

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Fatores Associados à Infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina e pelo  
Herpesvírus Bovino tipo 1 em rebanhos leiteiros da Mesorregião Centro-Oriental  
do Rio Grande do Sul.**

**Aluno:** Igor Cesar Santos de Miranda

**Orientador:** Luís Gustavo Corbellini

**Porto Alegre,**

**2012**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Fatores Associados à Infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina e pelo  
Herpesvírus Bovino tipo 1 em rebanhos leiteiros da Mesorregião Centro-Oriental  
do Rio Grande do Sul.**

**Autor: Igor Cesar Santos de Miranda**

**Dissertação apresentada como requisito  
parcial para obtenção do grau de Mestre em  
Ciências Veterinárias na área de Epidemiologia  
Veterinária.**

**Orientador: Luís Gustavo Corbellini**

**PORTO ALEGRE  
2012**

### CIP - Catalogação na Publicação

Miranda, Igor Cesar Santos de  
Fatores Associados à Infecção pelo Vírus da Diarreia  
Viral Bovina e pelo Herpesvírus Bovino tipo 1 em  
rebanhos leiteiros da Mesorregião Centro-Oriental do  
Rio Grande do Sul. / Igor Cesar Santos de Miranda. --  
2012.  
63 f.

Orientador: Luís Gustavo Corbellini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,  
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Fatores de risco. 2. Prevalência. 3. BVDV. 4.  
BoHV-1. 5. Tanque de Leite. I. Corbellini, Luís  
Gustavo, orient. II. Título.

**Igor Cesar Santos de Miranda**

**Fatores Associados à Infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina e pelo Herpesvírus Bovino tipo 1 em rebanhos leiteiros da Mesorregião Centro-Oriental do Rio Grande do Sul.**

Aprovado em 20 ABR 2012.

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Luís Gustavo Corbellini

Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Rudi Weiblen

Membro da Comissão

---

Prof.Dra. Mari Lourdes Bernardi

Membro da Comissão

---

Prof. Dr Cláudio Wageck Canal

Membro da Comissão

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais Reinaldo e Iara, por incentivarem mais esta etapa da minha vida, por aguentarem essa mudança de vida tão brusca em tão pouco tempo e por me apoiarem. Amo vocês!

Ao meu orientador, Professor Doutor Luís Gustavo Corbellini, por toda atenção, paciência e ensinamentos prestados ao longo desses dois anos de mestrado. Agradeço imensamente a oportunidade de ter desenvolvido este trabalho, pela orientação prestada, por me ensinar o prisma da epidemiologia e por ter acreditado em mim quando eu precisei.

À Professora Doutora Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso por toda atenção, disponibilidade para dar conselhos nos momentos em que eu precisei e pela oportunidade de ter convivido com tanta sabedoria.

À Médica Veterinária e Fiscal Federal Agropecuária Elaine Fátima de Sena por me incentivar a iniciar o mestrado acreditando no meu potencial.

Às pessoas especiais que me ajudaram a focar no meu mestrado e que fizeram esses dois anos de mestrado muito agradáveis. O Mag, a Mi, a Nessa, a Thay, a Miu, a Pri, a Vivi, a Fê, o Alemão. Valeu mesmo!

Aos meus amigos de Brasília que me apoiaram e sempre me incentivaram.

Aos colegas do Laboratório de Epidemiologia, Virologia e EPILAB que auxiliaram na realização deste trabalho.

Aos colegas da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS pela convivência agradável.

Muito Obrigado!

## **RESUMO**

A bovinocultura de leite é importante para o abastecimento do mercado interno brasileiro, tendo o Estado do Rio Grande do Sul como o segundo maior produtor. Doenças virais ocasionam diversos prejuízos na cadeia de produção bovina. Com o objetivo de manter e aprimorar o nível de produção, torna-se importante estabelecer programas sanitários que permitam o controle de doenças que possam resultar em grandes perdas econômicas. Para o sucesso de tais programas, é importante levar em consideração o conhecimento da epidemiologia da doença em conjunto com técnicas laboratoriais adequadas, além de buscar fatores associados à permanência do vírus no rebanho. Os objetivos desse estudo foram o de avaliar a prevalência e fatores de risco do vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em rebanhos leiteiros não vacinados de uma cooperativa de produtores de leite no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Amostras de tanques de leite de 281 rebanhos leiteiros selecionados de forma aleatória simples foram testados para anticorpos contra o BVDV utilizando um kit comercial de ELISA e contra glicoproteína B do BoHV-1 através de um kit comercial de ELISA de bloqueio. Em cada propriedade avaliada, aplicou-se um questionário epidemiológico para investigar os fatores de risco para estas doenças. Uma prevalência de rebanho de 42,70% (120/281; IC 95%: 36% - 48%) para infecção pelo BVDV e de 27,88% (75/269; IC 95%: 22% - 33%) para infecção pelo BoHV-1 foram encontradas na população estudada. Dentre os fatores de risco avaliados, a utilização de inseminação artificial foi considerado como fator de risco para infecção pelo vírus da diarréia viral bovina e possuir suínos na propriedade foi considerado como fator de proteção para infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1. O presente estudo identificou 10,3% de rebanhos com infecção ativa de BVDV e uma prevalência moderada para ambas as doenças em uma população de pequenos rebanhos leiteiros criados em sistemas semi-intensivos de produção que não utilizam medidas específicas de controle de infecção.

