIET-CORREA et al., 1996; ROEHE et al., 1997b; REINHARDT et al., 2001; VIEIRA et al., 2003; KUNRATH et al., 2004). A identificação final do vírus pode ser feita por diferentes métodos, como as técnicas de soroneutralização, imunofluorescência, imunoperoxidase, ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação de polimerase em cadeia (PCR) (TAKIUCHI et al., 2001).

Deste modo, considerando a importância que o Herpesvírus Bovino Tipo-1 (BoHV-1) possui nos rebanhos bovinos, principalmente aqueles voltados à exploração leiteira, juntamente à ausência de dados soro-epidemiológicos da ocorrência desta infecção nos rebanhos do Maranhão, o que torna o trabalho pioneiro no estado, aliado ainda a práticas deficientes de sanidade nas propriedades, o presente estudo objetivou estabelecer a frequência de anticorpos contra o BoHV-1, em bovinos não vacinados, na bacia leiteira do Maranhão, identificar a faixa etária de fêmeas bovinas em que mais ocorre a doença, avaliar possíveis fatores de risco associados à enfermidade e sugerir medidas sanitárias e de controle para a infecção.

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiologia

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) pertence à família Herpesviridae, subfamília Alfaherpesvirinae e gênero Varicellovirus (ICTV, 2000). Estão também classificados nesta subfamília o vírus herpes simples humano, o vírus da doença de Aujeszky, da rinopneumonite equina e da laringotraqueíte aviária.

Os vírus dessa subfamília apresentam um espectro amplo de hospedeiros, ciclo replicativo curto e se disseminam rapidamente em células de cultivo, resultando em lise celular. Outra característica importante desta subfamília é a capacidade de estabelecer infecções latentes, que podem ser reativadas periodicamente com liberação de partículas virais. O sítio principal de latência é o núcleo dos neurônios dos gânglios sensoriais e autonômicos, sendo esta característica importante para a perpetuação desses vírus na natureza (ROIZMAN et al., 1992; ROCK, 1994).

Com base em análise de restrição genômica (REA) e na reatividade com anticorpos monoclonais (AcMs), amostras de campo do BoHV-1 foram caracterizadas, e os vírus isolados de doença respiratória foram classificados como BoHV-1.1 e os isolados de infecção genital como BoHV-1.2 (METZLER et al., 1985; D'ARCE et al., 2002). A base molecular do tropismo dos subtipos BoHV-1.1 e do BoHV-1.2 pelo trato respiratório e genital, respectivamente, ainda não está esclarecida. Dessa forma, a associação desses vírus com cada síndrome clínica parece não ser mutuamente exclusiva. Assim, bovinos inoculados pela via intranasal com um isolado de BoHV-1.2 desenvolveram doença respiratória leve (SPILKI et al., 2004) e bezerras inoculadas pela via vaginal com um isolado de BoHV-1.1 desenvolveram vulvovaginite (MILLER & VAN DER MAATEN, 1984). O contato de bezerros soronegativos com vacas infectadas com um isolado genital de BoHV-1.2 resultou em doença respiratória e disseminação do vírus entre os bezerros (SMITH et al., 1980). Da mesma forma, manifestações respiratórias e genitais concomitantes têm sido descritas em surtos de infecção pelo BoHV-1.1 (PRITCHARD et al., 1997).

Os isolados de doença genital podem ser adicionalmente classificados em BoHV-1.2a e 1.2b, com base em reatividade com AcMs e REA. No entanto, a correlação desta classificação com parâmetros epidemiológicos e clínico-patológicos ainda não está bem definida (VAN OIRSCHOT, 1995). Os isolados de BoHV-1 associados com abortos pertencem principalmente ao subtipo respiratório (BoHV-1.1) e menos frequentemente ao subtipo BoHV-1.2a (EDWARDS et al., 1991; MILLER et al., 1991). Por outro lado, os isolados de BoHV-1.2b aparentemente são menos virulentos e pouco abortigênicos (WHETSTONE et al., 1989).

2.1.1 Propriedades

2.1.1.1 Morfologia e Estrutura

A partícula viral do BoHV-1 tem entre 70 e 110 nm de diâmetro e é constituída por um capsídeo icosaédrico (100nm), contendo DNA linear de fita dupla, rodeada pelo tegumento, que, por sua vez, é revestido por envelope lipoprotéico (120-200nm), no qual se localizam as glicoproteínas (BUTEL, 1992; FENNER et al., 1993).

2.1.1.2 Composição Química

Segundo Gustafson (1981), a análise química da composição dos herpesvírus requer um exame crítico do procedimento de preparação e da origem das amostras. O genoma do vírion dos herpesvírus é constituído de 70% de ácido nucléico (DULBECCO & GINSBERG, 1980) do tipo DNA de dupla cadeia (ANDREWES et al., 1978; DULBECCO & GINSBERG, 1980), sendo o conteúdo de guanina e citosina, variável entre os herpesvírus (GUSTAFSON, 1981). Os vírions dos herpesvírus são compostos, ainda, de 22% de lipídeos, principalmente de fosfolipídios, 2% de carboidratos e pequenas quantidades de poliaminas (DULBECCO & GINSBERG, 1980). O restante do vírion (capsídeo e envelope) é composto de glicoproteínas e lipoproteínas (DULBECCO & GINSBERG, 1980; GUSTAFSON, 1981).

2.1.1.3 Características Físico-Químicas

Os herpesvírus são sensíveis aos solventes lipídicos (ANDREWES et al., 1978; DULBECCO & GINSBERG, 1980, PORTERFIELD, 1989) como éter, acetona, deoxicolato de sódio e clorofórmio, que os tornam não infecciosos. São também sensíveis ao álcool etílico, éter etílico e algumas enzimas proteolíticas (GUSTAFSON, 1981). Andrewes et al. (1978), relataram que os herpesvírus são relativamente termolábeis e sensíveis a extremos de pH. O BoHV-1 é estável a uma faixa de pH entre 6.0-9.0, mas lábil a pH 4.5-5.0, são inativados por raios gama ou radiações ultravioletas (UV) (GUSTAFSON, 1981). Além disso, os vírions são sensíveis a choques osmóticos devido a aquecimento ou congelamento (PORTERFIELD, 1989).

2.1.1.4 Proteínas

Vários autores têm analisado as proteínas do BoHV-1. O número de proteínas encontradas variou de 21 a 38 (MISRA et al., 1981; METZLER et al., 1985; WYLER et al., 1989), sendo 6 delas presentes no nucleocapsídeo e duas associadas ao DNA (FENNER et al., 1993a). Atualmente, acredita-se que o número de proteínas, entre estruturais e não estruturais, fique ao redor de 70 (FENNER et al., 1993a). Destas, 12 são glicoproteínas e estão localizadas no envelope (MISRA et al., 1981; WYLER et al., 1989). Um destes peplômeros glicoprotéicos possui atividade de receptor para Fc e se liga a IgGs normais (FENNER et al., 1993a).

As glicoproteínas desempenham funções vitais no processo de infecção viral, mediando os processos de reconhecimento e adsorção às células alvo, penetração do vírion, fusão e disseminação do vírus célula a célula em cultivos celulares (ROIZMAN, 1996).

2.1.1.5 Multiplicação Viral

O processo de infecção viral inicia quando glicoproteínas do envelope viral, as principais são a gC e a gB, reconhecem e ligam-se a receptores celulares específicos de sulfato de heparina da membrana celular (ROIZMAN, 1996; BABIUK et al., 1996; MEYER et al., 1998). A adsorção do vírus à

superfície celular ativa um processo mediado por glicoproteínas virais, onde pelo menos 5 glicoproteínas (gB, gD, gH, gL e gK) estão envolvidas no processo de fusão e penetração viral, que culmina com a penetração do vírus na célula. A fusão resulta numa inserção parcial do envelope viral à membrana plasmática com formação de “dobras” na membrana. Acredita-se que o transporte do nucleocapsídeo seja feito através da glicoproteína VP22, responsável pela reorganização do sistema de microtúbulos celulares até o centrômero, perto do núcleo (WILD et al., 1998).

Os processos de transcrição e replicação do DNA viral ocorrem no núcleo das células infectadas, enquanto que a síntese protéica viral dá-se no citoplasma (ROIZMAN, 1996). A transcrição dos genes virais é regulada temporalmente, havendo três classes de RNA mensageiro (mRNA) denominadas: genes α ou “imediatamente precoces”, β ou “precoces” e γ ou “tardios”, que são transcritos pela RNA polimerase II celular (FENNER et al., 1993 a; ROIZMAN, 1996). Genes α e β codificam enzimas ou proteínas que complexam-se ao DNA viral, enquanto que a maioria dos genes γ codificam proteínas estruturais (FENNER et al., 1993a).

Os genes α são os primeiros a serem transcritos. Participam deste processo proteínas do tegumento em interação com fatores de transcrição celular. As α -proteínas iniciam o processo de transcrição dos genes β (ROIZMAN, 1996). Funcionalmente, as β -proteínas estão envolvidas na regulação da transcrição das α -proteínas (suprimindo-as) e das γ -proteínas (promovendo-as); estando envolvidas, assim (juntamente com as α -proteínas), no processo de replicação do genoma viral (FENNER et al., 1993a). Nesta fase, o DNA viral pode ser encontrado na forma de círculos ou linear. O DNA viral sintetizado é processado e “empacotado” em capsídeos imaturos recém-formados (ROIZMAN, 1996).

O processo de maturação do vírion envolve as etapas de formação do nucleocapsídeo e a associação do nucleocapsídeo com áreas da camada interna da membrana nuclear adquirindo assim, o envelope viral (FENNER et al., 1993 a). No citoplasma, vírions maduros acumulam-se dentro de vesículas, utilizando-se do Complexo de Golgi para serem exportados para o meio

extracelular, ou ocorre a dispersão das partículas virais célula à célula (ROIZMAN, 1996).

2.2 Epidemiologia

O BoHV-1 tem distribuição mundial e sua prevalência em rebanhos bovinos atinge coeficientes variados em diferentes regiões (STRAUB, 2001). No Brasil, vários trabalhos regionalizados sugerem uma ampla distribuição do BoHV-1 nos plantéis bovinos, desde a década de 1960. Os coeficientes de soropositividade variam de 10,6% a 96% (LOVATTO et al., 1995; VIDOR et al., 1995; LAGE et al., 1996; TONIN et al., 1996; MELO et al., 1997; VIEIRA et al., 2003).

O principal reservatório do BoHV-1 são os bovinos. A relevância do papel dos ovinos como reservatório do vírus é discutida, pois, sabe-se que esta espécie é susceptível a infecção por este vírus, podendo desenvolver anticorpos contra o mesmo e liberar partículas virais. Um trabalho recente (HAGE et al., 1997) demonstrou que a transmissão do ovino para o bovino é muito mais difícil que de bovino para bovino, embora não seja impossível. Além dessas duas espécies, também podem se infectar caprinos, suínos, leporinos e os búfalos indianos, todos aparentemente sem importância epidemiológica significativa. O coelho, por seu baixo custo e facilidade de manejo, é hoje o animal de laboratório de eleição para estudos com herpesvírus, seguido pelo ovino (KAHRS, 1977).

Em relação ao sexo, raça e idade dos bovinos envolvidos, pode-se afirmar que todas as raças e idades, independentes do sexo, são susceptíveis à infecção. Entretanto, o trabalho de Melo (1998), desenvolvido em Minas Gerais, demonstrou uma alta prevalência de animais sororeagentes em duas faixas etárias distintas: zero a seis meses e acima de 18 meses. Esse resultado demonstra a transferência de imunidade passiva que ocorre na faixa etária mais jovem (o que é relevante quando se considera questões de interferência no diagnóstico sorológico) e, em relação ao crescente número de animais reagentes a partir do 18^o mês de vida, demonstra o maior grau de exposição ao BoHV-1, provavelmente pela introdução de bovinos soronegativos nos lotes

de produção, onde o animal portador está eliminando o vírus em suas secreções.

Segundo Kahrs (1977), o período de incubação do vírus varia de 2 a 6 dias, enquanto relatos de Gustafson (1981) salientam o aparecimento da doença de 10 dias a várias semanas após animais de diferentes origens haverem sido transportados juntos.

A transmissão do BoHV-1 pode ocorrer de forma direta e indireta. A forma direta, envolvendo o contato entre bovinos infectados e susceptíveis, destacando-se o contato de mucosas e de secreções, é a principal via de transmissão. Esta forma ocorre facilmente, pois grandes quantidades de vírus são liberadas nas secreções respiratórias, oculares e reprodutivas pelos animais infectados, especialmente durante as fases iniciais da evolução clínica. O vírus se perpetua entre as populações bovinas mediante o contato dos animais susceptíveis com estas secreções (monta natural, inalação de partículas de aerossóis, lambedura das secreções) provenientes dos bovinos doentes ou portadores assintomáticos do vírus que desenvolveram infecções latentes e que estão eliminando o vírus, devido a fatores imunodepressores (MARS et al., 1999).

Certas condições de manejo podem favorecer esta transmissão, especialmente aglomerações e reuniões de animais de diversas procedências (leilões, exposições, torneios) e a mistura de faixas etárias. Para as formas genitais do BoHV-1 (IPV/IBP), a monta natural é a principal forma de contágio, para ambos os sexos. Embora o contato entre a secreção contaminada pelo BoHV-1 e a mucosa do bovino susceptível seja a forma mais segura de se transmitir esse vírus, a transmissão indireta, através do ar, já foi demonstrada, ao menos em condições experimentais, podendo assumir papel importante na disseminação do vírus nas condições acima citadas (MARS et al., 1999).

Outra via de transmissão direta do vírus que se observa é a transmissão vertical (transplacentária), ou seja, a transmissão entre a vaca gestante e o feto. Nesta forma, a transmissão intra-uterina poderá ocorrer a qualquer tempo, porém, os abortos são mais frequentes na segunda metade da gestação. A

probabilidade de o feto infectar-se depende do estado imunológico materno, tanto no que se refere à imunidade geral como em relação à imunidade específica contra o vírus, com ênfase para a imunidade celular. Uma vez infectado, são muito grandes as chances de ocorrer morte fetal e aborto. Em propriedades onde os animais não são imunizados e o BoHV-1 ingressa, são observados surtos de abortos que podem passar de 50% das vacas gestantes. Já em fazendas onde a virose é endêmica são observados índices de abortos variáveis com tendência a um índice médio ao redor de 10%. Discute-se, ainda, a possibilidade de a placenta materna ser o ponto de liberação do vírus para o feto, porém, esses mecanismos ainda não estão bem claros (HIRSCH & FIGUEIREDO, 2000).

A transmissão iatrogênica (propiciada pelos procedimentos médicos nos animais), outra forma de transmissão indireta, também já foi observada, por meio de exames ginecológicos em vacas utilizando-se instrumental contaminado por secreções de vacas infectadas, além de infecções genitais em touros decorrentes do uso de esponjas e outros materiais na limpeza do prepúcio. Também pode ser considerada como transmissão iatrogênica a infecção de bovinos pelo uso indiscriminado de vacinas atenuadas (contendo como antígeno o vírus vivo, porém modificado de modo a abrandar sua virulência). O bovino que recebe este tipo de vacina não só se infecta, como também desenvolve infecção latente, aborto (no caso de vacinação de vacas prenhes) e liberação de partículas virais infectantes e potencialmente patogênicas no meio ambiente. Exceção a este tipo de vacina é a produzida com amostras de vírus mutantes termossensíveis, que não conseguem estabelecer infecção persistente nos animais vacinados, não causam aborto e nem liberação viral no meio ambiente (HIRSCH & FIGUEIREDO, 2000).

Uma forma especialmente importante de transmissão é a inseminação artificial. O sêmen de touros pode ser contaminado pelas secreções prepuciais e uretrais durante a colheita e, ao ser depositado na mucosa uterina ou cervical durante o ato de inseminação, certamente infectará a vaca. Além disso, touros portadores do BoHV-1 (em latência) podem eliminá-lo no sêmen, de forma intermitente, ao sofrer baixa de imunidade. Ao ser depositado no útero da

vaca, o vírus acarretará endometrite temporária que resultará na perda do embrião recém gerado, reduzindo sobremaneira o índice de concepção no lote que utilizou este sêmen (HIRSCH & FIGUEIREDO, 2000).

O congelamento do sêmen no nitrogênio líquido não destrói o vírus e o manterá estável por muitos anos. Por outro lado, como é comum a diluição do sêmen para aumentar o número de doses por colheita, uma partida inteira pode estar contaminada. Outro fator importante é que o touro infectado pode não estar manifestando nenhum sintoma, mas estar liberando o vírus nas secreções. Por outro lado, a transferência de embriões é considerada uma técnica de baixo risco de transmissão do BoHV-1, pois estudos têm demonstrado que os procedimentos de lavagem do embrião reduzem drasticamente as chances de manutenção do vírus neste material biológico. No entanto, deve-se ter cuidado com os materiais ginecológicos, obstétricos ou cirúrgicos utilizados neste processo, a fim de se evitar a contaminação por secreções genitais (HIRSCH & FIGUEIREDO, 2000).

A transmissão indireta por meio da água, alimentos, cochos, instalações e outros materiais também ocorrem, embora provavelmente tenha importância secundária, quando comparada com a transmissão direta. No entanto, é importante que se leve em consideração esta forma de disseminação viral no momento de montar-se um programa de controle ou prevenção. A probabilidade de que esta forma de contágio venha a ocorrer está relacionada com a contaminação ambiental, ou seja, dependem muito do nível de higiene observado na propriedade no que tange ao manejo de dejetos, qualidade do ar, alimentos e da água (HIRSCH & FIGUEIREDO, 2000).

A ocorrência de novos casos da enfermidade nas populações sensíveis expostas é gradual, ocorrendo novos casos durante vários dias ou semanas após o início do processo. Este comportamento se observará até que praticamente todos os animais já tenham tido contato com o vírus e desenvolvam imunidade contra o mesmo. Este intervalo pode ser notavelmente prolongado em rebanhos maiores, nas propriedades em que são introduzidos animais sensíveis de forma contínua ou quando o contato entre os lotes de

bovinos é menor, como, por exemplo, em criações de corte extensivas (HIRSCH & FIGUEIREDO, 2000).