**PALAVRAS-CHAVE:** FATORES DE RISCO, PREVALÊNCIA, BVDV, BoHV-1 TANQUE DE LEITE.

## ABSTRACT

*The dairy cattle is important to supply the Brazilian market, with the state of Rio Grande do Sul as the second largest producer. Viral diseases cause several damages in the bovine production. In order to maintain and improve the level of production, it becomes important to establish health programs that allow the control of diseases that can result in large economic losses. For the success of such programs, it is important to take into account the knowledge of the epidemiology of the disease in conjunction with appropriate laboratory techniques, and risk factors associated with persistence of the virus in the herd. The objectives of this study were to assess the prevalence and risk factors for the bovine viral diarrhea virus (BVDV) and bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) in unvaccinated dairy herds of a cooperative of milk producers in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Bulk tank milk samples from 281 dairy herds selected by simple random sampling were tested for BVDV antibodies using a commercial ELISA kit and against the glycoprotein B of BoHV-1 using a commercial ELISA kit of blocking. In each assessed property, we applied an epidemiological questionnaire to investigate risk factors for these diseases. A herd prevalence of 42.70% (120/281, 95% CI: 36% - 48%) for BVDV infection and 27.88% (75/269, 95% CI: 22% - 33%) for BoHV-1 were observed in the studied population. Among the risk factors evaluated, the use of artificial insemination was considered as a risk factor for infection with bovine viral diarrhea virus and pigs on the property have been considered as a protective factor for infection by bovine herpesvirus type 1. The present study identified 10.3% of herds with active BVDV infection and a moderate prevalence for both diseases in a population of small dairy herds reared in semi-intensive systems of production which do not use specific measures to control infection.*

**KEY-WORDS:** RISK FACTORS, PREVALENCE, BVDV, BoHV-1, BULK TANK MILK.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa da localização geográfica dos municípios das propriedades visitadas. Os pontos representam a localização das propriedades visitadas. ....	32
Figura 2 - Distribuição das propriedades com BVDV. Propriedades negativas: círculos vazados; Propriedades positivas: círculos cheios. ....	38
Figura 3 - Distribuição das propriedades testadas para BoHV -1; Negativos: círculos vazados; Positivos: círculos cheios; Inconclusivos: X. ....	39



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição de prevalência de rebanho de BVDV no mundo. ....	17
Tabela 2 - Distribuição de prevalência de rebanho de BVDV no Brasil. ....	18
Tabela 3 - Distribuição de prevalência de rebanho de BoHV no mundo. ....	25
Tabela 4 - Intervalo da densidade óptica para a classificação do resultado de ELISA para BVDV. ....	33
Tabela 5 - Distribuição das variáveis que caracterizam as propriedades visitadas (n=281). ....	36
Tabela 6 - Distribuição de frequência das classes de densidade óptica (CDO) obtidas como resultado do teste de ELISA para BVDV (n= 281). ....	37
Tabela 7 - Distribuição de frequência dos resultados de ELISA para BoHV-1 (n= 281). ....	37
Tabela 8 - Variáveis oferecidas para a análise multivariada de fatores de risco para BVDV. ....	40
Tabela 9 - Variáveis oferecidas ao modelo de sinais clínicos relacionados com BoHV-1. ....	40
Tabela 10 - Variáveis oferecidas para o modelo multivariado de fatores de risco para BoHV-1. ....	41
Tabela 11 - Resultado final da análise de regressão logística para fatores de risco de ocorrência de BVDV e BoHV-1. ....	42

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AIC – Akaike Information Criterion

BDV – Border Disease Virus

BoHV – Herpesvírus Bovino

BoHV-1 – Herpesvírus Bovino tipo 1

BoHV-2 – Herpesvírus Bovino tipo 2

BoHV-4 – Herpesvírus Bovino tipo 4

BoHV-5 – Herpesvírus Bovino tipo 5

BVD – Bovine Viral Diarrhea

BVDV – Vírus da Diarreia Viral Bovina

BVDV-1 – Vírus da Diarreia Viral Bovina tipo 1

BVDV-2 – Vírus da Diarreia Viral Bovina tipo 2

CDO – Classe de Densidade Óptica

CSFV – Classical Swine Fever Virus

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DO – Densidade Óptica

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

gB – Glicoproteína B

IBR – Rinotraqueíte Infecciosa Bovina

IPB – Balanopostite Pustular Infecciosa

IPV – Vulvovaginite Pustular Infecciosa

PI – Persistentemente Infectado

RNA – Ácido Ribonucleico

SIG – Sistema de Informação Geográfica

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Diarreia Viral Bovina (BVD).....</b>	<b>13</b>
2.1.1 Biotipos virais.....	13
2.1.2 Característica da Infecção e Patogenia .....	14
2.1.3 Epidemiologia.....	15
2.1.3.1 Transmissão.....	15
2.1.3.2 Prevalência.....	16
2.1.3.2.1 Situação no mundo .....	16
2.1.3.2.2 Situação no Brasil.....	17
2.1.3.3 Fatores de risco.....	18
2.1.4 Controle .....	19
<b>2.2 Herpesvírus Bovino (BoHV) .....</b>	<b>20</b>
2.2.1 Tipos de BoHV .....	20
2.2.2 Características da infecção e patogenia .....	21
2.2.2.1 Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) .....	22
2.2.2.2 Balanopostite pustular infecciosa (IPB) e vulvovaginite pustular infecciosa (IPV) .....	23
2.2.2.3 Encefalite .....	23
2.2.3 Epidemiologia.....	23
2.2.3.1 Transmissão.....	24
2.2.3.2 Prevalência.....	24
2.2.3.2.1 Situação no mundo .....	24
2.2.3.2.2 Situação no Brasil.....	25
2.2.3.3 Fatores de Risco.....	25
2.2.4 Controle .....	26
<b>2.3 Métodos de detecção viral.....</b>	<b>26</b>
2.3.1 ELISA em amostra de leite.....	27
2.3.1.1 Teste em tanque de leite para BVDV .....	28
2.3.1.2 Teste em tanque de leite para BoHV .....	28
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>30</b>
<b>3.1 Caracterização da região e população alvo (N) .....</b>	<b>30</b>
<b>3.2 População de estudo (n) e amostragem.....</b>	<b>31</b>
<b>3.3 Questionário epidemiológico e georreferenciamento .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4 Diagnóstico sorológico em tanque de leite.....</b>	<b>31</b>
3.4.1 Interpretação do ELISA para BVDV .....	32
3.4.2 Interpretação do ELISA para BoHV .....	34
<b>3.5 Análise estatística.....</b>	<b>34</b>
3.5.1 A seleção de variáveis a serem oferecidas no modelo multivariado .....	35
3.5.2 Construção do modelo de análise de fatores de risco.....	35
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Caracterização da população .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2 Prevalência de BVDV e BoHV-1 .....</b>	<b>37</b>
<b>4.3 Fatores de risco para BVDV e BoHV-1 .....</b>	<b>40</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>43</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>48</b>

<b>ANEXO I .....</b>	<b>60</b>
----------------------	-----------

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem na bovinocultura uma de suas atividades de maior importância econômica e social. Apresenta-se hoje como o maior exportador de carne bovina e o quinto maior produtor de leite no mundo (ABIEC, 2009; ABPL, 2010). A bovinocultura de leite é importante para o abastecimento do mercado interno, tendo o Estado do Rio Grande do Sul como o segundo maior produtor no Brasil. Dessa forma, no intuito de manter e aprimorar o nível de produção torna-se importante estabelecer um programa de controle sanitário que permita o domínio de situações que possam resultar em grandes perdas econômicas e, além disso, permita manter a competitividade do país no mercado mundial (RADOSTTIS, 2007; FLORES, 2007; EMBRAPA, 2012).

Doenças virais ocasionam diversos prejuízos na cadeia de produção bovina que geram, por consequência, a necessidade da adoção e implementação de programas voltados para a sanidade bovina. Para o sucesso de tais programas, é importante que sejam efetuados diagnósticos precisos que levem em consideração o conhecimento da epidemiologia da doença em conjunto com técnicas laboratoriais adequadas, e examinem os fatores associados à permanência do vírus no rebanho.

A diarreia viral bovina (*Bovine Viral Diarrhea- BVD*) é uma enfermidade que está presente em muitos rebanhos (VOGEL et al., 2001; LINDBERG, 2003; DIAS; SAMARA, 2003; NORONHA et al., 2003; GROOMS, 2006), tornando importante a realização de estudos para a construção de programas de controle da doença (HOUE, 1999). O vírus da diarreia viral bovina (BVDV), responsável por causar infecções predominantemente subclínicas é um dos principais patógenos virais de bovinos. A principal característica da presença do vírus no rebanho é a perda reprodutiva como retorno ao cio ou aborto (VOGEL et al., 2001; DIAS; SAMARA, 2003).

Assim como o BVDV, os herpesvírus bovino (BoHV) apresentam uma grande variedade de sinais clínicos, tais como quadros respiratórios, reprodutivos (ROEHE, 1997) ou encefalites (SANCHES et al., 2000). A transmissão de BoHV-1 e BoHV-5 ocorre diretamente pelas vias oronasal, genital e ocular (ENGELS; ACKERMANN, 1996), ou de forma indireta, mediante contato com fômites contaminados, realização de inseminação artificial sem medidas de biossegurança, transferência de embriões ou mesmo através do leite (MARS et al., 2000a; FRANCO e ROEHE, 2007; CAMPOS et al., 2009).