Existem fatores de risco associados à disseminação da doença. Mas, segundo diversos autores (VAN SCHAIK et al., 1998; VAN SCHAIK et al., 2002; BARBOSA et al., 2005; SOLIS-CALDERON et al., 2005), o mais importante é a introdução no rebanho de animais em período de incubação, em fase aguda ou latentemente infectados pelo vírus. Animais mais velhos são mais frequentemente infectados, por terem maior probabilidade e tempo de contato com o vírus; machos são mais frequentemente positivos que as fêmeas; quanto mais denso o rebanho maior a disseminação na propriedade; e a participação do gado em leilões e feiras agropecuárias aumenta a probabilidade de contato com animais infectados (VAN SCHAIK et al., 2002; VONK NOORDEGRAAF et al., 2004; BARBOSA et al., 2005; BOELAERT et al., 2005; SOLIS-CALDERON et al., 2005).

2.3 Patogenia

A principal fonte de infecção do BoHV-1 é a espécie bovina (KAHRS, 1997). As principais portas de entrada do vírus são a mucosa respiratória ou genital e o epitélio conjuntival (TAKIUCHI et al., 2001; MUYLKENS et al., 2007). A replicação primária do vírus ocorre nas células epiteliais, bem como em células da submucosa e tecido conjuntivo (PASTORET et al., 1982), podendo permanecer nas secreções nasais e linfonodos do trato respiratório por mais de 9 dias (MCKERCHER, 1963). Após a infecção primária, ocorre viremia transitória, raramente detectada (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977), que precede o aparecimento de anticorpos específicos no animal (PASTORET et al., 1982). A partir das mucosas, o vírus é transportado por monócitos por via hematogena, a órgãos alvo incluindo sistema nervoso, trato digestivo ou feto (WYLER et al., 1989). Paralelamente, as células de Langerhans mobilizam os antígenos virais da epiderme para os linfonodos periféricos, dando início à resposta do sistema imune frente à infecção (SPRECHER & BECKER, 1993).

Os herpesvírus são epiteliotrópicos, multiplicando-se inicialmente nas mucosas da região naso-oro-faringeana. A subsequente disseminação do

BoHV-1 para as terminações nervosas dos ramos maxilar e mandibular do nervo trigêmeo é a rota mais provável para a infecção do sistema nervoso central (BAGUST & CLARK, 1972), onde provocam o desenvolvimento de meningoencefalite (BAGUST & CLARCK, 1972; FLORES et al., 1998).

O crescimento dos herpesvírus causa distúrbios na arquitetura celular, com o aparecimento de inclusões intranucleares, marginação da cromatina e destruição dos nucléolos. Uma massa basofílica desenvolve-se centralmente no núcleo, e corresponde ao acúmulo de DNA recentemente sintetizado. Com o movimento das partículas virais do núcleo para o citoplasma, o corpúsculo originalmente basofílico torna-se eosinofílico. Assim, o corpúsculo de inclusão eosinofílico encontrado em células infectadas, não contém partículas virais específicas, mas é, na realidade, o remanescente de um sítio de produção viral extinto. Os vírus adquirem o envelope quando brotam através da membrana nuclear, causando a morte celular (FENNER et al., 1993).

2.3.1 Latência

O herpesvírus é capaz de estabelecer infecções latentes em gânglios nervosos, onde o DNA viral pode persistir na forma epissomal, isto é, não integrada ao genoma celular, nos núcleos das células nervosas. Assim, animais latentemente infectados servem de reservatório natural para o vírus durante toda a vida (DEVIREDDY & JONES, 1998). O DNA epissomal pode ser detectado em aproximadamente 1% dos neurônios ganglionares, com 20 a 100 cópias por célula (OSORIO, 1998). Este estado pode durar anos, mantendo-se viável a replicação viral após o processo de reativação do vírus (SALVADOR, 1997). O vírus pode ser reativado por uma ampla variedade de estímulos imunodepressivos, tais como estresse, parto, variações bruscas de temperatura, transporte, vacinação, ou ainda tratamento sistemático com corticoesteróides, fatores responsáveis pela perpetuação e transmissão do vírus no rebanho (ROIZMAN, 1996).

Os mecanismos de latência e reativação são característicos dos Alphaherpesvirus (FENNER et al., 1993). Após a multiplicação no local da infecção, o vírus penetra pelos neurônios que enervam a região onde ocorreu a

infecção primária, sendo provavelmente transportado pelo fluxo retrógrado do axônio, movendo-se ao longo dos nervos sensoriais em direção aos gânglios trigêmeo ou sacral (NARITA et al., 1981).

Nos corpos neuronais, o vírus replica-se rapidamente causando a morte celular e em alguns neurônios a expressão dos genes α é suprimida. Posteriormente, a sequência da expressão gênica é interrompida e o vírus estabelece infecção latente (FLORES, 1996). Aproximadamente 50% dos gânglios da região afetada abrigam o DNA viral (ACKERMANN & WYLER, 1984).

Durante a latência, são produzidos 2 ou 3 transcritos associados à latência (LAT), porém não são produzidos antígenos virais. A produção desses transcritos parece não ser essencial para o estabelecimento ou manutenção da infecção latente (FENNER et al., 1993). Entretanto, os LATs são importantes para melhorar a eficiência do ciclo latência-reativação (OSORIO, 1998).

Todas as amostras de herpesvírus, inclusive amostras vacinais atenuadas, podem induzir latência (WYLER et al., 1989). Nenhuma vacina é capaz de prevenir o estabelecimento de latência após desafio com o vírus infeccioso. No entanto, algumas vacinas podem auxiliar na redução tanto na incidência como na quantidade de vírus reexcretado na reativação (ROSSI et al., 1982).

É possível que uma forma sub-viral, provavelmente somente o DNA viral, seja replicada e passe intimamente do axônio para junções neuro-epidermais, produzindo então vírus infeccioso. Periodicamente, a produção de vírions infecciosos seria reativada, sendo que estes se moveriam via nervo sensorial até as membranas da mucosa ou pele, onde ocorreria replicação nas células epiteliais e posterior excreção do vírus. É discutível se a reativação do vírus latente está associada com o desenvolvimento de lesões ou doença clínica, porém a reativação e reexcreção do vírus constituem o mecanismo pelo qual o vírus se mantém na população bovina. Para a manutenção do estado de latência, após a reativação, genomas virais retornam via axônio e se instalam novamente nos neurônios sensoriais (FENNER et al., 1993).

2.4 Sinais Clínicos e Lesões

2.4.1 Forma Respiratória e Conjuntivite

O herpesvírus bovino tipo 1.1 (BoHV-1.1) causa uma enfermidade denominada rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR). A IBR é usualmente restrita ao trato respiratório superior, podendo ocasionalmente se estender aos brônquios e pulmões (KARHS, 1977).

A IBR pode apresentar-se de forma subclínica, leve ou severa, com cerca de 100% de morbidade podendo chegar, embora raramente, a cerca de 10% de mortalidade. Os sinais clínicos iniciais incluem depressão, inapetência, febre, descarga nasal, inicialmente serosa e posteriormente mucopurulenta devido à infecção secundária por bactérias. A mucosa nasal se torna hiperêmica e as lesões podem ser de difícil visualização, progredindo de pústulas locais a grandes áreas superficiais, hemorrágicas, que são cobertas por uma membrana diftérica. Pode haver dispnéia, respiração pela boca, salivação e um profundo ruído brônquico. Casos agudos podem durar de 5 a 10 dias (FENNER et al., 1993).

A conjuntivite, causada pelo BoHV-1.1, geralmente acompanhada da forma respiratória, caracteriza-se por secreção ocular profusa, inicialmente serosa e posteriormente mucopurulenta, além de opacidade da córnea na região próxima à conjuntiva. Ocasionalmente observam-se na conjuntiva pústulas e placas de material necrótico. A evolução é de 5 a 10 dias (RIET-CORREA et al., 1996).

A conjuntivite por BoHV-1 pode ser confundida com queratoconjuntivite de origem bacteriana. No diagnóstico de conjuntivite associada à IBR, as opacidades são pequenas, manifestando-se geralmente na junção corneoescleral, em contraste com o observado na queratoconjuntivite causada por *Moraxella bovis*, onde a opacidade de córnea se origina do centro para a periferia (KAHRS, 1977). Lesões erosivas do epitélio do trato respiratório superior de animais infectados com o vírus, histologicamente mostram necrose focal do epitélio, intensa infiltração de neutrófilos e ocasionais inclusões intranucleares nas células epiteliais da periferia (HIGGINS & EDWARDS, 1986).

2.4.2 Forma Reprodutiva

A forma genital da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1.2 (BoHV-1.2) manifesta-se nas fêmeas por vulvovaginite pustular infecciosa (IPV). A IPV desenvolve-se de 1 a 3 dias após a monta e é dolorida (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977). Os primeiros sinais são micção frequente, com elevação e movimentação da cauda (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977; MOHANTY & DUTTA, 1981), para evitar o contato com a vulva edematosa e hiperêmica e com pequenas pústulas distribuídas na superfície da mucosa (FENNER et al., 1993). As pústulas possuem cerca de 1 a 2 mm de diâmetro, e podem formar placas fibrinosas amareladas, que irão se desprender e formar escaras (WYLER et al., 1989). As lesões cicatrizam-se em torno de 10 a 14 dias (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977).

Segundo Miller (1991) e Lovato et al. (1995b), o sêmen contaminado, quando introduzido no útero, causa endometrite necrosante que pode produzir infertilidade temporária. O vírus também causa severa lesão necrosante nos ovários, principalmente se a infecção ocorre na época da ovulação. O desenvolvimento do corpo lúteo pode ser prejudicado, interrompendo os ciclos estrais subsequentes, que voltam ao normal em torno de 2 meses após a infecção. Este processo tem uma evolução de 4 a 7 dias (RIET-CORREA et al., 1996).

Nos machos, a balanopostite pustular infecciosa (IPB) ocorre de forma clínica ou subclínica (FENNER et al., 1993, VAN OIRSCHOT, 1995). Após um período de incubação de 1 a 3 dias, a mucosa do pênis e prepúcio tornam-se hiperêmicas. Surgem pontos escuros-avermelhados que tendem a formar nódulos, vesículas e pústulas. Estas lesões podem coalescer formando placas, úlceras e infecções bacterianas secundárias, resultando em uma descarga prepucial purulenta. A IPB pode ser acompanhada por febre, depressão e perda de apetite (VAN OIRSCHOT, 1995).

Partículas virais presentes nas lesões da IPB podem passar ao sêmen, o qual se constitui um importante meio de transmissão, liberando grandes quantidades do vírus (WEIBLEN et al., 1992b). Sêmen de animais com IPB

possuem redução da mobilidade e anormalidades morfológicas dos espermatozoides (VAN OIRSCHOT, 1995). A infecção do pênis muitas vezes leva à aderência peniana (WEIBLEN et al., 1991).

O aborto é uma possível seqüela de qualquer uma das formas da enfermidade por BoHV-1, inclusive de infecções subclínicas (WEIBLEN, 1992a). Geralmente, a taxa de aborto não supera 25% (KAHRS, 1977; WEIBLEN, 1992a). Após a infecção, os abortos podem ocorrer em qualquer período da gestação, variando de 8 dias à meses (KAHRS, 1977), embora sejam mais frequentes no terço final da gestação (MILLER, 1991; WEIBLEN, 1992a).

Em rebanhos soronegativos, altos índices de abortos são reportados. As vacas prenhes podem apresentar sinais clínicos de conjuntivite, rinotraqueíte ou vulvovaginite, ou não manifestar sinais clínicos. Os fetos podem ser expelidos durante a ocorrência de surtos das outras formas da doença ou até 100 dias depois do surto (KAHRS, 1977). O aborto frequentemente é seguido por retenção de placenta. Os animais podem nascer mortos ou morrerem poucos dias após o nascimento.

Dependendo do período de gestação, as infecções por BoHV-1 podem determinar quadros de endometrite, ooforite, mortalidade embrionária com retorno ao cio, mortalidade fetal com aborto, mumificação (raro), natimorto, nascimento de animais fracos e mortalidade neonatal (ALFIERI, 1999). Endometrite, baixa taxa de concepção e estros curtos podem ocorrer após inseminação artificial com sêmen infectado (PARSONSON & SNOWDON, 1975).

Microscopicamente, observa-se necrose focal e ocasionalmente corpúsculos de inclusão intranucleares no fígado, rins e glândulas adrenais. O vírus pode ser isolado da placenta, líquidos e órgãos fetais (RIET-CORREA et al., 1996).

2.4.3 Forma Sistêmica Neonatal

Esta forma da doença manifesta-se em terneiros recém-nascidos, infectados no útero no final da gestação, durante o parto ou em seguida ao

nascimento, sendo invariavelmente fatal (KAHRS, 1977). Os animais infectados desenvolvem lesões necróticas no sistema digestivo, principalmente no fígado e também linfonodos. Frequentemente há comprometimento do trato respiratório, com sinais clínicos e lesões típicas da forma respiratória (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977).

2.5 Imunologia

As discussões sobre o papel da imunidade humoral e imunidade mediada por células nas infecções por herpesvírus têm sido relatadas desde a década de 70 (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977). A imunidade mediada por células é efetivamente de maior importância para o desenvolvimento de uma resposta protetora precoce ao BoHV-1 (FELDENS, 2000). Fenner et al. (1993a), relataram que são três os principais mecanismos de resposta às infecções virais: destruição de células infectadas, produção de interferons e neutralização da infectividade da progênie de vírus produzida durante o processo infeccioso.

O principal mecanismo de imunidade específica contra infecções virais estabelecidas é desempenhado por linfócitos T citotóxicos (LTC) que apresentam marcadores CD8+. Os LTC CD8+ reconhecem antígenos virais processados no interior das células em associação com moléculas do complexo de histocompatibilidade principal classe I (MHC-I), presentes em todos os tipos de células nucleadas. Os LTC induzem a lise das células infectadas pelo vírus, estimulando enzimas intracelulares que degradam o genoma viral, bem como a secreção de citocinas com atividade de interferon (IFN) (ABBAS et al., 1994). O mecanismo citotóxico dos LTC é desencadeado pelo contato do complexo receptor de células T (RCT) desta célula com o MHC da célula alvo. Este reconhecimento leva a emissão de sinais transmembrana que ativam uma variedade de funções da célula T. Ocorre a adesão entre as duas células, com a degranulação do LTC, sendo a perforina liberada no meio extracelular. Na presença de íons Ca ++, a perforina sofre polimerização e se insere na membrana plasmática da célula alvo, causando um desequilíbrio hidroeletrolítico que leva à lise celular.

Outro mecanismo de lise por LTC envolve a fragmentação do DNA, mediada por endonucleases, levando a apoptose (SCROFERNEKER et al., 1996).

O mais potente sinal natural para a produção de IFN são as secreções virais. A infecção viral estimula diretamente a produção de IFN α pelas células infectadas, sendo o mais potente sinal para a síntese de citocinas. O IFN α possui três atividades principais: induzir as células adjacentes a um estado antiviral pela resistência à infecção viral e inibição da replicação viral, ativar o potencial lítico das células “Natural Killer” (NK) e aumentar a expressão de moléculas da classe I do MHC nas células infectadas por vírus (ABBAS et al., 1994).

Na imunidade humoral, a resposta primária é caracterizada pela formação de anticorpos das classes IgM e IgG, que são detectados aos 7 ou 8 dias após a infecção. A subclasse de IgG predominante é a IgG1, sendo que anticorpos IgG2 são também formados em baixa concentração. Na resposta secundária, em animais com sinais clínicos de rinotraqueíte, são identificados somente anticorpos da classe IgG. Animais onde se induz aborto, apresentam também uma elevação de IgM (FELDENS, 2000).

A produção de anticorpos neutralizantes contra o BoHV-1 pode ser detectada entre 8 a 12 dias pós infecção, podendo persistir por até 5 anos (GUY & POTGIETER, 1985). Kahrs (1977) relatou que os anticorpos adquiridos pelo colostro podem ser medidos nos soros de terneiros de até 1 mês de vida, pois seus níveis diminuem rapidamente devido à rápida degradação metabólica. Entretanto, a persistência desta imunidade varia de terneiro para terneiro, e em alguns casos os anticorpos passivos foram detectados até os 4 a 6 meses de idade (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977).

2.6 Situação da Infecção pelo Herpesvírus Bovino Tipo-1

2.6.1 Situação no Mundo

O BoHV-1 apresenta distribuição mundial (KAHRS, 1977; GUSTAFSON, 1981; PORTERFIELD, 1989, WEIBLEN et al., 1992b) sendo reconhecido como

responsável por severas perdas econômicas em rebanhos de corte e de leite (SMITH et al., 1995, VAN OIRSCHOT, 1998).

Na América do Norte, as infecções pelo BoHV-1 são frequentes e muito prevalentes. A forma predominante da doença envolve o trato respiratório e infecções uterinas, enquanto que as formas genitais, comumente descritas na Europa, são raras na América do Norte. As formas encefálicas, geralmente vistas na América do Sul, são esporádicas na América do Norte e Europa (OSORIO, 1998).

Em países da Comunidade Européia, as infecções pelo BoHV-1 apresentam prevalência variada. Em alguns países está em processo de erradicação, enquanto outros apresentam prevalências entre 20 e 90% (VAN OIRSCHOT et al., 1996). Áustria, Dinamarca, Finlândia, Noruega, Suécia e Suíça são países considerados livres de BoHV-1 (VAN OIRSCHOT, 1998).

Na Holanda e Bélgica, 60-90% dos rebanhos parecem conter ao menos alguns bovinos infectados. Na Holanda aproximadamente 50% dos bovinos adultos são soropositivos ao BoHV-1 (VAN OIRSCHOT, 1998). Já Van Wuijckhuise et al. (1998), na Holanda, testou amostras de leite para a presença de anticorpos contra BoHV-1 pela técnica de ELISA, onde encontrou 84% dos rebanhos positivos. O grau de infecção em muitos outros países europeus é baixo. Na França somente 20% dos rebanhos parecem estar infectados; na Alemanha isto já variou entre 30-50%, e na Inglaterra estima-se que 50% dos rebanhos estejam infectados (VAN OIRSCHOT, 1998).

No período de 1979 a 1990 foram realizados testes sorológicos em 2 laboratórios na Itália para evidenciar anticorpos contra o BoHV-1 nas amostras de soro de 25.129 animais. Essas amostras foram coletadas de animais pertencentes a 1.345 propriedades do país que apresentavam a infertilidade como um problema endêmico. Foram detectados anticorpos em 65% das propriedades e 49% dos animais em cada ano estudado, por meio da técnica de soroneutralização (CAVIRANI et al., 1992).