São poucas as investigações que avaliam os fatores de risco de BVDV e BoHV em rebanhos bovinos leiteiros no Brasil (QUICOZES et al., 2007; BRITO et al., 2010). Portanto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a prevalência e os principais fatores de risco de BVDV e BoHV-1 em termos de rebanho, em uma cooperativa de bovinos leiteiros de uma importante bacia produtora do Rio Grande do Sul.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Diarreia Viral Bovina (BVD)

O agente etiológico responsável por causar a diarreia viral bovina (“bovine viral diarrhoea” – BVD) pertence ao gênero *Pestivirus*, família *Flaviviridae*, assim como o vírus da doença da fronteira (“border disease vírus” - BDV) e o vírus da peste suína clássica CSFV (RIDPATH; FLORES, 2007). O BVDV é um vírus RNA de fita simples, de polaridade positiva, envelopado e com nucleocapsídeo icosaédrico. Possui um formato arredondado com aproximadamente 60nm de diâmetro e é facilmente inativado por calor, solventes e detergentes (RIDPATH; FLORES, 2007; PETERHANS; SCHWEIZER, 2009). Os vírus RNA possuem alta taxa de mutação e recombinação gênica apresentando ampla heterogeneidade (GOENS, 2002).

Atualmente o BVDV encontra-se dividido em BVDV-1 e BVDV-2 (VILCEK et al., 2005; LIU et al., 2010). Similaridade entre os dois genótipos podem ser observadas, pois ambos resultam em doença clínica ou subclínica quando infectam animais adultos (RIDPATH, 2003). O genótipo BVDV-1 é o mais utilizado em testes diagnósticos, pesquisas e produção de vacinas. Já o genótipo BVDV-2 pode ser obtido a partir do soro fetal de animais persistentemente infectados (PI) nascidos de vacas vacinadas contra BVDV-1 e de bovinos que morreram de síndrome hemorrágica, uma doença aguda causada pelo genótipo BVDV-2 não citopático (RIDPATH, 2003; RADOSTITS et al., 2007).

#### 2.1.1 Biotipos virais

Os pestivírus apresentam dois biotipos, os não-citopáticos e os citopáticos. Ambos são capazes de promover infecções naturais, porém os biotipos não-citopáticos são mais frequentes e possuem a capacidade de se replicar na célula do hospedeiro sem causar morte celular, sendo considerado o biotipo responsável pelo animal PI (VILCEK; NETTLENON, 2006; PETERAHNS; SCHWEIZER, 2009). Já o biotipo citopático é menos relatado e está relacionado com a Doença das Mucosas, sendo originado a partir de mutações ou rearranjos estruturais do genoma viral (GROOMS, 2004).

### 2.1.2 Característica da Infecção e Patogenia

A infecção pelo BVDV, o grau de severidade e as possíveis consequências estão diretamente ligados com: a estrutura do vírus, o genótipo e biotipo viral, como a fase reprodutiva e a situação imune do hospedeiro (RIDPATH, FLORES, 2007). A infecção causada pelo BVDV tem como principal impacto as desordens reprodutivas, resultando em significativas perdas econômicas (GROOMS, 2004; BROCK, 2004; GROOMS, 2005).

Com a análise do genoma viral em conjunto com a caracterização antigênica, os pestivírus, como o BVDV e o BDV, não são espécie-específicos. Sendo assim, esses vírus infectam principalmente bovinos e ovinos, respectivamente, mas por não serem espécie-específicos, podem infectar outras espécies como suínos, javalis ou mesmo outros ruminantes artiodáctilos (EVERMANN, 2005; VILCEK; NETTLETON, 2006).

O BVDV realiza a replicação viral inicialmente na mucosa nasal e nas tonsilas, após a penetração no organismo do hospedeiro. Posteriormente, os órgãos linfoides disseminam o vírus por meio da circulação (POTGIETER, 2004; RIDPATH; FLORES, 2007; LUNARDI et al., 2008; DIEGUEZ et al., 2009).

Como consequência da disseminação viral, podem ocorrer três tipos de infecção. A primeira, sendo chamada de transitória ou aguda, ocorre em vacas não prenhes, é observada em animais que não tiveram contato com o vírus. Afeta principalmente animais de 6 a 12 meses de idade e a causa está geralmente vinculada a cepas de baixa virulência, apresentando uma alta morbidade com baixa ou inexistente mortalidade (FLORES; SCHUCH, 2007). O segundo tipo, infecção persistente, é resultado da infecção de fêmeas prenhes soronegativas e depende do estágio de gestação em que ocorre a infecção, do biotipo e da cepa do vírus. Pode ocorrer reabsorção embrionária caracterizada por retorno ao cio por períodos irregulares, abortos, mumificação fetal, natimortos, nascimento de bezerros fracos, que podem morrer em seguida ou apresentar crescimento retardado; ou o nascimento de animais PI. Em geral, abortos em qualquer fase de gestação podem ser atribuídos ao BVDV. Fetos infectados no terço final da gestação frequentemente nascem normais, livres do vírus, mas soropositivos. (GROOMS, 2006; RIDPATH; FLORES, 2007).