Em um estudo realizado por Stilwell et al. (2007) em rebanhos de corte na Região de Ribajeto – Portugal utilizando o ensaio imunoenzimático em 136 amostras de vacas adultas e 73 amostras de vitelos, filhos destas vacas, foi

demonstrado soroprevalência alta nas vacas (50%) e vitelos (41%), com maior prevalência de anticorpos para os vitelos mais jovens.

Na América do Sul, estudos sobre prevalência de BoHV-1, têm revelado uma distribuição variada do agente (13-68%) empregando-se diferentes métodos sorológicos (ROEHE et al., 1998).

Na Argentina, em estudos soropidemiológicos realizados em várias regiões do país, determinou-se que 100% das propriedades possuam animais soropositivos, com prevalência entre 32,3% e 56,7% (ODEON, 1998). Galarza e Periolo (1983) realizaram na província de Formosa, inquérito sorológico para BoHV-1 em 2.140 amostras, revelando pela imunofluorescência indireta prevalência de 48,13%. Fort et al. (1996), na província de La Pampa, utilizando a técnica de ELISA estudaram a prevalência de BoHV-1 em animais menores de 1 ano, de 1 a 2 anos e maiores de 2 anos, encontrando respectivamente em 1.930 amostras, 17%, 30% e 68% de amostras positivas.

No Chile, Hochstein-Mintzel et al. (1986), analisaram 21 rebanhos bovinos pela técnica de soroneutralização, encontrando 47,2% (714/1512) de amostras positivas ao BoHV-1. Riedemann et al. (1996), examinaram 2.864 amostras pela mesma técnica, encontrando prevalência de 41%.

No Peru, Andrade et al. (1967), estudaram a prevalência de BoHV-1 em várias regiões, através da técnica de soroneutralização, detectando 4,39% (35) de amostras reagentes de um total de 797 amostras. Fondevila et al. (1981) pesquisaram em 2.380 amostras de soro sanguíneo provenientes de 119 rebanhos de diversas regiões, anticorpos contra BoHV-1 através da técnica de soroneutralização. Foi observado que em todos os rebanhos haviam animais infectados, com prevalência de 43,3% para animais com idade inferior a 2 anos e de 54,3% para animais com idade superior a 2 anos.

Na Colômbia, os levantamentos sorológicos do BoHV-1 em bovinos revelam uma distribuição variável segundo a região do país, com valores de 13% a 16,6% (ZUÑIGA et al., 1978) e 50% (GRIFFITH et al., 1982).

2.6.2 Situação no Brasil

O primeiro isolamento no Brasil do BoHV-1 foi realizado 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 de rim de feto bovino colhido em matadouro. Em 1979, no mesmo Estado, Muller et al. (1979), isolaram o vírus a partir de swabes vaginais, pústulas nasais e fígado, de material proveniente de um surto da doença. Galvão (1985) isolou o BoHV-1 de 51% das 162 amostras proveniente de 315 animais de Minas Gerais, utilizando muco cérvico vaginal, raspados vaginais e prepuciais.

Estudos recentes têm demonstrado que a infecção pelo vírus está amplamente difundida no rebanho bovino do Brasil. (LOVATTO et al., 1995a; VIDOR et al., 1995; LAGE et al., 1996; TONIN et al., 1996; MELO et al., 1997; VIEIRA et al., 2003). No Estado de São Paulo, Muller et al. (1981), avaliaram 384 amostras de soro sanguíneo de bovinos, através das reações de soroneutralização em tubo, demonstrando prevalência de 42,18%. Apesar de não haver uma distribuição uniforme e da pequena amostragem utilizada, concluiu-se que o vírus está presente no rebanho paulista.

Alguns autores realizaram avaliação sorológica em touros de centrais de inseminação artificial no Brasil, demonstrando elevada prevalência de soropositivos ao BoHV-1. Pituco (1988), em centrais de inseminação de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul, verificaram 72,5% (95) de animais soropositivos de um total de 131 animais, pela técnica de soroneutralização. Rocha et al. (1994), em uma central de inseminação artificial, utilizando a mesma técnica, encontraram 63,15% (36) de amostras positivas de um total de 57 amostras. A Seção de Febre Aftosa, do Instituto Biológico de São Paulo (1988) diagnosticou, no período de janeiro de 1997 a fevereiro de 1998, 517 soros de touros, sendo 59,9% (310) de amostras positivas (DEL FAVA & PITUCO, 1998).

Dados da Seção de Febre Aftosa, do Instituto Biológico de São Paulo, referentes ao período de 1988 a 1997, demonstraram 37% (11.162) de amostras soropositivas de um total de 30.151 amostras, provenientes de rebanhos com problemas reprodutivos dos Estados de Santa Catarina, Paraná,

São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Distrito Federal, Alagoas e Ceará (DEL FAVA & PITUCO, 1998).

Em um levantamento sorológico realizado no período de 1988 a 1992, Pituco et al. (1993) utilizando a técnica de soroneutralização, evidenciaram diferentes percentagens de positivos em vários Estados brasileiros. Os resultados demonstram que, no período estudado, em São Paulo, 1.296 de 2.967 (43,6%) amostras apresentaram anticorpos contra BoHV-1; no Paraná 96 de 489 (19,7%); em Minas Gerais 113 de 210 (53,8%); no Rio Grande do Sul 66 de 94 (70,2%); no Mato Grosso do Sul 38 de 71 (53,5%); no Rio de Janeiro 31 de 49 (63,2%); na Bahia 17 de 20 (85%) e em Santa Catarina 0 de 10 (0%). Este levantamento permitiu conhecer-se a real ocorrência desta enfermidade nas diferentes regiões do país.

Moreira et al. (2001), em trabalho realizado em 01 propriedade do município de Viradouro, estado de São Paulo, monitoraram ao longo de 8 meses, títulos de anticorpos neutralizantes para o BoHV-1, em soros sanguíneos de 34 bezerros nascidos de vacas que estavam ou não infectadas naturalmente pelo vírus e que foram ou não revacinadas contra IBR antes do parto. Os resultados do estudo demonstraram que nos grupos de bezerros nascidos de vacas reagentes e não vacinadas os anticorpos de origem colostrar persistiram em média, até os 3 meses de idade. Já bezerros nascidos de vacas vacinadas, independentemente de estarem infectadas ou não, apresentaram médias de títulos de anticorpos maiores que as médias demonstradas por bezerros provenientes de vacas não vacinadas.

Nogueira et al. (1986) diagnosticaram um surto de IBR/IPV no Rio de Janeiro, com isolamento do vírus a partir de um surto de doença respiratória e reprodutiva em 22 vacas leiteiras.

No Rio Grande do Sul, o vírus foi isolado pela primeira vez em 1990 a partir de swabe prepucial e do sêmen de touros de uma central de inseminação artificial, os quais apresentavam hiperemia, pequenas erupções e exsudato mucopurulento na mucosa peniana (WEIBLEN et al., 1991). Embora não haja uma explicação definitiva da forma como ocorreu a transmissão deste vírus, os sinais clínicos foram observados aproximadamente 30 dias após a introdução

de novos touros na estação (WEIBLEN et al., 1991). Têm sido diagnosticados no Estado surtos de IBR (RIET-CORREA et al., 1989), balanopostite (WEIBLEN et al., 1991; 1992b) e vulvovaginite pustular infecciosa (CANABARRO et al., 1993).

Em fevereiro de 1993, no município de Pinhal Grande, no Rio Grande do Sul (RS), foi descrito um surto de uma enfermidade caracterizada por lesões vulvares, repetição de cio e infertilidade. Swabes vaginais de 20 animais afetados foram coletados em 5 propriedades da região e processados em laboratório, sendo isolado o BoHV-1 de 4 amostras. A provável causa da introdução do vírus na propriedade foi a utilização de um touro durante a estação de monta, motivada pela ausência do serviço de inseminação artificial naquele período (LOVATO et al., 1995a).

No ano de 1996 o BoHV-1 foi novamente isolado de animais apresentando sinais clínicos de IBR. Este caso ocorreu no município de São Borja, onde 30 novilhas de um mesmo rebanho apresentaram descarga nasal e dificuldade respiratória. Foram coletados swabes de 8 animais e o vírus foi isolado de uma amostra (LOVATO, 1998).

A frequência de anticorpos contra o BoHV-1 no RS indica que o vírus está bastante difundido (RAVAZZOLO et al., 1989; LOVATO et al., 1995a). Wизigmann et al. (1972), analisando amostras de soro sanguíneo de 229 bovinos de 11 municípios, encontraram frequência de 33% de animais reagentes à soroneutralização para o BoHV-1. Ravazzolo et al. (1989), demonstraram a evidência do BoHV-1 em 19 municípios do Rio Grande do Sul, através de um estudo onde foram examinadas 526 amostras de soro bovino através da técnica de soroneutralização em microplaca. No referido estudo, foram detectados 81,75% de animais sorologicamente positivos, o que sugere uma ampla distribuição da doença no Estado.

Estima-se que cerca de 10% da população bovina do Rio Grande do Sul, ou seja, aproximadamente 1,2 milhões de cabeças, já teve contato com o BoHV-1 (ROSA et al., 1992).

De Stefano et al. (1993) utilizando amostras de soro do município de Ibirubá (RS), obteve 17,2% de amostras positivas de um total de 448 amostras

testadas. As amostras foram coletadas em 16 propriedades da região e para determinação dos títulos de anticorpos contra o BoHV-1 foi utilizada a prova de soroneutralização.

Sorologia realizada em 7.956 animais do rebanho bovino leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul demonstrou uma prevalência de 18,8% de amostras positivas ao BoHV-1, 54,5% (371) das 684 propriedades com animais infectados e 91,9% (91) dos 99 municípios com pelo menos um animal positivo. (LOVATO et al., 1995a). As amostras de soro utilizadas no inquérito sorológico citado acima foram coletadas em 99 municípios das 9 bacias leiteiras do Estado do Rio Grande do Sul no período de 1990 a 1993. Esta prevalência foi considerada baixa, quando comparada a outros trabalhos realizados no país.

Vidor et al. (1995) relataram a presença de anticorpos neutralizantes para o BoHV-1 em 31,9% (747) de um total de 2.341 soros examinados, provenientes de rebanhos de gado de corte com história de doença reprodutiva. Krahl et al. (1997), utilizando a técnica de soroneutralização, encontraram 29,3% (534) de animais positivos, de um total de 1.823 animais e 61,5% das 265 propriedades examinadas com, pelo menos, um animal positivo ao vírus. Entretanto, a conclusão final desses trabalhos é a mesma: de que o BoHV-1 encontra-se disseminado no rebanho bovino de vários Estados brasileiros.

Quincozes et al. (2003), fizeram um levantamento de 2.314 amostras de soro bovino, no período de janeiro de 1987 a setembro de 2003, visando detectar anticorpos contra o BoHV. Os rebanhos pertenciam a 132 propriedades de 17 municípios do sul do RS, e apresentavam distúrbios reprodutivos. Os anticorpos foram testados pelo teste de soroneutralização, em células Madin Darby Bovine Kidney (MDBK), frente a 100 doses infectantes (DI) 50% da amostra de vírus padrão Los Angeles. Foram detectadas 34,6% (800) de amostras positivas ao vírus, com 77,2% (102) propriedades diagnosticadas positivas.

Quincozes et al. (2007), estimaram a prevalência e determinaram os principais fatores associados à infecção pelo BoHV-1 e BoHV-2 no rebanho bovino dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí, na região sul do

estado do Rio Grande do Sul. Amostras de soro foram submetidas à prova de SN. Estas foram coletadas em 85 propriedades, cujos animais apresentavam ou não sinais clínicos de infecção pelos BoHV. Das 1.734 amostras de soro analisadas, 540 (31,14%) foram positivas com a detecção de bovinos sorologicamente positivos em 72 (84,70%) propriedades. Dentre os fatores avaliados, exploração mista, criação extensiva, realização de ordenha mecânica, uso de inseminação artificial ou de inseminação artificial associada à monta natural, uso de piquete de parição, ausência de assistência veterinária e idade, apresentaram significância estatística ($P < 0,05$) associada à soropositividade. Os resultados obtidos demonstram a expressiva disseminação do BVDV no rebanho bovino dessa região do Rio Grande do Sul.

No Paraná, município de Palotina, Barros Filho et al. (1997), avaliaram a ocorrência de bovinos soropositivos ao BoHV-1, encontrando 27,1% (65) de animais reagentes à soroneutralização de um total de 240 animais e 66,7% (16) das 24 propriedades com animais infectados. Neste mesmo estado, Médici et al. (2000), realizaram estudo para detecção de anticorpos anti-herpesvírus bovino tipo 1, através da técnica de soroneutralização, em 1.235 amostras de soro de bovinos adultos não vacinados. As amostras analisadas foram colhidas de 81 rebanhos, com histórico de problemas reprodutivos, incluindo animais com aptidão de leite e carne, provenientes de 30 municípios. Na amostragem proveniente de rebanhos leiteiros, 41,9% (409/977) das amostras e 90,5% (57/63) dos rebanhos foram considerados positivos. Já nos bovinos de corte, o índice de positividade foi de 50,8% (131/258) e 100% (18/18) para soro e rebanho, respectivamente.

Dias et al. (2008), estudaram os fatores de risco associados à infecção pelo BoHV-1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Paraná através de ensaio imunoenzimático indireto, e encontraram 190 rebanhos positivos de um total de 295 estudados com uma prevalência de 64,41% de animais reagentes. Foram considerados fatores de risco para a infecção as variáveis, propriedades com número de fêmeas acima de 24 meses igual ou superior a 13 animais, compra recente de reprodutores, uso de pastagens em comum entre

propriedades, intercâmbio de animais entre propriedades e presença de animais silvestres nas propriedades.

No estado de Minas Gerais, Rocha et al. (2001) pesquisaram anticorpos anti-IBR em 5.511 amostras de soro sanguíneo de bovinos provenientes de 335 municípios, pela técnica de micro soroneutralização ou ELISA; 93,4% (313/335) dos municípios apresentaram pelo menos um bovino com sorologia positiva. Já Melo et al. (2002), no mesmo estado, estudaram a distribuição de anticorpos neutralizantes para o vírus em quatro faixas etárias de bovinos de 21 rebanhos de leite e corte. Os resultados do estudo indicaram que nos rebanhos leiteiros a soropositividade foi maior na faixa etária de animais com 19 a 30 meses; maior trânsito de animais, menor uso de tecnologias como inseminação artificial e transferência de embriões, criação de bezerras separadas do rebanho adulto e utilização de ordenha manual com bezerro ao pé são fatores que podem ter influenciado o resultado; já, para os rebanhos de aptidão corte cria/recria foram encontradas frequências menores em todas as faixas etárias, exceto na faixa formada por animais de 7 a 10 meses, estes resultados ocorreram provavelmente devido à criação extensiva e baixo estresse, que dificultam a excreção/transmissão do vírus, além da não introdução de animais no rebanho.

No estado de Goiás, Vieira et al. (2003) pesquisaram a presença de anticorpos para o BoHV-1 em 790 soros de bovinos do estado de Goiás, através do ensaio imunoenzimático (EIE). As amostras eram, em sua maioria (75,3%) provenientes de animais e propriedades (n=90) com problemas reprodutivos, incluindo rebanhos de leite, corte e misto, distribuídas em 40 municípios do estado. A frequência encontrada foi de 83%. Rebanhos de exploração leiteira apresentaram um índice de soropositividade estatisticamente maior que o de rebanhos de corte ou misto. Das 90 propriedades incluídas, 96,7% apresentaram animais positivos e 97,5% dos 40 municípios apresentaram pelo menos um animal soropositivo.

Barbosa et al. (2005), objetivaram estimar a soroprevalência de anticorpos contra o BoHV-1 pela técnica de soroneutralização em 6.932 animais não vacinados pertencentes a 892 propriedades de 232 municípios e

determinar os potenciais fatores de risco para a infecção em rebanhos bovinos no Estado de Goiás. A soroprevalência para o BoHV-1 nos animais foi de 51,9%. Das 892 propriedades amostradas, 98,5% apresentaram, pelo menos, um animal soropositivo e todos os municípios pesquisados (100%) apresentaram, pelo menos, uma propriedade positiva demonstrando que a infecção pelo BoHV-1 encontra-se altamente disseminada entre rebanhos bovinos dos municípios de Goiás. Em relação aos fatores de risco, apenas a idade mostrou-se associada à soropositividade.

Na Bahia, Galvão et al. (1963), efetuaram o primeiro levantamento sorológico, detectando 34,49% de positividade de um total de 458 amostras analisadas pela prova de soroneutralização. Ribeiro et al. (1982), verificaram pelo mesmo método, que 74% de 2.057 amostras de soro bovino foram reagentes.

Cerqueira et al. (2000), pesquisaram a presença de anticorpos contra BoHV-1 em 558 amostras de soros de bovinos jovens de 1 a 4 anos não vacinados provenientes de quinze municípios diferentes do estado da Bahia, pelas técnicas de microssoroneutralização (MSN) em microplacas, utilizando-se monocamadas de células MDBK e a cepa de BoHV-1 Los Angeles, e um teste comercial de ELISA. Os resultados da amostragem feito pelo teste de ELISA mostraram que 56% (314/558) dos soros foram positivos e 44% (244/558) negativos. A técnica de MSN mostrou que 48% (269/558) dos soros foram negativos e 52% (289/558) foram positivos. Os resultados sugerem que o BoHV-1 esteja circulando ativamente na população bovina jovem e a alta difusão do vírus em animais jovens representaria uma fonte contínua de infecção viral para o rebanho.

Apesar da grande variação de anticorpos relatada pela literatura, a maioria dos estudos foi realizada ou com número pequeno de amostras englobando poucos municípios ou, muitas vezes, com populações específicas ou ambas as situações. Existe, portanto, uma carência de levantamentos epidemiológicos, outra questão a ressaltar é que, em nível de Brasil, há uma deficiência de pesquisas que abordem fatores de risco para esta infecção.