A consequência de uma infecção aguda em vacas prenhes entre o 40º e 125º dia de gestação é o estabelecimento de infecção persistente. Os fetos infectados nesse período desenvolvem imunotolerância ao vírus e o organismo jamais consegue eliminar



a infecção pelo vírus. Esses animais tornam-se portadores permanentes e expõem o vírus continuamente em secreções e excreções. Os bezerros que nascem PI são geralmente soronegativos. Os animais PI podem apresentar crescimento retardado, malformações congênitas ou serem aparentemente saudáveis. (GROOMS, 2004; RIDPATH; FLORES, 2007).

O terceiro tipo é uma condição severa, de baixa morbidade e de alta mortalidade. Essa apresentação ocorre quando animais PI sofrem uma superinfecção por dois biotipos de BVDV. Para tanto, o biotipo não citopático sofre mutações, deleções ou rearranjos genéticos originando um biotipo citopático que determinará o surgimento da doença das mucosas. É considerada uma consequência tardia da infecção pelo BVDV em vacas prenhes que originam animais PI (POTGIETER, 2004; RIDPATH; FLORES, 2007).

### 2.1.3 Epidemiologia

O BVDV ocasiona perdas econômicas significativas à bovinocultura, apresentando uma distribuição mundial irregular (GOENS, 2002). Possui uma estrutura genética e antigênica bem semelhante entre seus biótipos, sendo todos capazes de infectar o feto por via vertical (atravessando a barreira placentária) resultando em uma variedade de quadros clínicos (BOLIN; GROOMS, 2004; PETERHANS; SCHWEIZER, 2009). É uma doença predominantemente subclínica, que ocorre em bovinos assim como em ovinos, suínos, caprinos e ruminantes não domésticos de vida livre ou em cativeiro (BELKNAP et al., 2000; EVERMANN, 2006; VILCEK et al., 2005; VILCEK; NETTLETON, 2006).

#### 2.1.3.1 Transmissão

A transmissão por BVDV pode resultar tanto em infecções agudas ou transitórias quanto persistentes, podendo ocorrer por duas vias: direta ou indireta (RIDPATH; FLORES, 2007). O contato direto dos animais por via oronasal com secreções, excreções, restos fetais de aborto ou fluidos fetais durante o nascimento de bezerros PI são exemplos da via direta da transmissão por BVDV. As vias consideradas indiretas são, por exemplo, fômites, insetos hematófagos, embriões, sêmen ou soro fetal contaminados (NISKANEN; LINDBERG, 2003; LINDBERG et al., 2004;

WRATHALL et al., 2006; STHAL et al., 2007). A transmissão via transferência de embriões é possível desde que a doadora ou a receptora apresentem infecção aguda ou persistente, ou caso o soro fetal utilizado para lavar o embrião esteja contaminado (THURMOND, 2005; GARD; GIVENS; STRINGFELLOW, 2007).

Pela capacidade de sobreviver no ambiente por uma semana ou menos, o BVDV pode infectar animais expostos a equipamentos como agulhas, luva de palpação, material cirúrgico não esterilizado, “formiga”, aplicadores de brinco ou mesmo alimentos contaminados que foram utilizados ou fornecidos aos animais com infecção aguda ou animais PI (THURMOND, 2005). Outro método de transmissão é a forma mecânica por insetos hematófagos como a mosca ou os aracnídeos como o carrapato (THURMOND, 2005; ALMEIDA, 2010).

#### 2.1.3.2 Prevalência

A prevalência e a disseminação do BVDV estão associadas à presença de animais com infecção transitória ou aguda e, principalmente, à existência e manutenção de animais PI no rebanho (HOUE, 1999). As alterações pertinentes às práticas de manejo e à forma de criação podem interferir na transmissão e permanência do vírus nos animais infectados (HOUE, 1999; VIET; FOURICHON, 2007; EZANNO; FOURICHON; SEEGERS, 2008; VAN CAMPEN, 2010).

##### 2.1.3.2.1 Situação no mundo

O BVDV está presente na população bovina de diversos países. Inúmeros trabalhos demonstram a presença do vírus em amostras de rebanho e diferentes subgenótipos como demonstrados na tabela 1

Tabela 1 - Distribuição de prevalência de rebanho de BVDV no mundo.

País	Autor	Ano	Material	Teste	Prevalência
Tailândia	Kampa et al	2004	Leite	ELISA	73,00%
Lituânia	Mockeliuniene et al	2004	Soro	ELISA	58,20%
Portugal	Niza-Ribeiro et al	2005	Leite	ELISA	27,00%
Jordânia	Talafha et al	2008	Soro	ELISA	80,70%
Irã	Garoussi et al	2008	Leite	ELISA	93,98%
Peru	Stahl et al	2008	Leite	ELISA	96,00%
Uruguai	Guarino et al	2008	Soro	ELISA	43,47%
Coréia	Lee et al	2008	Soro	ELISA	58,00%
Irã	Garoussi et al	2009	Soro	ELISA	72,25%
Irã	Khalili et al	2010	Leite	ELISA	89,24%
Camarões	Handel et al	2011	Soro	ELISA	90,00%
Equador	Saa et al	2012	Soro	ELISA	74,00%

#### 2.1.3.2.2 Situação no Brasil

O primeiro registro de BVDV foi descrito através de achados clínicos e patológicos de Correa e colaboradores (1968). Posteriormente, diversos estudos relacionados à prevalência de BVDV em rebanho apresentaram resultados que variaram de 22% a 82%, como demonstrado na tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição de prevalência de rebanho de BVDV no Brasil.