2.7 Diagnóstico

A diversidade dos sinais clínicos, bem como a presença dos mesmos sinais em outras doenças infecciosas e parasitárias, não permite a elaboração de um diagnóstico clínico conclusivo da infecção ocasionada pelo BoHV-1. Até mesmo nos casos de vulvovaginite, onde as lesões são características, o diagnóstico é apenas presuntivo. Nesta forma de apresentação clínica é necessário, em particular, realizar o diagnóstico diferencial das infecções ocasionadas por *Mycoplasma bovis* e *Ureaplasma diversum* que são responsáveis por vulvo-vaginite granular (RUHNKE et al., 1984). Nos quadros clínicos que envolvem o sistema respiratório é importante diferenciar a infecção pelo BoHV-1 daquelas ocasionadas por outros patógenos que estão agrupados no Complexo Respiratório Bovino, como o vírus respiratório sincicial bovino (BRSV), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus parainfluenza tipo 3 (PI-3) e bactérias do gênero *Pasteurella* (OBANDO et al., 1999).

Nos distúrbios reprodutivos ocasionados pelo BoHV-1 o diagnóstico clínico é praticamente impossível. O aborto, considerado a manifestação clínica mais evidente da infecção deve ainda ser diferenciado de outras causas infecciosas como a brucelose, leptospirose, campilobacteriose, neosporose, tricomonose e de infecções ocasionadas pelo vírus da diarreia viral bovina e por micoplasmas. Causas não infecciosas relacionadas ao manejo (estresse térmico), endotoxinas, corticosteróides exógenos, desordens genéticas e/ou nutricionais, teratogenia, plantas tóxicas, micotoxinas (zearalenona), entre outras causas, também devem ser incluídas no diagnóstico diferencial (LARSON, 1996).

O histórico sanitário do rebanho, relacionado com as taxas de produtividade, programas de vacinação e manejo alimentar, pode ter fundamental importância na elaboração do diagnóstico. Porém, somente com o apoio de técnicas laboratoriais o diagnóstico do BoHV-1 é conclusivo (TAKIUCHI et al., 2001).

O diagnóstico do BoHV-1 é realizado através da detecção do vírus (ou componentes virais) e da demonstração de anticorpos específicos. O isolamento deste vírus em cultivo celular confirma a presença do agente nos

animais infectados (RIET-CORREA et al., 1996; ROEHE et al., 1997b; REINHARDT et al., 2001; VIEIRA et al., 2003; KUNRATH et al., 2004). A identificação final do vírus pode ser feita por diferentes métodos, como as técnicas de soroneutralização, imunofluorescência, imunoperoxidase, ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação de polimerase em cadeia (PCR) (TAKIUCHI et al., 2001).

O isolamento do BoHV-1 em cultivo celular é considerado o método de diagnóstico etiológico padrão. Entretanto, é uma técnica laboriosa, de custo elevado e dispendioso em relação ao tempo dedicado para a sua elaboração. Esta metodologia apresenta ainda como desvantagem a necessidade de material clínico bem conservado, já que a técnica exige a presença de partículas virais viáveis, ou seja, infectantes. Nos abortos comprovadamente ocasionados pelo BoHV-1 em somente 40% dos casos foi possível o isolamento viral. Isto ocorre principalmente devido às oscilações de temperatura, as quais o vírus é lábil, inviabilizando o isolamento pela perda da infecciosidade da partícula viral (KIRKBRIDE, 1992). O tempo exigido para a obtenção de resultados é outra desvantagem da técnica, pois são necessários, no mínimo, de 14 a 28 dias para a conclusão do diagnóstico (TAKIUCHI et al., 2001).

O atraso no trânsito das amostras biológicas do campo até o laboratório, associado às más condições de estocagem do material, são condições incompatíveis com esse procedimento diagnóstico, uma vez que as partículas virais devem permanecer viáveis e, conseqüentemente, infectivas. Alguns tecidos contêm ainda enzimas que são tóxicas para o cultivo de células e, adicionalmente, podem conter inibidores que interferem no processo de isolamento viral (EDWARDS et al., 1983).

O isolamento do BoHV-1 a partir de amostra de sêmen também pode ser de difícil realização devido, principalmente, à toxicidade natural do plasma seminal sobre a monocamada celular (KAHRS, 1977; SCHULTZ et al., 1982).

As técnicas de imunoperoxidase e imunofluorescência, apesar de não exigirem a infecciosidade da partícula viral, também podem ser seriamente comprometidas pelas más condições de transporte e estocagem citadas

anteriormente. Isto ocorre porque tais metodologias, para o sucesso do diagnóstico, exigem fundamentalmente a integridade estrutural da partícula e das proteínas virais. Outro fator limitante é o método de preparo do esfregaço celular que exige um número de células adequado para a leitura das lâminas e também a disponibilidade de um anti-soro detector de boa qualidade (TAKIUCHI et al., 2001).

A técnica de imunofluorescência requer um grande número de células infectadas pelo vírus e um técnico experiente para realizar a leitura das lâminas, incluindo também a boa qualidade dos reagentes que não são facilmente disponíveis. Reações inespecíficas podem ocorrer em tecidos autolisados ou em tecidos com contaminação bacteriana secundária. Edwards et al. (1983) verificaram que a leitura das lâminas teve um resultado satisfatório e de confiabilidade por um prazo máximo de três dias de estocagem do material. Após esse período houve uma progressiva destruição da arquitetura celular e redução acentuada no número de células íntegras no esfregaço.

O teste sorológico padrão para detecção de anticorpos anti-BoHV é a prova de soroneutralização (SN) (HOUSE & BAKER, 1971, GIBBS & RWEYEMAMU, 1977, CHO & BOHAC, 1985, TEIXEIRA et al., 1998). O teste é confiável e específico. Os animais positivos apresentam títulos médios entre 8 e 64. Ocasionalmente são obtidos títulos mais altos e alguns animais parecem desenvolver títulos muito baixos ou não detectáveis (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977). Em qualquer uma das formas da doença, a coleta pareada de soro (no início do quadro clínico e após duas a quatro semanas) dos animais pode auxiliar o diagnóstico (SCHILD et al., 1994). Segundo Duffel e Harkness (1985), esta prova diagnóstica apresenta a limitação de não detectar baixas taxas de anticorpos, a necessidade de laboratórios equipados e de pessoal treinado. Além disso, a técnica é demorada o que impede resultados rápidos, requerendo de vários dias a algumas semanas para obtenção dos resultados (RUTH, 1986).

A maioria dos laboratórios de diagnóstico virológico veterinário utiliza a SN, isolada ou juntamente com outros ensaios (RAVAZZOLO et al., 1989,

WEIBLEN et al., 1992b, DE STEFANO et al., 1993, LOVATO et al., 1995a, VIDOR et al., 1995).

Atualmente os testes imunoenzimáticos têm sido empregados no diagnóstico sorológico de infecções pelo herpesvírus bovino, devido à sua sensibilidade e especificidade e rapidez de execução (EDWARDS & GITAO, 1987b; SHEN et al., 1991; GRAHAM et al., 1997).

Kramps et al. (1994), demonstraram que o teste de ELISA, empregado na detecção de anticorpos neutralizantes da glicoproteína gB do BoHV-1, foi mais sensível que a técnica de soroneutralização, tendo sido capaz de detectar baixo título de anticorpos em animais inoculados experimentalmente.

2.7.1 Ensaio Imunoenzimático (ELISA)

Esta técnica descrita por Engval e Perlmann (1971), expresso pela sigla ELISA (Enzyme Linked Imuno Sorbent Assay) é utilizada para a detecção de pequenas quantidades de antígenos/anticorpos, que geralmente não são detectáveis pelos métodos convencionais. Apresenta a característica de alta sensibilidade e especificidade e rapidez na sua execução. Isso permite o estudo de grandes populações em curto espaço de tempo, e em laboratórios de rotina (DINTER, 1989). A identificação de antígenos/anticorpos é baseada em reação enzima-substrato que produz uma mudança de cor e a leitura espectrofotométrica evita resultados subjetivos. Os erros técnicos pela utilização de "kits" comerciais são mínimos, uma vez que as variáveis são padronizadas para que os parâmetros medidos, não se alterem (DUBOVI, 1990). A técnica de ELISA apresenta sensibilidade equivalente ao método do isolamento viral (OIE, 2000).

2.8 Controle e Profilaxia

Os principais fatores que vêm contribuindo para a difusão dessa enfermidade são a introdução nos rebanhos de animais oriundos de leilões ou de importações, sem exigências sanitárias necessárias para prevenir a infecção, a crescente utilização de confinamentos para a engorda de animais, a não obrigatoriedade do controle virológico do sêmen comercializado no País e,

principalmente, a falta de informação dos criadores, das autoridades e veterinários sobre estas viroses (SILVA et al., 1998). A presença de animais portadores favorece a perpetuação do vírus no rebanho, uma vez que eles têm recorrências da infecção eliminando o vírus e, quando a percentagem de vacas infectadas é alta, elas infectam o rebanho jovem antes da idade reprodutiva (SHEFFY & RODMANN, 1973; ROEHE et al., 1997b). Devido a isso, a infecção por herpesvírus bovino tem sido controlada e prevenida através da combinação de uma variedade de práticas de manejo e com um bom programa de vacinação (DONKERSGOED & BABIUK, 1991).

O controle de um surto pode ser conseguido através de medidas de higiene e isolamento dos animais enfermos, embora seu sucesso dependa da distribuição geográfica da enfermidade. Devido à possibilidade da infecção latente, todos os animais soropositivos devem ser considerados potenciais fontes de infecção (KAHRS, 1977; ACKERMANN et al., 1982). Nos estágios iniciais de um surto, a vacinação dos animais expostos pode diminuir o número de novos casos e não devem ser introduzidos animais na propriedade (DONKERSGOED & BABIUK, 1991). Os surtos ocorrem mais frequentemente em rebanhos não vacinados, após situações de estresse. Isto acontece geralmente quando o vírus origina-se de uma infecção latente e é disseminado a animais suscetíveis. Durante o surto, os animais doentes devem ser isolados e tratados com antibióticos de largo espectro para prevenir infecções secundárias (FENNER et al., 1993).

Variadas formas de controle e erradicação foram propostas por diversos pesquisadores. Na Europa, a utilização de vacinas com marcadores genéticos, juntamente com o manejo higiênico-sanitário adequado, vem alcançando resultados positivos no que se refere ao controle desta virose (VAN OIRSCHOT et al., 1996).

No Brasil, o controle da enfermidade baseia-se principalmente na vacinação com vacinas convencionais, pois são essas as únicas disponíveis em nosso mercado. A utilização dessas vacinas objetiva, principalmente, reduzir os sinais da doença após infecção e desse modo diminuir o impacto econômico das infecções pelo vírus (VAN OIRSCHOT et al., 1996).

Materials e Método

3 MATERIAIS E MÉTODO

3.1 Região

O Estado do Maranhão ocupa uma área territorial de 331.983,293 km², localizado a Noroeste da Região Nordeste. Limita-se ao Norte com o Oceano Atlântico, Sul e Sudoeste com Estado do Tocantins, Leste e Sudeste com o Piauí e ao Oeste com o Pará. Possui 217 municípios, com uma população estimada em 6.103.327 habitantes, e um efetivo bovino de 6.609.438 cabeças, sendo aproximadamente 9,45% de exploração leiteira (IBGE, 2007).

O rebanho leiteiro é composto de animais das raças Girolanda, Holandesa e mestiços de Holandesa com aproximadamente 625.000 cabeças, das quais 25% (156.250) estão em produção por um período médio de seis meses, com uma produção mensal média de 270.000.000 litros de leite (INAGRO, 2007).

3.2 Propriedades

A bacia leiteira do Estado do Maranhão é constituída pelas regionais da **Ilha de São Luís** (municípios de Paço do Lumiar, Raposa, São José de Ribamar e São Luís), **Imperatriz** (Amarante, Imperatriz, João Lisboa, Lageado Novo, Porto Franco, São João do Paraíso e Senador La Roque), **Açailândia** (municípios de Açailândia, Cidelândia e São Francisco do Brejão), **Pedreiras** (Bernardo do Mearim, Igarapé Grande, Pedreiras e Trizidela do Vale) e **Bacabal** (municípios de Bacabal, Bom Lugar, Lago Verde, Olho d'Água das Cunhãs e São Luís Gonzaga), (Fig. 1).

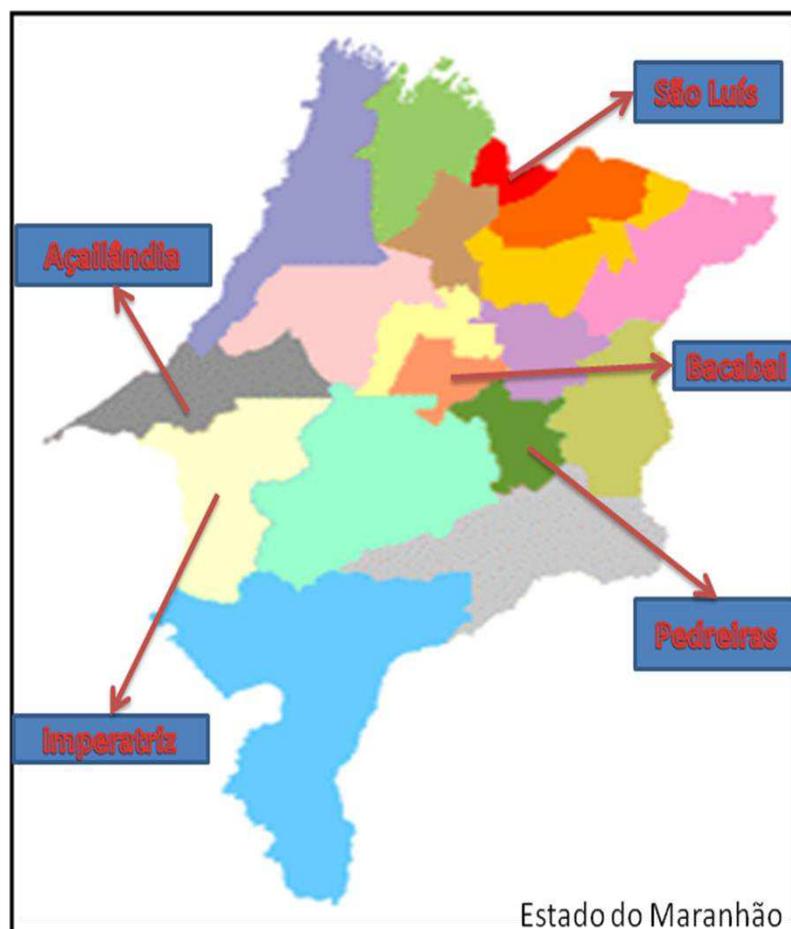


FIGURA 1. Mapa do Estado do Maranhão com as principais regionais produtoras de leite.

Foram realizados sorteios para determinar quais propriedades seriam selecionadas, e estas deveriam apresentar os seguintes pré-requisitos: sistema de criação semi-intensivo, número igual ou superior a 20 animais, condições de manejo e nutrição semelhantes e sem histórico de vacinação anterior para IBR. Na determinação do tamanho das amostras foi utilizada a fórmula proposta por Stevenson (1981), como especificada abaixo:

$$n = \frac{Z^2 \cdot P \cdot q}{e^2}$$

Onde:

- n = Tamanho da amostra;
- Z = Nível de confiança (1,96);
- P = Prevalência esperada;

$$q = (100-p)$$

e = margem de erro admitida.

Para se estabelecer o tamanho da amostra foi adotada como valor de referência, a prevalência observada por Ribeiro et al. (1982), que foi de 74%, no Estado da Bahia, considerando-se uma margem de erro (e) de 3% e um nível de confiança (Z) (95%).

$$Z = 1,96 \text{ (95\%);}$$

$$P = 74\%;$$

$$q = 30$$

$$e = 3\%.$$

Logo:
$$n = \frac{1,96^2 \cdot 74 \cdot (100-74)}{3^2} \rightarrow N= 947 \text{ amostras}$$

Assim, foi utilizado ajuste estatístico para 920 amostras.

3.3 Coleta das Amostras

Foram coletadas 920 amostras de sangue de animais, pertencentes a 92 propriedades do Estado do Maranhão. As amostras foram provenientes de fêmeas bovinas de aptidão leiteira estratificadas aleatoriamente em três faixas etárias: estrato-1 (< 3 anos), estrato-2 (entre 3 a 7 anos) e estrato-3 (>7 anos), apresentando ou não sinais clínicos de infecção pelo BoHV-1. A porcentagem de animais dentro de cada faixa etária foi definida de acordo com os dados obtidos por Rocha et al. (2001), que indicaram que a prevalência de anticorpos anti-BoHV -1 em rebanhos leiteiros é maior em animais adultos. Com base nesta característica, foram coletadas 20% das amostras para animais até 03 anos, 60% para animais entre 03 a 07 anos e 20% para animais acima de 07 anos. O número de amostras coletadas foi igual para todas as propriedades. A distribuição das propriedades e o número total de amostras encontram-se listados na tabela 1.

TABELA 1. Distribuição das regionais com seus respectivos municípios, bem como o número de amostras/propriedade, Maranhão, 2009

Regional	Municípios	N ° de Propriedades	N° de Amostras
Açailândia	Açailândia	4	40
	Cidelândia	4	40
	São Francisco do Brejão	4	40
Bacabal	Bacabal	4	40
	Lago Verde	4	40
	Olho D'água das Cunhãs	4	40
	São Luís Gonzaga	4	40
	Bom Lugar	4	40
Ilha de São Luís	Paço Lumiar	4	40
	São José de Ribamar	4	40
	São Luís Gonzaga	4	40
	Raposa	4	40
Imperatriz	Amarante	4	40
	Imperatriz	4	40
	João Lisboa	4	40
	Lageado Novo	4	40
	Porto Franco	4	40
	São João do Paraíso	4	40
	Senador La Roque	4	40
Pedreiras	Igarapé Grande	4	40
	Bernardo do Mearim	4	40
	Pedreiras	4	40
	Trizidela do Vale	4	40
TOTAL		92	920

As coletas foram realizadas nos meses de fevereiro a julho de 2008. O sangue foi coletado pela punção da veia jugular, com agulhas descartáveis e sistema de vácuo, em tubos esterilizados e siliconizados, os quais foram deixados em posição inclinada até a retração do coágulo e liberação do soro e encaminhados sob refrigeração ao Laboratório de Virologia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 2.000 x g, durante 15 minutos. As amostras foram acondicionadas em ampolas tipo Eppendorf (Fig. 2) e estocadas a -20° C, até a realização dos testes sorológicos.