Estado	Autor	Ano	Material	Teste	Prevalência
RS	Canal et al	1998	Soro	Soro neutralização/ELISA	90,00%
MG SP	Dias e Sâmara	2003	Soro	Vírus neutralização/PCR	26,07%
PB	Thompson et al	2006	Soro	Soro neutralização	22,20%
RS	Quincozes et al	2007	Soro	Soro neutralização	82,35%
GO	Brito et al	2010	Soro	Soro neutralização	64,00%
MA	Chaves et al	2010	Soro	ELISA	61,50%
MA	Fonseca et al	2011	Soro	ELISA	67,14%

### 2.1.3.3 Fatores de risco

Os fatores de risco relacionados como a permanência de BVDV em uma região específica ou mesmo no rebanho são diversos e podem estar associados à existência de infecção ativa sendo ela aguda ou persistente na população estudada (VIET; FOURICHON; SEEGERS, 2007). De acordo com Fray et al, (2000), o BVDV pode ser transmitido mediante inseminação artificial, usando um sêmen tanto de touro com infecção transitória quanto com infecção persistente. Luzzago (2008), em um estudo realizado na região norte da Itália, detectaram alguns fatores de risco como: comercialização de animais, a participação em eventos com aglomerações de animais e mistura de diferentes rebanhos no mesmo pasto ou mesmo mistura de ovinos e/ou caprinos no pasto com bovinos.

Um estudo realizado na Jordânia encontrou os seguintes fatores de risco também relacionados à permanência de BVDV: possibilidade de visitas a outras propriedades por parte dos funcionários e a não realização do isolamento de animais recém-comprados (TALAFHA et al., 2009). Chaves et al, (2010) avaliaram alguns fatores de risco relativos à manutenção do BVDV no rebanho, a exemplo dos seguintes: baixa quantidade da produção de leite por vaca, ausência de assistência veterinária na propriedade, manejo reprodutivo utilizado e histórico de aborto. Saa et al. (2011) realizaram um estudo no Equador que relacionou a raça do gado, o manejo reprodutivo,

densidade animal, o contato entre animais vizinhos pela cerca e a altitude da propriedade como fatores de risco para BVDV.

#### 2.1.4 Controle

A presença contínua do BVDV nos rebanhos pode ser relacionada às falhas na implementação de programas de monitoramento de rebanho, como também na instituição de programas de imunização e, ainda, a ausência relativa ao desenvolvimento de programas eficazes de biossegurança (RADOSTITS et al., 2007). É importante se levar em consideração que o tipo de rebanho, a situação epidemiológica da região e o método de diagnóstico utilizado são relevantes para a implantação de programas de controle (MOENNIG, 2005; MARS e VAN MAANEN, 2005; HEFFERNAN et al., 2009; VAN CAMPEN, 2010). Diversos países desenvolvem um programa de controle para erradicação do BVDV implantado, dentre eles, a Alemanha, a França, a Grã-Bretanha e a Holanda. Em outros países, os programas estão em fase de execução, como ocorre na Áustria, nos Estados Unidos da América e na Suíça. (SYNGE et al., 1999; MOENNIG, 2005; HEFFERNAN et al., 2009; PRESI; HEIM, 2010; ROSSMANITH et al., 2010; VAN CAMPEN, 2010).

A organização cronológica dos diagnósticos utilizados é essencial para o desenvolvimento de programas eficientes de controle e erradicação do BVDV, os quais testes devem ser ordenados da seguinte forma: a)classificação do estado sanitário do rebanho; b)identificação dos animais infectados em rebanhos positivos; c)monitoramento contínuo para confirmar o estado sanitário do rebanho ( MOENNIG, 2005; ROSSMANITH et al., 2010).

Os testes de detecção de anticorpos, a partir de amostras de leite oriundo de vacas primíparas ou mesmo a detecção do agente viral em tanque de leite são os testes indicados para classificação do estado sanitário do rebanho (GREISER-WILKE; GRUMMER; MOENNIG, 2003; PRESI; HEIM, 2010). Depois de classificado o rebanho, a identificação do animal PI e sua posterior eliminação é o segundo passo. Identificar o animal PI é o ponto principal no controle de infecções ao rebanho e prevenção de nascimento de outros animais PI (GREISER-WILKE; GRUMMER; MOENNIG, 2003; GROOMS, 2004). Em seguida, a providência a ser adotada é a detecção de animais PI que não foram identificados anteriormente, ou mesmo a detecção de reinfestação, o que consiste no monitoramento do rebanho. (LAUREYNS;

RIBBENS; KRUIF, 2010; PRESI; HEIM, 2010). Para se tomar as medidas corretas concernentes a biossegurança, todos os fatores de risco associados ao surgimento do BVDV devem ser analisados, pois, dessa forma, há possibilidade de se prevenir o rebanho da exposição ao vírus (PRESI; HEIM, 2010).

## 2.2 Herpesvírus Bovino (BoHV)

Os herpesvírus pertencem à família *Herpesviridae*. Essa família é dividida com base em características moleculares e biológicas em três subfamílias: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae*, *Gammaherpesvirinae* (FRANCO; ROEHE, 2007; ROIZMANN; PELLETT, 2007; THIRY et al., 2007). Mais especificamente, os membros relacionados à subfamília *Alphaherpesvirinae* apresentam como característica possuírem uma grande quantidade de hospedeiros, um curto ciclo de replicação com rápida lise das células infectadas e a capacidade de estabelecerem latência geralmente nos neurônios sensoriais como o nervo trigêmeo do hospedeiro (FRANCO; ROEHE; MUYLKENS et al., 2007; ROIZMANN; PELLETT, 2007).

Já os membros da subfamília *Betaherpesvirinae* são caracterizados por possuírem um ciclo lento de replicação com uma lise celular tardia. Podem estabelecer latência em células linforreticulares, renais, e em glândulas secretoras, dentre outros tecidos (ROIZMANN et al., 1992). Os vírus da subfamília *Gammaherpervirinae* apresentam hospedeiros restritos e são capazes de realizar a replicação ou estabelecer a latência em células linfóides (ROIZMANN; PELLETT, 2001).

Os herpesvírus apresentam o material genético em um DNA de fita dupla, envolvido por um capsídeo icosaédrico com aproximadamente 110 nm de diâmetro. Possui envelope e uma camada entre o capsídeo e o envelope, chamada de tegumento (STRAUB et al., 2001; ROIZMANN; PELLETT, 2007; MUYLKENS et al., 2007). Pela composição lipoproteica do envelope, o herpesvírus apresenta uma alta sensibilidade à solvente, detergente, proteases, por aquecimento acima de 60°C e armazenagem a -20°C. (STRAUB, 2001).

### 2.2.1 Tipos de BoHV

Os herpesvírus estão subdivididos em três subfamílias, onde reúnem características genotípicas e biológicas específicas de cada subfamília. Apresentam

diversos hospedeiros, dentre os quais, os bovinos são os hospedeiros primários de diversos herpesvírus, como o BoHV-1. O BoHV-1 é um representante da subfamília *Alphaherpesvirinae*, sendo o mais importante para a medicina veterinária e o principal representante dos herpesvírus no mundo. Esse vírus está associado a doenças como a rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), a vulvovaginite, os abortos nas fêmeas, e a balanopostite nos machos. O BoHV-1 pode ser subdividido por meio de suas características genômicas e antigênicas em BoHV-1.1, que apresenta uma patogenicidade elevada e está associado à doença respiratória, BoHV-1.2a, sendo mais patogênico que o BoHV-1.2b, o qual possui uma patogenicidade moderada. Normalmente, ambos, BoHV-1.2a e 1.2b, são relacionados a casos de aborto e de infecções no sistema reprodutor respectivamente (D'ARCE et al., 2002; FRANCO; ROEHE, 2007). Essa subfamília ainda possui o BoHV-2, causador da mamilite herpética.

Outro integrante da subfamília *Alphaherpesvirinae* é o agente da Encefalite herpética bovina, BoHV-5. Esse subtipo de BoHV pode infectar o trato respiratório ou mesmo o trato genital de bovinos (ESTEVEZ et al., 2003; GOMES et al., 2003; FRANCO; ROEHE, 2007). Pela similaridade genômica com o BoHV-1, o BoHV-5 foi considerado como uma variante do BoHV-1, sendo nomeado por BoHV-1.3. Porém, o Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus denominou o então BoHV-1.3 de BoHV-5 após estudos demonstrarem diferenças genômicas e antigênicas. O BoHV-5 é subdividido em três subtipos: BoHV-5a, BoHV-5b e BoHV-5 não a e não b (D'OFFAY et al., 1993; MEYER et al., 2001; D'ARCE et al., 2002). Já na subfamília *Gammaherpervirinae*, o BoHV-4, pode causar abortos ou ocasionar a apresentação de sinais respiratórios, porém faltam estudos para se confirmar uma doença específica causada por esse subtipo (ROIZMANN; PELLETT, 2001; FRANCO; ROEHE, 2007).