FIGURA 2. Fotografia da coleta de sangue, acondicionamento e processamento das amostras de soro sanguíneo de fêmeas bovinas leiteiras: (a) punção da veia jugular; (b) tubos vacutainer siliconizados com amostras de sangue; (c) material para obtenção das amostras de soro; (d) tubos eppendorf com amostras de soro em duplicata.

3.4 Análise das Amostras

A detecção qualitativa de anticorpos contra BoHV-1 foi realizada através da técnica de ELISA indireta, conforme descrito por Chu et al. (1985) e Howard et al. (1985), no laboratório da divisão de antígenos do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR, 2008).

A interpretação dos resultados foi determinada pelo cálculo da razão das densidades ópticas (OD) das amostras testadas em relação aos controles positivo e negativo, utilizando um filtro com comprimento de onda de 450 nm, como mostra a fórmula abaixo:

$$\frac{A/P}{PCx A 450 - NCx A 450} = \frac{\text{Amostra A 450} - \text{NCx A 450}}{\text{PCx A 450} - \text{NCx A 450}}$$

Amostras com razão A/P < 0,200 OD foram classificadas como negativas, razão entre $0,200 \geq OD < 0,300$ suspeitas e valores de $OD \geq 0,300$ positivas. Para que o teste fosse validado foi necessário que a diferença das médias dos controles positivos e negativos fosse $\geq 0,150$ OD e a média dos controles negativos $\leq 0,250$ de densidade óptica.

3.5 Fatores de Risco

Para cada propriedade foi aplicado questionário epidemiológico com o objetivo de relacionar possíveis fatores de risco associados ao BoHV-1, conforme descritos nos apêndices A e B. Os fatores de risco analisados nas propriedades foram: idade, tipo de ordenha, inseminação artificial, aborto, presença de ovino-caprinos, presença de suínos, aquisição de animais e assistência veterinária.

3.6 Análise Estatística

Para o cálculo da frequência dividiu-se o número de animais sorologicamente positivos pelo número de animais amostrados, utilizando-se análise estatística descritiva por meio de distribuições absoluta e relativa.

Para o estudo da associação entre a soropositividade e fatores de riscos analisados, utilizou-se estatística por meio do teste Exato de Fisher ou, teste Qui-quadrado de independência, quando as condições para o teste Exato de Fischer não foram verificadas. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5% (0,05), com intervalo de confiança de 95%. O programa utilizado para a obtenção da análise foi o Instat 2.0, versão 2003 e o Eplnfo 3.43, versão 2007.

Resultados

4 RESULTADOS

Das 920 amostras analisadas, 71,30% (n=656) foram reagentes, 17,40% (n=160) suspeitas e 11,30% (n=104) não reagentes (Fig. 3).



FIGURA 3. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas da bacia leiteira do Estado do Maranhão, 2009.

Com relação às cinco regionais que compõem a bacia Leiteira do Estado do Maranhão, foram obtidas frequências de 68,12% (n=109), 68,21% (n=191), 71,67% (n=86), 78,75% (n=126) e 72% (n=144) para as regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal, respectivamente (Fig. 4).

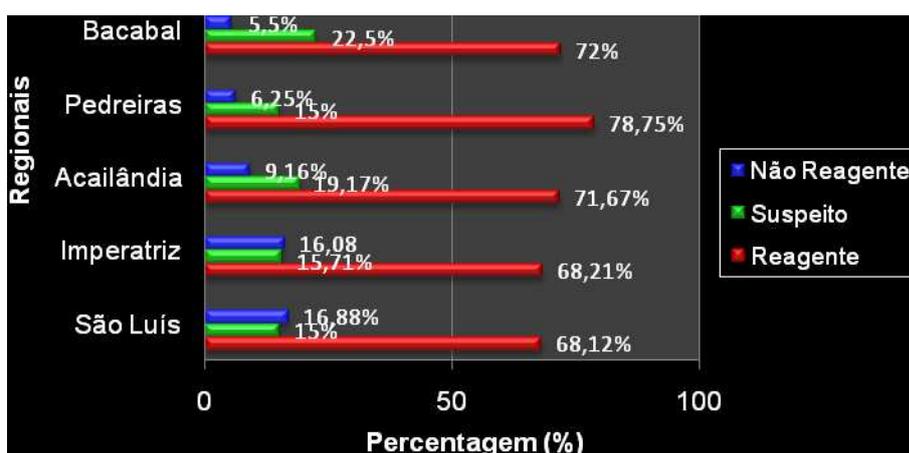


FIGURA 4. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras nas regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal, 2009.

Do total de 23 municípios selecionados em 100% foram registrados animais reagentes. O município de São João do Paraíso, pertencente à Regional de Imperatriz, apresentou o menor percentual de amostras reagentes, 47,50% (n=19), enquanto Bernardo do Mearim, da Regional de Pedreiras, apresentou o maior percentual, 92,5% (n=37) (tab.2).

TABELA 2. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras pertencentes a 05 regionais da Bacia Leiteira do Estado do Maranhão, 2009

Regionais	Municípios	N° de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	N	%
Ilha de São Luís	Paço do Lumiar	40	25	62,5	7	17,5	8	20,0
	São Luís	40	26	65,0	8	20,0	6	15,0
	São José de Ribamar	40	25	62,5	7	17,5	8	20,0
	Raposa	40	33	82,5	2	5,0	5	12,5
Imperatriz	Amarante	40	28	70,0	8	20,0	4	10,0
	Imperatriz	40	31	77,5	7	17,5	2	5,0
	João Lisboa	40	32	80,0	6	15,0	2	5,0
	Lageado Novo	40	28	70,0	5	12,5	7	17,5
	Porto Franco	40	20	50,0	4	10,0	16	40,0
	São João do Paraíso	40	19	47,5	7	17,5	14	35,0
Açailândia	Senador La Roque	40	33	82,5	7	17,5	0	0,0
	Açailândia	40	29	72,5	8	20,0	3	7,5
	Cidelândia	40	35	87,5	3	7,5	2	5,0
Pedreiras	São Francisco do Brejão	40	22	55,0	12	30,0	6	15,0
	Bernardo do Mearim	40	37	92,5	2	5,0	1	2,5
	Igarapé Grande	40	26	65,0	12	30,0	2	5,0
	Pedreiras	40	32	80,0	5	12,5	3	7,5
Bacabal	Trizidela do Vale	40	31	77,5	5	12,5	4	10,0
	Bacabal	40	29	72,5	10	25,0	1	2,5
	Bom Lugar	40	34	85,0	6	15,0	0	0,0
	Lago Verde	40	31	77,5	7	17,5	2	5,0
	Olho D'água das Cunhãs	40	27	67,5	10	25,0	3	7,5
	São Luiz Gonzaga	40	23	57,4	12	30,0	5	12,6

O intervalo de variação no percentual de animais reagentes entre os municípios foi de 47,5% a 92,5% (Fig.5).

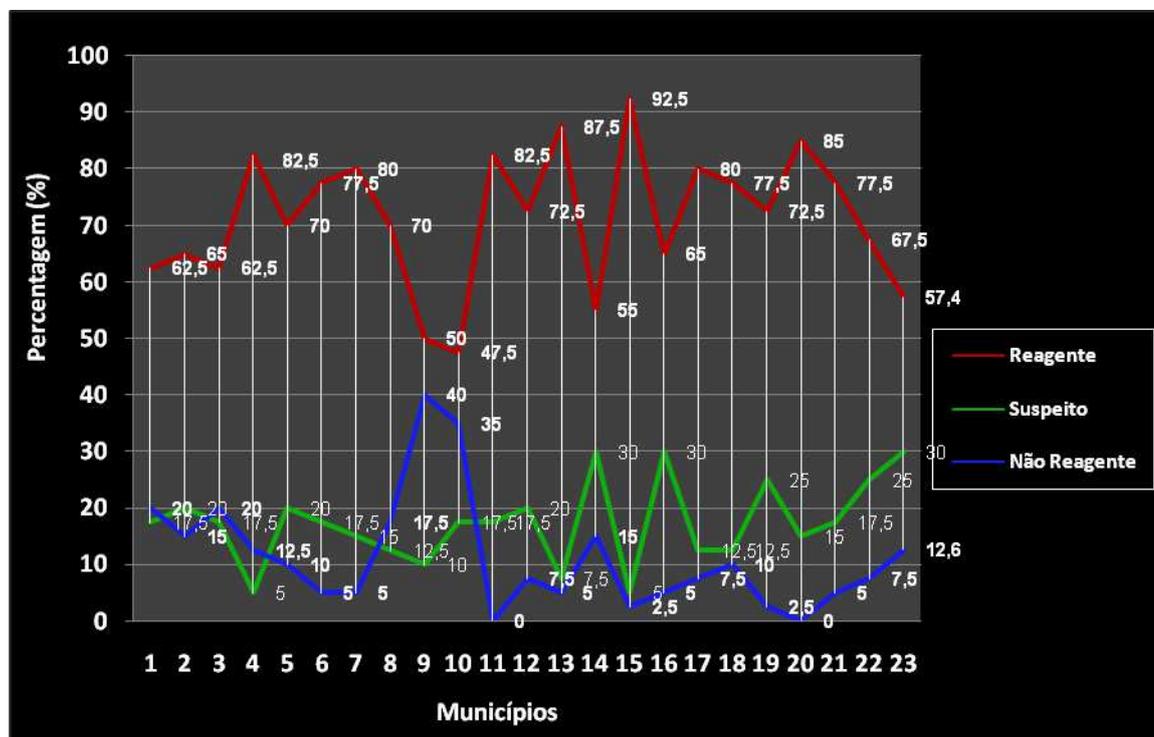


FIGURA 5. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em 23 municípios da bacia leiteira do estado do Maranhão, 2009.

Das 92 propriedades testadas contra o BoHV-1, em 100% foram encontrados animais reagentes. Foram consideradas propriedades positivas aquelas que possuíam pelo menos uma amostra reagente ao BoHV-1 (tab. 3, 4, 5, 6 e 7). A variação no percentual de animais reagentes para o vírus por propriedade foi de 20 a 100%.

Em todas as propriedades da bacia leiteira da Ilha de São Luís foram encontradas pelo menos 03 amostras reagentes. As propriedades do município de Raposa apresentaram o maior número de animais reagentes 82,5% (n=33). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 30 a 100% (tab. 3).

TABELA 3. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira da Ilha de São Luís - MA, 2009

Municípios	Propriedade	N° de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Paço do Lumiar	1	10	6	60	3	30	1	10
	2	10	8	80	2	20	0	0
	3	10	5	50	0	0	5	50
	4	10	6	60	2	20	2	20
Raposa	5	10	10	100	0	0	0	0
	6	10	9	90	0	0	1	10
	7	10	7	70	1	10	2	20
	8	10	7	70	1	10	2	20
São José de Ribamar	9	10	9	90	0	0	1	10
	10	10	8	80	0	0	2	20
	11	10	5	50	5	50	0	0
	12	10	3	30	2	20	5	50
São Luís	13	10	6	60	4	40	0	0
	14	10	7	70	0	0	3	30
	15	10	8	80	1	10	1	10
	16	10	5	50	3	30	2	20

Na bacia leiteira de Imperatriz, 100% (n=28) das propriedades, apresentaram amostras reagentes. Senador La Roque foi o município com maior percentual de animais reagentes, 82,5% (n=33). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 20 a 90% (tab. 4).

TABELA 4. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Imperatriz - MA, 2009

Municípios	Propriedade	N° de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Amarante	17	10	6	60	4	40	0	0
	18	10	7	70	2	20	1	10
	19	10	9	90	1	10	0	0
	20	10	6	60	2	20	2	20
Imperatriz	21	10	7	70	2	20	1	10
	22	10	8	80	2	20	0	0
	23	10	8	80	2	20	0	0
	24	10	8	80	6	10	1	10
João Lisboa	25	10	9	90	0	0	1	10
	26	10	9	90	6	10	0	0
	27	10	5	50	4	40	1	10
	28	10	9	90	1	10	0	0
Lageado Novo	29	10	6	60	1	10	3	30
	30	10	9	90	1	10	0	0
	31	10	7	70	1	10	2	20
	32	10	6	60	2	20	2	20
Porto Franco	33	10	8	80	0	0	2	20
	34	10	2	20	3	30	5	50
	35	10	5	50	1	10	4	40
	36	10	5	50	0	0	5	50
São João do Paraíso	37	10	5	50	2	20	3	30
	38	10	6	60	1	10	3	30
	39	10	5	50	3	30	2	20
	40	10	3	30	1	10	6	60
Senador La Roque	41	10	7	70	3	30	0	0
	42	10	9	90	1	10	0	0
	43	10	9	90	1	10	0	0
	44	10	8	80	2	20	0	0

Em todas as propriedades da bacia leiteira de Açailândia foram encontradas pelo menos 04 amostras reagentes. As propriedades do município de Cidelândia apresentaram o maior número de animais reagentes, 87,5%

(n=35). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 40 a 100% (tab. 5).

TABELA 5. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Açailândia - MA, 2009

Municípios	Propriedade	N° de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Açailândia	45	10	5	50	3	30	2	20
	46	10	8	80	2	20	0	0
	47	10	9	90	1	10	0	0
	48	10	7	70	2	20	1	10
Cidelândia	49	10	8	80	1	10	1	10
	50	10	9	90	1	10	0	0
	51	10	8	80	1	10	1	10
	52	10	10	100	0	0	0	0
São Francisco do Brejão	53	10	5	50	2	20	3	30
	54	10	4	40	4	40	2	20
	55	10	6	60	4	40	0	0
	56	10	7	70	2	20	1	10

Na bacia leiteira de Pedreiras, as propriedades do município de Bernardo do Mearim apresentaram o maior número de animais reagentes, 92,5% (n=37). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 50 a 100% (tab. 6)

TABELA 6. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Pedreiras - MA, 2009

Municípios	Propriedades	Nº de Animais	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Bernardo do Mearim	57	10	9	90	1	10	0	0
	58	10	8	80	1	10	1	10
	59	10	10	100	0	0	0	0
	60	10	10	100	0	0	0	0
Igarapé Grande	61	10	5	50	4	40	1	10
	62	10	8	80	2	20	0	0
	63	10	5	50	5	50	0	0
	64	10	8	80	1	10	1	10
Pedreiras	65	10	9	90	1	10	0	0
	66	10	6	60	2	20	2	20
	67	10	8	80	1	10	1	10
	68	10	9	90	1	10	0	0
Trizidela do Vale	69	10	8	80	0	0	2	20
	70	10	8	80	2	20	0	0
	71	10	8	80	1	10	1	10
	72	10	7	70	2	20	1	10

Na bacia leiteira de Bacabal, as propriedades do município de Bom Lugar apresentaram o maior número de animais reagentes, 85% (n=34). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 50 a 100% (tab. 7).

TABELA 7. Frequência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Bacabal - MA, 2009

Municípios	Propriedade	Nº de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Bacabal	73	10	4	40	6	60	0	0
	74	10	9	90	1	10	0	0
	75	10	8	80	1	10	1	10
	76	10	8	80	2	20	0	0
Bom Lugar	77	10	7	70	3	30	0	0
	78	10	9	90	1	10	0	0
	79	10	10	100	0	0	0	0
	80	10	8	80	2	20	0	0
Lago Verde	81	10	7	70	2	20	1	10
	82	10	9	90	1	10	0	0
	83	10	7	70	3	30	0	0
	84	10	8	80	1	10	1	10
Olho D'água das Cunhãs	85	10	8	80	1	10	1	10
	86	10	7	70	3	30	0	0
	87	10	5	50	4	40	1	10
	88	10	7	70	2	20	1	10
São Luiz Gonzaga	89	10	5	50	3	30	2	20
	90	10	4	40	3	30	3	30
	91	10	6	60	4	40	0	0
	92	10	8	80	2	20	0	0

Quanto à faixa etária foram encontradas frequências de 9,57% (n= 112) para animais menores de 03 anos, 45,76% (n=362) para animais entre 03 a 07 anos e 4,79% para animais maiores de 07 anos de idade (Fig. 6). Esta variável esteve associada à soropositividade para a infecção pelo BoHV-1 ($P < 0,05$) nos animais estudados.

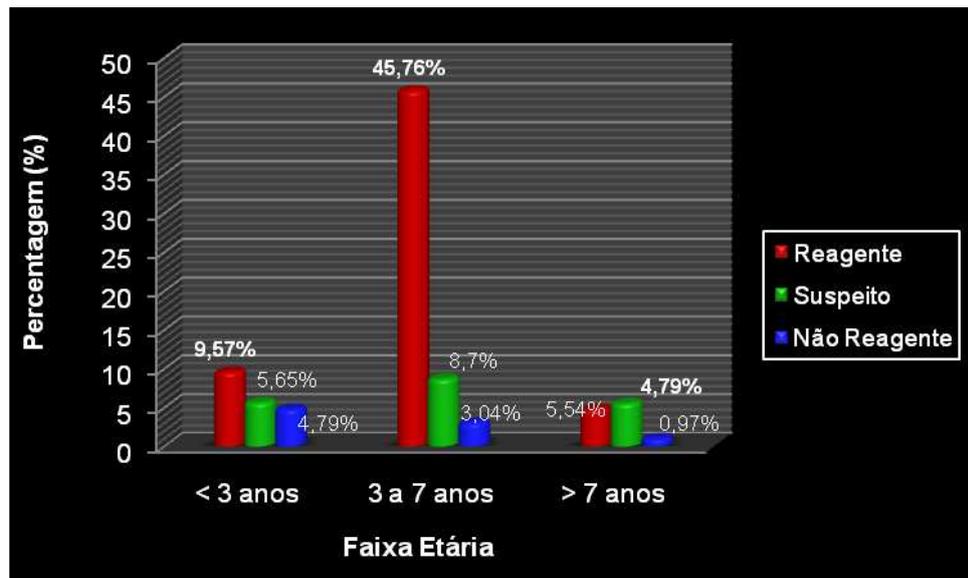


FIGURA 6. Frequência de fêmeas bovinas reativas ao Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) de acordo com a faixa etária, Maranhão, 2009.

Quanto aos fatores de risco analisados nas propriedades não houve associação estatística significativa das variáveis com o risco de infecção pelo BoHV-1, no estudo (tab. 8).

Das 92 propriedades estudadas, levando em conta o tipo de ordenha, 97,82 (n=90) propriedades realizavam ordenha manual e 2,17% (n=2) ordenha mecânica. Quanto à presença de ovinos e caprinos, em 22,85% (n=21) foi relatada a presença destas espécies, e em 26,08% (n=24) propriedades a espécie suína. Apenas 8,69% (n=8) propriedades recebiam assistência veterinária, sendo 100% do tipo particular. Quanto ao manejo reprodutivo, 91,30% (n=84) faziam uso da monta natural (MN), 2,18% (n=2) utilizavam somente a inseminação artificial (IA) e em 6,52% (n=6) utilizava-se a IA associada à monta natural.

Em 95,65% (n=88) das propriedades foi relatada a ocorrência de sinais reprodutivos, e destes sinais, o abortamento foi citado em 100% dos casos. Sinal respiratório foi observado em apenas 1,08% (n=1).

TABELA 8. Fatores de risco para o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas na bacia leiteira do Estado do Maranhão, 2009

Variáveis	Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1)						OR	IC 95%	Valor de P	
	Reagentes		Não Reagentes		Total					
	N	%	N	%	N	%				
Tipo de Ordenha	Manual	641	69,67	103	11,19	744	80,86	0.41	0.05;3.17	0.71*
	Mecânica	15	1,60	1	0,10	16	1,70			
Aquisição de Animais	Região	611	66,41	102	11,08	712	77,49	--	--	0,08**
	Estado	72	7,82	21	2,28	93	10,10			
	Outros Estados	46	5,00	11	11,95	57	16,95			
Presença de Ovinos/Caprinos	Sim	147	15,97	29	3,15	176	19,12	0.74	0.46;1.19	0.21*
	Não	509	55,32	75	8,15	584	63,47			
Presença de Suínos	Sim	151	16,41	29	3,15	180	19,56	0,77	0.48;1.23	0.32*
	Não	505	54,89	75	8,15	580	63,04			
Produção de Leite/Vaca	1 - 5 L	495	53,80	72	7,82	567	61,63	--	--	0,17**
	6 - 10 L	154	16,73	32	3,47	186	20,21			
	> 10 L	7	0,76	0	0,00	7	0,76			
Assistência Veterinária	Sim	55	5,97	15	1,63	70	7,60	0.54	0.29;1.00	0.06*
	Não	601	65,32	89	9,67	690	74,99			
Reprodução	MN	605	65,76	92	10,00	697	75,76	--	--	0,18**
	IA	34	3,96	10	1,08	44	4,77			
	MN + IA	17	1,84	2	0,21	19	2,05			
Sinais Respiratórios	Sim	8	0,86	1	0,10	9	0,96	1.27	0.15; 10.2	1.00*
	Não	648	70,43	103	11,19	751	81,62			
Sinais Reprodutivos	Sim	632	68,69	99	10,76	731	79,45	1.33	0.49;3.56	0.57*
	Não	24	2,60	5	0,54	29	3,14			

OR – Odds Ratio; IC – intervalo de confiança; MN – Monta natural; IA – Inseminação artificial; (*) Teste de Fischer; (**) Teste de Qui-quadrado

Discussão

5 DISCUSSÃO

A frequência de bovinos reagentes para o BoHV-1, no estudo, foi de 71,30%. O percentual de animais sororeagentes ao BoHV-1, é semelhante aos descritos por Ribeiro et al. (1982), que encontraram 74% de amostras positivas no Estado da Bahia e aos de Pituco et al. (1988), com 72,57% de positividade para os Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul.

Frequências maiores e menores de anticorpos anti-BoHV-1 já foram evidenciadas por outros pesquisadores (MULLER et al., 1981; RAVAZZOLO et al., 1989; PITUCO et al., 1993; ROCHA et al., 2001; VIEIRA et al., 2003; QUINCOZES, 2007). Essas diferenças nos índices de soropositividade podem ser explicadas pelo tipo de população bovina utilizada, pelo uso de diferentes técnicas de amostragem, de diagnóstico laboratorial e por diferenças regionais (LOVATO et al., 1995; PITUCO & DEL FAVA, 1998). Entretanto, os resultados dos estudos indicam que a infecção por este vírus ocorra em frequências importantes nos rebanhos bovinos brasileiros.

As frequências encontradas por regional mostram que houve uma variação dos resultados encontrados nas diferentes regionais, registrando-se maior variação entre as da Ilha de São Luís (68,12%) e Pedreiras (78,75%). Os percentuais de animais reagentes por regional estão dentro dos previstos por Ravazzolo et al. (1989), Vidor et al. (1995) e Roehe et al. (1998), que encontraram valores de 81,75%, 31,90% e 68%, respectivamente.

Nos 23 municípios estudados, 100% apresentaram pelo menos 19 animais reagentes. O percentual de soropositividade variou de 47,5 a 92,5%. Esses resultados corroboram com os encontrados por Barbosa et al. (2005), que utilizando a técnica de soroneutralização, ao analisar amostras de 232 municípios de Goiás, detectaram que 100% destes apresentaram amostras reagentes. A presença de animais sororeagentes em todos os municípios indica que a infecção está amplamente distribuída na região estudada.

Das 92 propriedades amostradas, 100% apresentaram pelo menos dois animais reagentes ao BoHV-1, resultados semelhantes aos encontrados em outros países (VAN OIRSCHOT, 1998; ODEON, 1998). Em relação ao Brasil, o percentual encontrado no presente estudo difere dos encontrados por Lovato et

al. (1995), Barros Filho et al. (1997), Krahl et al. (1997) e Quincozes et al. (2003), que tiveram propriedades sem animais reagentes; essa variação pode estar relacionada a questões regionais, tipo de exploração e idade dos animais utilizados no estudo.

O percentual de positividade para BoHV-1, por propriedade, variou de 20 a 100%. Essa variação ocorreu tanto nas propriedades onde houvera aquisição recente de animais, como naquelas que não receberam novos bovinos há pelo menos 01 ano, o que significa que a fonte de infecção deve provavelmente estar dentro das próprias fazendas.

Os resultados referentes à faixa etária indicam que estatisticamente a idade foi um fator de risco para a infecção ($P < 0,05$) pelo BoHV-1, podendo este ser explicado biologicamente. Animais na idade adulta são mais comumente afetados pelo vírus, pois, refletem a idade em que ocorre maior estresse em função da movimentação dos animais, maior grau de exposição ao vírus, provavelmente pela introdução de bovinos soropositivos nos lotes de produção, onde o animal portador está eliminando o vírus em suas secreções. Além disso, na idade adulta, os animais estão no ápice das suas atividades produtivas e reprodutivas, sendo exigidos ao máximo (GUSTAFSON, 1981; MELO, 1998). Já, frequências elevadas de animais sororeagentes na faixa etária inferior a 6 meses deve ser analisada com cautela, pois esses resultados demonstram transferência de imunidade passiva via colostro (o que é relevante quando se considera questões de interferência no diagnóstico sorológico) (MELO, 1998).

Quincozes et al. (2007) detectaram uma maior prevalência de anticorpos anti-BoHV-1 para a faixa etária de 07 a 12 meses. Entretanto, é necessário chamar a atenção para a interpretação dos resultados obtidos nesse estudo, uma vez que, em alguns animais, anticorpos passivos podem persistir por até 01 ano de idade (CORIA & McCLURKIN, 1978), o que pode ter levado a uma superestimativa dos reais resultados.

A análise univariada demonstrou que nenhuma das variáveis analisadas no estudo, apresentou-se como fator de risco para a infecção pelo BoHV-1, corroborando com os resultados do trabalho de Barbosa et al. (2005), realizado

no Estado de Goiás. Entretanto, vários fatores de risco são citados por diversos pesquisadores, como significativos nas infecções por BoHV-1, como ausência de assistência veterinária, realização de ordenha mecânica, uso de inseminação artificial, inseminação artificial associada à monta natural, presença de animais silvestres, etc. (VAN WUIJCKHUISE et al., 1998; BOELAERT et al., 2000; VAN SCHAİK et al., 2001; VIEIRA et al., 2003; DIAS et al., 2008).

Em relação ao tipo de ordenha, verificou-se que as frequências mais elevadas foram encontradas nas propriedades que realizavam ordenha manual (69,67%). Apesar deste não ter sido considerado significativo para a infecção e nem ter sido citado na literatura como de risco, pode eventualmente sê-lo, já que a ordenha, manual ou mecânica, propicia a aglomeração de animais e assim uma maior probabilidade de transmissão do vírus.

A variável aquisição de animais não está associada à soropositividade para o BoHV-1. Observou-se soropositividade de 66,41%, 7,82% e 5%, para animais adquiridos da própria região, estado e outros estados, respectivamente. A maior frequência observada nos animais adquiridos da região mostra que a fonte de infecção deve estar provavelmente circulando nos rebanhos das próprias propriedades e não oriunda de outros estados.

Van Schaik et al. (1998) demonstraram que proprietários que compram animais teriam 3,5 vezes mais chances de serem positivos que propriedades fechadas, considerando uma média de compra de 4,5 animais por ano. Esses dados evidenciam a importância dessa variável, quando a aquisição é realizada sem controle sanitário, como fator de introdução da doença em propriedades livres.

A associação significativa da criação simultânea de bovinos, caprinos, ovinos e suínos como fator de risco para a infecção pelo BoHV-1, no estudo, não ocorreu. Entretanto, a circunstância de que as espécies caprina, ovina e suína possam atuar como possíveis reservatórios do vírus (HAGE et al., 1997; KAHRS, 1977), leva a necessidade de se considerar esta possibilidade, quando se estuda as infecções por herpesvírus, onde diferentes espécies de animais são criadas simultaneamente. Embora a transmissão interespecie não

seja considerada importante na disseminação do BoHV-1, o contato de bovinos com algumas espécies animais, mesmo que eles não exerçam papel importante na cadeia epidemiológica do vírus, pode ocorrer, e estas espécies podem atuar como transmissores mecânicos, quando se deslocam de um local a outro dentro e entre propriedades (VAN SCHAİK et al., 1998).

A variável produção de leite/vaca mostrou maior frequência de animais reagentes nas propriedades com produção de 1 a 5 litros de leite (53,80%), apesar de não ter havido associação significativa da variável ao risco de infecção pelo BoHV-1.

Veterinários, técnicos e tratadores podem ser capazes de transmitir o BoHV-1 entre os animais através de fluidos nasais e genitais impregnados nas roupas ou mesmo pela lambedura de animais nestas (WENTINK et al., 1993). O uso de roupas exclusivas, fornecidas pela propriedade, pode minimizar o problema e ainda fazer com que um fator de risco reverta-se a um fator de proteção (VAN SCHAİK et al., 2002). Relacionado a isto, a variável “assistência veterinária” foi avaliada na análise dos riscos para o BoHV-1, no entanto novamente não foi apontada como tal. Verificou-se frequência mais elevada (65,32%) nos animais procedentes das propriedades que não utilizavam assistência técnica, quando comparadas àquelas que a utilizavam (5,97%). A falta de assistência médica veterinária pode ter refletido especialmente no diagnóstico e na ausência de implantação de programas de controle da infecção pelo BoHV-1.

A monta natural poderia ser considerada fator de risco, já que a cópula é considerada uma das vias mais importante de transmissão do BoHV-1 (LEMAIRE et al., 1994). Foram verificados coeficientes elevados de positividade para esta variável (65,76%) nas propriedades. O sêmen de touros pode ser contaminado por secreções prepuciais e uretrais durante a colheita e, ao ser depositado na mucosa uterina ou cervical durante o ato de inseminação, poderão infectar a vaca (HIRSCH & FIGUEIREDO, 2000). A inseminação artificial (IA), se utilizada isolada e com cuidados, pode ser considerada um fator de proteção. Van Schaik et al. (1998) e Barbosa et al. (2005) observaram

que a IA não mostrou ser um fator de risco para a infecção por este vírus, corroborando com os resultados do presente estudo.

Foram observados coeficientes baixos de positividade para a variável sinais respiratórios (0,86%) nas propriedades, porém nestas há uma possibilidade de 1,27 vez maior dos animais apresentarem BoHV-1. Em quadros clínicos que envolvem o sistema respiratório é importante diferenciar a infecção pelo BoHV-1 daquelas ocasionadas por outros patógenos que estão agrupados no Complexo Respiratório Bovino, como o vírus respiratório sincicial bovino (BRSV), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus parainfluenza tipo 3 (PI-3) e bactérias do gênero *Pasteurella* (OBANDO et al., 1999).

Acerca do histórico de sinais reprodutivos nas propriedades estudadas, verificou-se que a frequência de animais reagentes foi mais elevada entre os animais daquelas propriedades que apresentavam histórico de alterações reprodutivas (68,69%) e menores naquelas em que tal situação não ocorria (2,60%). Propriedades com sinais reprodutivos tiveram 1,33 vez mais chances de apresentar BoHV-1 que aquelas que não apresentaram. O abortamento é a manifestação clínica de diversas enfermidades, inclusive da infecção pelo BoHV-1 (WEIBLEN, 1992), o que demonstra que na região estudada esse vírus pode ser o agente etiológico e deve ser incluído no diagnóstico diferencial de problemas reprodutivos.

É importante ressaltar que a pesquisa sorológica demonstrou a frequência atual da infecção pelo BoHV-1 no rebanho bovino de aptidão leiteira no Estado do Maranhão. A soropositividade para o BoHV-1 representa a presença de animal portador e potenciais disseminadores do vírus no rebanho. Portanto, no geral, o estudo realizado mostrou que a infecção pelo herpesvírus consiste em mais um problema sanitário com o qual os produtores têm de conviver.

Os dados de frequência aqui obtidos são preocupantes, já que as propriedades estudadas não adotam a vacinação no manejo sanitário e, portanto, os anticorpos encontrados, não são de origem vacinal. Os resultados obtidos demonstraram pela avaliação sorológica que a infecção poderá não garantir a eles o “status” imunológico de proteção e que a imunidade do

rebanho obtida pela infecção poderia ser reforçada pela vacinação. Considerando que o “status” imunológico dos rebanhos pode ser muito heterogêneo em termos de presença de anticorpos é muito importante pensar no tipo de vacina que poderá ser utilizada.

Considerando que esses rebanhos são sorologicamente positivos, vacinas com antígenos expostos seriam prejudicadas pela presença de anticorpos, portanto, as vacinas oleosas seriam as mais adequadas, já que os anticorpos pré-existentes não iriam interferir com a resposta imunológica.

Os resultados encontrados em relação a fatores de risco no presente estudo geram dúvidas quanto ao seu real significado. Algumas das variáveis analisadas, que deveriam portar-se como fatores de risco, não foram mostradas como tal. Talvez isto se explique porque parte da realidade das propriedades não condizia com a relatada nos questionários, inclusive pela incoerência de alguns números apresentados como resposta. Ou mesmo porque a infecção latente e, em frequência elevada no rebanho leiteiro do Estado do Maranhão, possa ter impossibilitado, assim a discriminação de qualquer condição como fator de risco, visto que este risco já estava iminente.

Em consequência da latência e de altas frequências do BoHV-1, torna-se importante alertar sobre os mecanismos para o controle desta doença. Para a redução gradativa dos índices de soropositividade e prevenção de novas infecções é necessária a combinação de medidas de controle, como, remoção gradual de animais infectados, utilização de vacinas marcadas (DIVAS) que permitam a diferenciação entre animal infectado e vacinado, realização de quarentena ao ingresso de bovinos na propriedade, exames sorológicos anuais buscando impedir a reintrodução dessa doença no rebanho, além de melhoramento nas práticas de manejo do rebanho, como utilização de sêmen com certificado livre de BoHV-1 e reposição de animais livres da doença (METTENLEITER, 1996; PITUCO et al.,1997; VAN WUIJCKHUISE et al., 1998).

A partir deste estudo, surge a necessidade da realização de outros, que venham a elucidar esta enfermidade, com a realização de levantamentos sorológicos em rebanhos de corte, associados ao isolamento do vírus, bem

como o entendimento da reativação da infecção latente nos rebanhos do Estado do Maranhão.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho registrou-se a primeira ocorrência de anticorpos anti-BoHV-1 no Estado do Maranhão, e pode-se concluir que:

1. Os dados de frequência da infecção pelo Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) no Estado do Maranhão foram elevados;
2. A idade foi considerada fator de risco associada à soropositividade para o BoHV-1;
3. Apesar de não haver significância estatística para as variáveis associadas ao BoHV-1, sinais respiratórios e reprodutivos têm maior probabilidade de estarem associados à doença.
4. Pela distribuição de animais reagentes para o BoHV-1 nas propriedades estudadas, pode-se afirmar que o vírus encontra-se difundido no rebanho bovino de aptidão leiteira no Estado do Maranhão;
5. Baseando-se nestes dados de frequência no rebanho bovino leiteiro do Maranhão, recomenda-se que sejam tomadas medidas de prevenção e controle, como remoção gradual de animais infectados, realização de quarentena ao ingresso de novos animais nas propriedades, realização de exames sorológicos e vacinações.

Referências

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K. ; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Imunologia Celular e Molecular**. Livraria e Editora Revinter Ltda, 1994.

ACKERMANN M., PETERHANS E.; WYLER R. DNA of bovine herpesvirus 1 in trigeminal ganglia of latently infected calves. **Am. J. Vet. Res.**, v.4, p. 36-40, 1982.

ACKERMAN, M.; WYLER, R. The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection. **Vet. Microbiol.** v. 9, p.53–63, 1984.

ALFIERI, A.A. Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR): Epidemiologia, imunologia e imunoprofilaxia. **Atualização Técnica**, n.46, 1999.

ALICE, J. F. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), no Brasil. **Rev. Bras. Biol.**, v.38, n.4, p.919–920, 1978.

ANDRADE, M.A.; FERNANDEZ, C.L.; LORA, O.C.A. Investigación de anticuerpos contra rinotraqueítis infecciosa de los bovinos en el ganado nativo del Peru. **Rev. Centro Nacional de Patol. Anim.**, v.7, n.11, p.51-56, 1967.

ANDREWES, S. C.; PEREIRA, H. G.; WILDY, P. **Viruses of vertebrates**. Fourth edition, London, Ballière Tindal. 1978a. cap. 15, p. 312-330.

BABIUK, L.A.; VAN DRUNEN LITTEL-VAN DER HURK, S.; TIKOO, S.K. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. **Vet. Microb.** v.53, p.31-42, 1996.

BAGUST, T. J.; CLARK, L. Pathogenesis of meningoencephalitis produced in calves by infectious bovine rhinotracheitis herpesvirus. **J. Comp. Pathol.** v. 82, p.375-383, 1972.

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 (BHV-1) no Estado de Goiás, Brasil. **Ciência Rural** v.35, v.6, p.1368-1373, 2005.

BARROS FILHO, I.R.; KRÜGER, E.R.; SOUZA, J.F.; RICKLI JÚNIOR, W. Incidência de bovinos soropositivos para o vírus da rinotraqueíte bovina no município de Palotina-PR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25, 1997, Gramado. **Anais...** Gramado, RS: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1997. INF 062, p. 171.

BOELAERT, F.; BIRONT, P.; SOUMARE, B.; DISPAS, M.; VANOPDENBOSCH, E.; VERMEERSCH, J.P.; RASKIN, A.; DUFEY, J.; BERKVEN, D.; KERKHOFS, P. Prevalence of bovine herpesvirus-1 in the Belgian cattle population. **Prev. Vet. Med.** v.45, n. 3-4, p. 285-295, 2000.

BOELAERT, F.; SPEYBROEC, N.; KRUIFK, A.; AERTS, M.; BURZYKOWSKY, T.; MOLENBERGHS, G.; BERKVEN, D. L. Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity. **Prev. Vet. Med.** v. 69, p. 285-295, 2005.

BRACKENBURY, L.S.; CARR, B.V.; CHARLESTON, B. Aspects of the innate and adaptative immune responses to acute infections with BVDV. **Vet. Microbiol.**, v.96, p.337-344, 2003.

BUTEL, J. S. **Microbiología Medica de Jawetz**. Editorial El Manual Moderno. S.A. de C.V. México, D.F. 1992. cap. 35, p. 346-364.

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, México. **Prev. Vet. Med.**, v.57, p.199-208, 2003.

CANABARRO, T. F.; MORAES, M. P.; REBELATTO, M.C.; CANCIAN, M.D.; WEIBLEN, R. Vulvovaginitis due to bovine herpesvirus. In: Virologica 93, Porto Alegre- RS. Programas e **Resumos**. p. 248. 1993.

CAVIRANI, S.; LUINI, M.; ALLEGRI, G. A. 10-year serological survey for Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1), Bovine Diarrhea Virus (BVDV) and Bovine Herpesvirus 4 (BHV-4) in dairy herds with reproductive disorders. *Selezione Veterinaria*. v. 33, n. 5, p. 459-467, 1992. **Resumo...** publicado em *Veterinary Bulletin*, v. 62, n. 10, p.1068, 1992.

CERQUEIRA, R.B.; CARMINATI, R.; SILVA, J.M.; SOARES, G.C.; MEYER, R.; SARDI, S. Serological survey for bovine herpesvirus 1 in cattle from different regions in the state of Bahia, Brazil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 37, n.6, p.1-8, 2000.

CHO, H.J.; BOHAC, J.G. Sensitivity and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of infectious bovine rhinotracheitis viral antibody in cattle. **Canadian Journal of the Comparative Medicine**, v. 49, p. 189-194, 1985.

CHO, H.J.; BOHAC, J.G. Sensitivity and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of infectious bovine rhinotracheitis viral antibody in cattle. **Canadian J. Comparat. Med.**, v. 49, p. 189-194, 1985.

CHU, H. J. et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bovine sera. **Vet. Microbiol.**, v. 10, p. 325-333, 1985.

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.

CORIA, M.F.; McCLURKIN, A.W. Specific immune tolerance in an apparently healthy bull persistently infected with BVD virus. **J. Americ. Vet. Med. Assoc.**, v.172, p. 449-451, 1978.

D'ARCE R. C. F.; ALMEIDA R. S.; SILVA T. C.; FRANCO A. C.; SPILKI F.; ROEHE, P. M.; ARNS, C. W. Restriction endonuclease and monoclonal antibody analysis of Brazilian isolates of bovine herpesviruses types 1 and 5. **Vet. Microbiol.** v.88, p.315-324, 2002.

DE STEFANO, E.; PASSOS, E.C.; MAURIDIS, S.C.; KANETO, C.N. & PITUCO, E.M. Pesquisa de anticorpos para rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em rebanhos leiteiros da região de Marília-SP. **Viroológica**, v. 93, 1993, Porto Alegre, p. 256.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; D'ANGELINO, J. L. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1): revisão e situação atual no Brasil. **Rev. Educ. contin. CRMV-**

SP/ Continuous Education Journal CRMV-SP, São Paulo, v. 5, fascículo 3, p. 300-312, 2002. Alagoas e Ceará (DEL FAVA & PITUCO, 1998).

DEVIREDDY, L.R.; JONES, C. Alternative splicing of the latency-related transcript of bovine herpesvirus 1 yields was containing unique open reading frames. **J. Virol.** v.72, p.7294-7301, 1998.

DIAS, L.E. et al. Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) descripción de um cuadro clínico em terneros de tambo. In: CONGRESSO NACIONAL DE VETERINÁRIA, 3. 1982, Montevideo. **Anais...** Montevideo: Sociedad de Medicina Veterinaria Del Uruguay, 1982. p. 521-530.

DONKERSGOED, J. V.; BABIUK, L. A. Diagnosis and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. **Vet. Med.** v. 86, n. 1, p. 86-94, 1991.

DUBOVI, E.J. Genetic Diversity & BVD virus. **Comp. Immun. Microb. Infec. Dis.**, v.15, n.3, p.155-162, 1990.

DUFFELL, S.J. & HARKNESS, J.W. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. **Veterinary Record** 117, 240-5, 1985.

DULBECO, R.; GINSBERG, H. S. **Microbiologia de Davis.** Harper & Row do Brasil. 1980. cap. 53, p. 1477-1486.

DWARDS, S.; GITAO, G.C. Highly sensitive antigen detection procedures for the diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis: amplified ELISA and reverse passive haemagglutination. **Vet. Microbiol.** v. 13, p. 135-1411, 1987b.

EDWARDS, S.; CHASEY, D.; WHITE, H. Experimental infectious bovine rhinotracheitis: comparison of four antigen detection methods. **Res. Vet. Sci.**, v.34, p.42-45, 1983.

EDWARDS, S.; NEWMAN, R.H.; WHITE, H. The virulence of British isolates of bovid herpesvirus 1 in relationship to viral genotype. **Brit. Vet. J.** v.147, p. 216-231, 1991.

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

ENGVALL, E.; PERLMANN, P. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **J. Immunol.**, v.102, p.129-135, 1971.

FELDENS, O. Avaliação do efeito paraimune de extratos vegetais (Nicotiana glauca e Chrysanthemum vulgare) em bovinos vacinados contra o herpesvírus bovino tipo 5 (HVB-5). Pelotas, 2000. 49f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, UFPel, 2000.

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

FENNER, F. J.; GIBBS, E. P. J.; MURPHY, F. A. Herpesviridae. In: **Vet. Virol.** 2 ed. New York: Academic Press, p. 335-368, 1993b.

FLORES, E. F. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1). In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE VIROLOGIA MOLECULAR VETERINÁRIA, Santa Maria, RS: **Programa Organizado**, p. 149-156. 1996.

FLORES, E. F.; SILVA, A. M.; WEIBLEN, R. Neuropatogenicidade do herpesvírus bovino tipo 5 (HVB-5). 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. 127-136. 1998.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; SCHERES, C.F.C.; GIL, L.H.V.G.; PILATI, C.; DRIEMEIER, D.; MOOJEN, V.; WENDELSTEIN, A.C. Identificação do vírus da Diarréia Viral Bovina tipo 2 (BVDV-2) no sul do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 20, n. 2, p.85-89, 2000.

FONDEVILA, N.A.; LAGER, A.; SADIR, A.M.; CARRILLO, B.J.; VILLAR, J.; ZURBRIGEN, M.; GONZALEZ, D.; IVANCOVICH, J.; SCHUDEL, A.A. Rinotraqueítis infecciosa bovina (HVB-1). III- Prevalência de anticuerpos em rodeos bovinos del país. **Rev. de Investig. Agrop.** – INTA, v. 16, p. 285-289, 1981.

FORT, M.C.; IBARGUREN, C.; BUSETTI, M.R.; ESAIN, F.; PEREZ, L.R. Prevalência de anticorpos contra el herpesvirus bovino-1 (BHV-1) en la población bovina de los departamentos de la provincia de La Pampa-Argentina,

In: PANVET, XV, 1996, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande, MT: Panamerican Association of Veterinary Sciences, p.278. 1996

GALARZA, J.M.; PERIOLO, O.H. Rinotraqueítis infecciosa bovina – prevalência en la provincia de Formosa mediante la prueba de inmunofluorescência indirecta. **Gac. Vet.**, v.45, p. 1296-1300, 1983.

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

GALVÃO, C. L. Diagnóstico da infecção genital do herpesvírus bovino (HVB-1) pelos métodos de isolamento e IF Direta. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v.38, p.92-94, 1985.

GIBBS, E. P.; RWEYEMAMU, M. M. Bovine herpesviruses. Part 1. Bovine herpesvirus 1. **Vet. Bulletin.**, v. 47, n. 5, p. 317-343, 1977.

GRAHAM, D.A.; MAWHINNEY, K.A.; McSHANE, J.; CONNOR, T.J.; ADAIR, B.M.; MERZA, M. Standardization of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for quantitative estimation of antibodies specific for infectious bovine rhinotracheitis virus, respiratory syncytial virus, parainfluenza-3 virus, and bovine viral diarrhoea virus. **J. Vet. Diag. Investig.** v.9, p. 24-31, 1997.

GRIFFITH, I.B.; GALLEGO, M.I.; VILLAMIL, L.C. Factores de infertilidad y pérdidas económicas en ganado de leche en Colômbia. **Informe ICA-ANALC**, Doc. 002-2-1924-27, 1982.

GUSTAFSON, D. P. Herpesvirus disease of mammals and birds: comparative aspects and diagnosis. In: **Comparative Diagnosis of Viral Disease**, Eds. Kurstak, E.; Kurstak, C. New York, Academic Press. 1981.

GUY, S. J.; POTGIETER, L. N. D. Bovine herpesvirus-1 infection of cattle: Kinetics of antibody formation after intranasal exposure and abortion induced by the virus. **Am. J. Vet.** v. 46, n. 4, p. 893-898, 1985.

HAGE, J. J.; SCHUKKEN, Y.H.; BARKEMA, H. W.; BENEDICTUS, G.; RIJSEWIJK, F.A.M.; G. H. WENTINK, G. H. Population dynamics of bovine herpes 1 infection in a dairy herd. **Vet. Microb.**, v.53, p.317-343, 1997.

HIGGINS, R.J.; EDWARDS, S. Systemic neonatal infectious bovine rhinotracheitis virus infection. In Suceler Calves. **Vet. Record**, v.119, n.8, p. 117-178, 1986.

HIRSCH, C.; FIGUEIREDO, H.C.P. **Curso Virtual Sobre Doenças da Reprodução de Bovinos**. Módulo Rinotraqueite Infecciosa Bovina, v.20, 2000.

HOCHSTEIN-MINTZEL, V.; REINHARDT, G.; RIEDEMANN, S.; NIEDDA, M. Serologia de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) em 21 predios de la Decima Region de Chile. **Archives Med. Vet.**, v. 18, p.53-56, 1986.

HOUSE, J. A.; BAKER, J. A. Bovine herpesvirusBR-IPV. The antibody virus neutralization reaction. **The Cornell Veterinarian**, p. 320-335, 1971.

HOWARD, C.J.; CLARKE, M.C.; BROWNLIE, J. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in cattle sera. **Vet. Microbiol.**, v.10, p.359-369, 1985.

HÜBNER, S.O.; MORAES, M.P.; REBELATTO, M.C. Herpesvírus bovinos isolados no laboratório de virologia de Santa Maria, RS, Brasil. In: JORNADA INTEGRADA DE PESQUISA EXTENSÃO E ENSINO, 1, 1994, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa-UFSM, 1994.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2007. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.com.br>. Acesso em: Janeiro de 2009.

ICTV. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2000.

INAGRO. Instituto de Agronegócios do Maranhão, 2007. Disponível em:<<http://www.inagro.org.br> Acesso em: Janeiro 2009.

KAHRS, R. F. Infectious bovine rhinotracheitis: a review and update. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** v.171, n. 12, p. 1055-1064, 1977.

KAHRS R.F. Infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis. **Viral diseases of cattle**. 2ed. Iowa State University Press, Ames. 2001, 370p.

KIRKBRIDE, C.A. Etiologic agents in a 10 year study of bovine abortions and stillbirths. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.4,n.2, p.160-175, 1992.

KRAHL, M.; BRAGA, A.C.; OLIVEIRA, L.G.; NETO, J.A.S.P.; PRADO, J.A.P.; ROSA, J.C.A.; WUNDER JÚNIOR, E. Pesquisa de anticorpos para leptospirose, Rinotraqueíte Infeciosa Bovina e Diarréia Viral Bovina em soros bovinos de propriedades rurais do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25, 1997, Gramado. **Anais...** Gramado, RS: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1997. INF 075, p.174.

KRAMPS, J.A. et al. A simple, specific, and highly sensitive blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to bovine herpesvirus 1. **J. Clin. Microbiol.**, v.32, n.9, p.2175-2181, 1994.

KUNRATH, C.F.; VOGEL, F.S.F.; OLDONI, I.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; DEZENGRINI, R.; TORRES, F.D.; PAN, K.A. Soroneutralização e imunofluorescência utilizando anticorpos monoclonais no diagnóstico rápido de infecções pelo herpesvírus bovino tipos 1 e 5 (BHV-1 e BHV-5). **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1877-1883, 2004.

LAGE, A.P.; CASTRO, R.S.; MELO, M.I.; AGUIAR, P.H.; BARRETO FILHO, J.B.; LEITE, R.C. Prevalence of antibodies to bluetongue, bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea/mucosal disease viruses in water buffaloes in Minas Gerais State, Brazil. *Revue d'Élevage. Méd. Vet. Pay.Trop*, v.49, n.3, p.195-197, 1996.

LARSON B.L. Diagnosing the cause of bovine abortions and other perinatal deaths. **Vet. Med.**, v.81, p.478-486, 1996.

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

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

LOVATO, L. T. BHV-1 E BHV-5, Isolamentos e Sorologia no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 1998. p. 97-100.

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

McKERCHER, D.G. Studies of the etiologic agents of infectious bovine rhinotracheitis and blaschenausschlag (coital vesicular exanthema). **Am. J. Vet.** v. 24, p.501-508, 1963.

MÉDICI, K.C.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F. Ensaio imunoenzimático comercial no diagnóstico sorológico das infecções por herpesvírus bovino 1. **Ciência Rural**, v.30, n.3, p. 343-346, 2000.

MELO, C. B.; OLIVEIRA, A. M.; FIGUEIREDOH. C. P.; LEITE, R. C.; LOBATO, Z.I. Prevalência de anticorpos contra herpesvírus bovino 1, vírus da diarreia bovina a vírus e vírus da leucose enzoótica bovina em bovinos do Estado de Sergipe, Brasil. **Rev. Bras. Rep. Anim.**, v. 21, n. 2, p. 160-161, 1997.

MELO, C.B. et al. Distribuição de anticorpos para herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos. **Arq. Bras..Med. Vet. Zootec.**, v.54, n.6, p.575-580, 2002.

METZLER A. E.; MATILE H.; GASSMANN, V.; ENGELS, M.; WYLER, R. European isolates of bovine herpesvirus 1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides and reactivity with monoclonal antibodies. **Arch. Virol.** 85:57-59, 1985.

MEYERS, A.L.; HANON, E.; GEORLETTE, D.; PASTORET, P.P.; THIRY, E. Bovine herpesvirus type 1 glycoprotein H is essential for penetration and propagation in cell culture. **J. Gen. Virol.** v.79, p.1983-1987, 1998.

MILLER J. M.; VAN DER MAATEN M.J. Reproductive tract lesions in heifers after intrauterine inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. **Am. J. Vet. Res.** v. 45, n.4, p. 790-794, 1984.

MILLER, J. M.; WHETSTONE, C.A.; VAN DER MAATEN, M. J. Abortifacient property of bovine herpesvirus type 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. **Am. J. Vet. Res.**, v. 52, n. 3, p. 458-461, 1991.

MISRA, V.; BLUMENTHAL, R.M.; BABIUK, L.A. Protein specified by bovine herpesvirus 1 (Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus). **J. Virol.**, v.40, p.367-378, 1998.

MOHANTY, S. B.; DUTTA, S. K. **Vet. Virol.** Philadelphia, p. 107. 1981

MOREIRA, S. P. G. Avaliação do desenvolvimento ponderal de bezerros em plantéis leiteiros infectados pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1). 2004, 89f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

MULLER, 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 bovino (IBR/IPV). **Arq. Instit. Biol.**, São Paulo. v. 45, n. 3, p. 187-190, 1978.

MULLER, S. B. K.; IKUNO, A. A.; CAMPOS, M. T. Ocorrência simultânea de alterações respiratórias e genitais associadas à rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/ vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em um rebanho no Estado de São Paulo. **Arq. Inst. Biológico de São Paulo**, v. 45, n. 3-4, p. 55-60, 1979.

MULLER, S. B. K.; IKUNO, A. A.; CAMPOS, M. T.; MACHADO, J. S.; RIBEIRO, L. O. C Prevalência de anticorpos contra o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/ vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em bovinos do estado de São Paulo. **Arq. Institut. Biol.** de São Paulo, v. 47, n.2, p. 1192-1196, 1981.

MUYLKENS, B.; THIRY, J.; KIRTEN, P.; SCHYNTS, F.; THIRY, E. Bovineherpesvirus 1 infection and bovine rhinotracheitis. **Vet.Res.** v.38, p.181-209, 2007.

NARITA, M.; INUI, S.; NAMBA, K.; SHIMIZU, Y. Recrudescence of infectious bovine rhinotracheitis virus and associated neural changes in calves treated with dexamethasone. **Am. J. Vet.** v.42, n.7, p.1192-1197, 1981.

NOGUEIRA, F. R. C.; CAMARGO, A. J. R.; RESENDE, D. A ocorrência de rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvovaginite pustular infecciosa em bovinos no estado do Rio de Janeiro. Pesagro, RJ. **Comunicação Técnica**, 1986.

OBANDO, C. et al. Serological and molecular diagnosis of bovine viral diarrhoea virus and evidence of other viral infections in dairy calves with respiratory disease in Venezuela. **Acta Vet. Scan.**, v.40, n.3, p.253-262, 1999.

ODEON, A.C. Herpesvirus Bovino 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. 103-111. 1998.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. List B Diseases: Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV). In: **International Animal Health Code**. Paris: OIE, 2000. Disponível em: <<http://www.oie.int/Norms/MCode/htm>>.

OSORIO, F. Latency of bovine herpesvirus-1. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV),. **Anais...** Santa Maria, RS, p. 117-126. 1998.

PARSONSON, I.M.; SNOWDON, W.A. The effect of natural and artificial breeding using bulls infected with or contaminated with, infectious bovine rhinotracheitis virus. **Australian Vet. J.** v. 51, p. 365-369, 1975.

PASTORET, P.; THIRY, E.; BROCHIER, B.I. Bovine Herpesvirus 1 infection of cattle pathogenesis, latency, consequences of latency. **Annual Record Vet.** v.13, p.221-235, 1982.

PINTO, A.M.V.; ROMIJN, P.C.; SILVA, R.C.F.; MARTINS, L.L.; WEIBLEN, R.; ROEHE, P.M.; KIMURA, L.M.S.; ALFIERI, A.A.; LEITE, J.P.G. Detection of bovine viral diarrhoea virus in brain of bovines with clinical symptoms of neurological disorders. *Journal of the Brazilian Society for Virology*, v.6, n.2,

p.146, 2001. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, XII, 2001, Caldas Novas. **Resumos...** Caldas Novas, GO: Sociedade Brasileira de Virologia, 2001, p. 146.

PITUCO, E. M.; DE STEFANO, E.; PASSOS, E.C.; LINHARES, D.C.L. Diagnóstico sorológico da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no período de 1988 a 1992. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 6, 1993, São Paulo. **Resumos...**, São Paulo: SP: Instituto Biológico, p. 16. 1988.

PITUCO, E. M.; DEL FAVA, C. Situação do BVDV na América do Sul. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA, 1998, Santa Maria. **Anais** . p. 49-57.

PITUCO, E. M.; DEL FAVA, C.; OKUDA, L.H.; DE STEFANO, E.; BILINSKYJ, M.C.V.; SAMARA, S.I. Prevalência da infecção pelo Vírus da Diarréia Bovina à Vírus (BVD) em Búfalos (*Bubalus bubalis*) no Vale do Ribeira, SP, Brasil. **Arq. Inst. Biológico de São Paulo**, v. 64, n.1, p. 23-28, 1997.

PITUCO, E.M. Ocorrência da Rinotraqueíte Infecciosa dos Bovinos/Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IBR/IPV) em rebanhos bovinos criados nos Estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná e Minas Gerais. Utilização das reações sorológicas de microssoroneutralização, microhemaglutinação passiva e da Imunofluorescência Indireta para detecção de anticorpos anti-herpesvírus Bovino 1. São Paulo, 1988. 74f. **Dissertação** (Mestrado em Patologia Bovina) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, 1988.

PORTERFIELD, J.S. **Andrew's viruses of vertebrates**. 5 ed. London: Baillière Tindall. 1989.

PRITCHARD, G.; COOK, N.; BANKS, M. Infectious pustular vulvovaginitis infectious pustular balanoposthitis in cattle. **Vet. Rec.** v. 31, p. 587, 1997.

QUINCOZES, C.G.; GOMES, F.R.; FISCHER, G.; OLIVEIRA, L.S.; FERREIRA, L.N.; BARUEL, C.C.; VIDOR, T. Prevalência de HVB em rebanhos com problemas reprodutivos no Sul do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA e V ENCONTRO DA PÓS-GRADUAÇÃO, XII, 2003, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Universidade Federal de Pelotas, 2003. Versão digitalizada.

QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G.A.; VIDOR, T.; BROD, C. S. Prevalence and factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in South of Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.

RAVAZZOLO, A. P.; PIZZOL, M. D.; MOOJEN, V. Evidência da presença de anticorpos para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos em bovinos de alguns municípios do Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo da Faculdade de Veterinária – UFRGS**, v.17, p. 89-95, 1989.

REINHARDT, G.; CARRASCO, L.; TADICH, N.; RIEDEMANN, S. Comparación entre dos técnicas de diagnóstico para diarrea viral bovina (DVB) en 50 predios de la X región, Chile. Seroneutralization y enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA-I). **Arch. of Med. Vet.**, v.33, n.2, p. 1-15, 2001.

RIBEIRO, M.B.; ALICE, F.J.; BRANCO, M.B.C. Prevalência de anticorpos para a rinotraqueíte infecciosa dos bovinos na Bahia. In CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 18, 1982, Camboriú. **Anais...** Camboriú, SC: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, p. 81. 1982.

RIEDEMANN, S.; REINHARDT, G.; TADISCH, N.; AGUILAR, M.; AGUILAR, R.; MONTECINOS, M.I.; MIRANDA, J.C. Seroprevalence of bovine diarrhoea virus (BDV), bovine herpesvirus 1 (BHV-1), parainfluenza virus (PI3) and bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in 12 dairy herds in the province of Valdivia in Chile. **Archives Med. Vet.**, v. 28, p. 121-124, 1996.

RIET-CORREA, F.; MOOJEN, V.; ROEHE, P.M.; WEIBLEN, R. Viroses confundíveis com febre aftosa: revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, v. 26, p. 323-332, 1996.

RIET-CORREA, F.; VIDOR, T.; SCHILD, A. L.; MÉNDEZ, M. C. Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos causadas por

ROCHA, M.A.; GOUVEIA, A.M.G.; LEITE, R.C. Pesquisa de anticorpos anti IBR em soro de touros de uma central de inseminação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1994, Olinda. **Anais...** Recife, PE: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 656p. p.213. 2001.

ROCK D.L. 1994. Latent infection with bovine herpesvirus type 1. **Virol.** 5:233-240, 1994.

ROEHE, P. M.; TEIXEIRA, M. B.; ESTEVES, P. A.; MELO, S. V.; ALMEIDA, R. S.; D'ARCE, R. C. F.; SILVA, T. C.; LEMOS, R. A.; OLIVEIRA, L. G. Situação do BHV-1 e BHV-5 no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 1998. p. 89-96.

ROEHE, P.M.; ALMEIDA, R.S.; TEIXEIRA, M.F.B.; ESTEVES, P.A.; OLIVEIRA, E.A.S.; PETZHOLD, S.A.; SILVA, T.C. Atualização no diagnóstico e controle de infecções por herpesvírus bovinos tipos 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5). **Biológico**, São Paulo, v. 59, n.2, p. 27-32, 1997b.]

ROIZMANN, B.; DESROSIERS, R.C.; FLECKENSTEIN, B.; LOPEZ, C.; MINSON, A.C.; STUDDERT, M. J. The family herpesviridae: an update. **Arch. Virol.**, v. 123, p. 425-449, 1992.

ROIZMAN, B. Herpesviridae. **Fields Virol.** Chapter v. 71, p. 2221-2230. 1996.

ROSA, J.A.; BANGEL, E.; MARTINS, R.M.; OLIVEIRA, L.G.; ROEHE, P.M. Anticorpos contra o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) em bovinos no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 11^º, 1992. Gramado. **Anais..** Porto Alegre: SOVERGS, p.86. 1992.

ROSSI, C.R.; KIESEL, G.K. Effect of infectious rhinotracheitis virus immunization on viral shedding in challenge-exposed calves treated with dexamethasone. **Am. J. Vet.** v.43, n.9, p.1576-1579, 1982.

RUHNKE, H.L. et al. Bovine abortion and neonatal death associated with *Ureaplasma diversum*. **Theriogenology**, v.21, p.295-301, 1984.

SALVADOR, S.C. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. Pelotas, **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, UFPel, 64f. 1997.

SCHILD, A. L.; RIET-CORRÊA, F.; PEREIRA, D. B.; LADEIRA, S.; RAFFI, M. B.; ANDRADE, G. B.; SCHUCH, L. F. Doenças diagnosticadas pelo Laboratório Regional de Diagnóstico no ano de 1993 e comentários sobre algumas doenças. **Bol. Lab. Reg. Diag.** Pelotas, RS. Convênio Embrapa-UFPel, v. 14, p. 20-22, 1994.

SCHULTZ, R.D. et al. A method to test large numbers of bovine semen samples for viral contamination and results of a study using this method. **Theriogenology**, v.17, p.115-123, 1982.

SCROFERNEKER, M.L. **Notas de Imunologia**. Editora da Universidade/UFRGS, 165-166p. 1996.

SHEFFY, B.E., RODMAN, S. Activation of latent infectious bovine rhinotracheitis infection. **J Am Vet Medical Assoc**, v. 163, n. 7, p. 850-851, 1973.

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

SILVA, A.M. et al. (Org). Herpesvírus bovino (tipo 1 e 5) e vírus da diarreia viral bovina (BVDV). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 1998.

SMITH, G.A.; YOUNG, P.L.; REED, K.C. Emergence of a new bovine herpesvirus 1 strain in Australian feedlots. **Arch. Virol.** v.140, p. 599-603, 1995.

SMITH, V.W., COACKLER, W.; MAKER, D. Transmission of a genital isolate of bovine herpesvirus 1 to calves by the respiratory route. **Aust. Vet. J.** v. 56, p.302-304, 1980.

SOLIS-CALDERON, J. J.; CORREA, V. M. S.; CORREA, J. C. S. Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: Seroprevalence and risk factors. **Prev. Vet. Med.** v. 72, p. 253-262, 2005.

SPIILKI, F. R.; ESTEVES, P. A.; LIMA, M.; FRANCO, A. C.; CHIMINAZZO, C.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; DRIEMEIER, D.; ROEHE, P.M. Comparative pathogenicity of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) subtypes 1 (BHV-1.1 and 2a (BHV-1.2a). **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24, n.1, p.43-49, 2004.

SPRECHER, E.; BECKER, Y. Role of Langerhans cells and other cells in viral diseases. **Arc. Virol.** v.132, p.1-28, 1993.

STEVENSON, W. J. **Estatística aplicada à administração**. São Paulo: Harper e RON do Brasil, 485p. 1981.

STILWELL, G.; MATOS, M.; CAROLINO, N.; LIMA, M.S. Effect of a vaccine against respiratory virus on the incidence of respiratory disease in weaned beef calves. **Prev. Vet. Med.** IN PRESS. doi: 10.1016/J. prevetmed. v.02. p.02. 2008.

STRAUB, OC. Advances in BHV1 (IBR) research. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v.108 n.10, p 419-22. 2001.

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

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

TEIXEIRA, M. F. B. Um ensaio imunoenzimático com anticorpo monoclonal para o diagnóstico sorológico de infecções pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1). 1998. 56p. **Tese** (Mestrado) Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre.

TONIN, F.B.; TOBIAS. F. L.; IKUNO, A. A. Prevalence of IBR and BVD/MD in bovine by EIE test. **Virus Reviews & Research**, v.1, p.23, 1996.

VAN OIRSCHOT, J.T. Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. **Vet. Quartely**, v.17, p. 29-33, 1995.

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

VAN SCHAIK, G.; SCHUKKEN, Y.H.; NIELEN, M.; DIJKHUIZEN, A.A.; H. W. BARKEMAAND, H.W.; BENEDICTUS, G. Risk factors existence of bovine

herpesvirus 1 antibodies on nonvaccinating Dutch dairy farms. **Preventive Vet. Med.** v.34, n.3, p.125-136, 1998.

VAN SCHAIK, G.; SCHUKKEN, Y.H.; NIELEN, M.; DIJKHUIZEN, A.A.; H. W. BARKEMAAND, H.W.; BENEDICTUS, G. Risk factors existence of. Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF dairy farms: a cohort study. **Prev. Vet. Med.** v.54, n.3, p.279-289, 2002.

VAN SCHAIK, G. et al. Risk factors existence of bovine herpesvirus 1 antibodies on nonvaccinating Dutch dairy farms. **Prev. Vet. Med.** v.34, n.3, p.125-136, 1998.

VAN SCHAIK, G. et al. Risk factors for introduction of BHV1 into BHV1-free farm Dutch dairy farms: a case-control study. **Veterinary Quarterly**, v.23, n.2, p.71-76, 2001.

VAN SCHAIK, G.; SCHUKKEN, Y. H.; NIELEN, M.; DIJKHUIZEN, A. A.; BARKEMA, H. W.; DENEDICTUS, G. Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF dairy farms: a cohort study. **Prev. Vet. Med.** v. 54, n x, p. 279-289, 2002.

VAN WUIJCKHUISE, DVM¹. L.; J. BOSCH DVM. J.; FRANKEN DVM, P.; K. FRANKENA, K.; A. R. W. ELBERS, A. R. W. Epidemiological characteristics of bovine herpesvirus 1 infections determined by bulk milk testing of all Dutch dairy herds. **Vet. Record**, v.142, p.181-184, 1998.

VIDOR, T. Isolamento e identificação do vírus da Doença das Mucosas no Rio Grande do Sul. **Bolet. Inst. de Pesq. Vet. Desidério Finamor**, especial 2, p.51-58, 1974.

VIDOR, T.; HALFEN, D. C.; LEITE, T. E.; COSWIG, L. T. Herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1): I. Sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. **Ciência Rural**, v. 25, n. 3, p. 421-424, 1995.

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

VONK NOORDEGRAAF, A.; LABROVIC, A.; FRANKENA, K.; PFEIFFER, D. U.; NIELEN, M. Simulated hazards of loosing infection-free status in a Dutch BHV1 model. **Prev. Vet. Med.** v. 62, n. 1, p. 51-58, 2004.

WEIBLEN, R.; KREUTZ, R. C.; CANABARRO, T. F.; FLORES, I. E. Balanoposthitis in bulls due to bovine herpesvirus in South Brasil. **Bras. J. Med. Biology Res.**, v. 24, p. 773-775, 1991.

WEIBLEN, R. Doenças víricas que interferem na produção leiteira. In: CHARLES, T. P.; FURLONG, J. **Doenças dos bovinos de leite adultos**. Coronel Pacheco, Embrapa-CNPGL, p. 45-62, 1992a.

WEIBLEN, R.; KREUTZ, L. C.; CANABARRO, T. F.; SCHUCH, L.F.; REBELATO, M.C. Isolation of bovine herpesvirus 1 from preputial swabs and semen of bull with balanoposthitis. **J. Vet. Diag. Investig.** v.4, p. 341-343, 1992b.

WEIBLEN, R.; MORAES, M. P.; REBELATTO. Bovine herpesvirus isolates. **Rev. Microb.**, v. 27, n.3, p. 87-90, 1996.

WENTINK G.H.; VAN OIRSCHOT, J.T.; VERHOEFF, J. Risk of infection with bovine herpesvirus 1 (BHV1): a review. **Vet. Quart.**, v.15, n.1,p.30-33, 1993.

WHETSTONE, C.A.; MILLER, J.M.; BORTNER, D.M.; VAN DER MAATEN, M.J. Changes in the bovine herpesvirus 1 genome after reactivation from latency, and after superinfection in the host animal. **Arch.Virol.**, v.106, n. 3/4, p. 261-279, 1989.

WILD, P.; SCHRANER, E.M.; PETER, J.; LOEPFE, E.; ENGELS, M. Novel entry pathway of bovine herpesvirus 1 and 5. **J. Virol.** v.72, p.9561-9566, 1998.

WIZIGMANN, G.; VIDOR, T.; RICCI, Z.M.T Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus PI-3, IBR e diarreia a vírus - Enfermidade das Mucosas dos bovinos no Estado do Rio Grande do Sul.

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

ZUÑIGA, A.; OSSA, J.; HINCAPIÉ, O. Prevalência de rinotraqueitis infecciosa bovina em reprodutores del Urabá antioqueño , **Vet. Col. Cienc. Pec.**, v.1, p. 135-148

Apêndices

APÊNDICE A – FICHA CADASTRAL DA PROPRIEDADE.

FreqUência de Anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em Bovinos
Leiteiros não Vacinados no Estado do Maranhão.

Ficha Nº _____

Ficha Cadastral da Propriedade

Dados Gerais

1. Nome da Propriedade: _____

2. Bacia Leiteira: _____ Município: _____

3. Endereço: _____

4. Nome do Proprietário: _____

5. Raça dos Animais: _____ Pelagem _____

6. Sistema de Criação: _____

7.

ANIMAIS									
Faixa Etária	> 03 anos		03<l<07 anos		> 07 anos		TOTAL		
	M	F	M	F	M	F	M	F	
Quantidade									

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO.

Ficha Nº _____

INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS:

1. Adquire animais com freqüência? () Sim () Não
2. Aquisição de animais: () Região () Estado () Outros Estados
3. Realiza quarentena? () Sim () Não
4. Assistência veterinária: () Sim () Não
5. Ordenha: Nº de ordenhas / Dia: _____
() Manual () Mecânica
6. Produção/dia/leite: _____
7. Reprodução:
() MN () MN + IA () IA
8. Destino dos Animais:
Destino dos Animais: () Abate () Venda
9. Propriedades Vizinhas : Sim () Não ()
Distância Aproximada: _____
Contato entre os animais das prop. vizinhas: () Sim () Não
Contato de Fômites das prop. vizinhas: () Sim () Não
10. Criação de suínos: Sim () Não ().
11. Criação de caprinos/ovinos: Sim () Não ().
12. Vacinação: Sim () Não ()
Aftosa () Raiva () Clostridioses () Brucelose ()
Leptospirose () BVD ()
13. Ocorrência de doenças: Sim () Não ()
14. Diagnosticadas : Sim () Não ()
15. Sinais Clínicos
- 15.1 Digestivos: Sim () Não ()
Quais: _____
- 15.2 Reprodutivos: Sim () Não ()

Quais: _____

Eficiência Reprodutiva: Retorno ao cio ()
 Aumento do intervalo entre cios ()
 Esterelidade ()

15.3 Respiratórios: Sim () Não ()

Quais: _____

15.4 Neurológicos: Sim () Não ()

Quais: _____

16. Sacrifício de Animais: Sim () Não ().

Observações: _____

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)