### 2.2.2 Características da infecção e patogenicidade

O BoHV-1 é o agente responsável por infecções no trato respiratório causando a rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), balanopostite pustular infecciosa (IPB) e vulvovaginite pustular infecciosa (IPV), no sistema reprodutor de machos e fêmeas, respectivamente, causando aborto e ocasionalmente encefalite (MEYER et al., 2001; FRANCO; ROEHE, 2007). Estudos demonstram que o subtipo BoHV-1.1 pode estar relacionado com os casos de IBR, enquanto o subtipo BoHV-1.2 está relacionado com

os casos de IPV. Entretanto, ambos podem infectar os sistemas respiratório e reprodutor (SPILKI et al., 2004). Como mencionado anteriormente, apesar do BoHV-1 ocasionar encefalites, o BoHV-5 é o principal agente relacionado com casos de encefalite bovina. O BoHV-5 já foi associado a casos de infecções respiratórias ou mesmo casos de aborto (HÜBNER et al., 2005).

O BoHV possui duas formas de infecção: a aguda, ou também denominada fase produtiva, e a infecção latente. A forma aguda é caracterizada pela expressão dos genes virais, replicação do genoma e por fim à produção de progênie. As células do hospedeiro infectadas nessa fase sofrem diversas alterações estruturais e bioquímicas decorrentes da replicação viral e, por consequência, não sobrevivem (FRANCO e ROEHE, 2007). A forma latente é caracterizada pela permanência viral em células na forma não infecciosa, apresentando períodos de reativação intermitentes e posterior eliminação. Nessa forma, o BoHV ocorre nos neurônios sensoriais e pode ser dividido em três fases: estabelecimento, manutenção e reativação. A primeira apresenta-se na fase da infecção aguda ou produtiva, quando ocorre a entrada do genoma viral no neurônio sensorial e posteriormente a extinção da expressão dos genes virais (JONES, 2003; FRANCO; ROEHE, 2007). Em seguida, a fase de manutenção de latência permanece por toda a vida do animal e se caracteriza pela ausência de expressão do genoma viral com exceção do gene transcrito associado à latência, bem como pela ausência de sinais clínicos, sendo considerada uma infecção subclínica (JONES, 2003; FRANCO; ROEHE, 2007). A segunda fase pode ser interrompida por situações de estresse ou longos períodos de administração de corticoides caracterizando a terceira fase, que é a reativação do vírus. Essa última fase, se caracteriza por sinais clínicos leves em relação à infecção aguda, pois os novos vírus produzidos são transportados pelos axônios até o local da infecção primária acarretando o surgimento de sinais clínicos e a possível transmissão a outros animais (JONES, 2003; FRANCO; ROEHE, 2007).

#### 2.2.2.1 Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR)

A IBR está associada ao BoHV-1.1 e pode se apresentar de três formas: subclínica, leve ou severa. É uma doença contagiosa considerada aguda, que dura de cinco a dez dias e acomete o trato respiratório superior, normalmente, apresentando alta morbidade, porém baixa ou ausente mortalidade. As manifestações clínicas incluem



febre, anorexia, conjuntivite, corrimento nasal, dispneia, taquipneia, tosse e depressão. Acomete principalmente animais jovens e pode estar associada a situações em que há aglomerações como confinamento ou transporte, originando uma situação de estresse ao animal (RIET-CORREA et al., 1996; MEYER et al., 2001; FRANCO; ROEHE,2007).

#### 2.2.2.2 Balanopostite pustular infecciosa (IPB) e vulvovaginite pustular infecciosa (IPV)

A IPV caracteriza-se por edema na vulva, podendo apresentar descarga vaginal e pequenas pústulas. Está associada ao BoHV-1.2b, e ocasionalmente, ao BoHV-5. Apresenta um estágio agudo de duração que dura de quatro a cinco dias, havendo diminuição das lesões no período entre 10 e 14 dias (ESTEVES et al., 2003; GOMES et al., 2003; FRANCO; ROEHE, 2007). A IPB configura uma infecção semelhante ao IPV, porém acomete machos num período de incubação de um a três dias. Posteriormente, ocasiona inflamações no prepúcio e no pênis assim como febre, perda do apetite, depressão e, por consequência, a diminuição da qualidade do sêmen (RIET-CORREA et al., 1996; MEYER et al., 2001; FRANCO; ROEHE,2007).

#### 2.2.2.3 Encefalite

O principal agente relacionado com a encefalite é o BoHV-5. Porém, de forma esporádica, o BoHV-1 pode ser associado a casos de encefalite. O quadro clínico tem a duração de até 15 dias, sendo caracterizado por falta de coordenação motora, tremor muscular, convulsões, rigidez da mandíbula, opistótono, andar em círculos e possível morte (MEYER et al., 2001; PEREZ et al., 2002; RISSI et al., 2006; SILVA et al., 2007).

#### 2.2.3 Epidemiologia

O BoHV-1 possui distribuição mundial ocasionando perdas econômicas em rebanhos de corte e leite (STRAUB, 2001). Clinicamente detém uma predominância pela apresentação respiratória. Já o BoHV- 5 está associado a casos, geralmente fatais, de encefalite, é predominantemente encontrado no Hemisfério Sul, sendo isolado de

diversos casos, em sua maior parte relacionados a bovinos jovens (SALVADOR et al., 1998; D'ARCE et al., 2002; THIRY et al., 2006).

#### 2.2.3.1 Transmissão

A eliminação de BoHV-1 e BoHV-5 ocorre pelas vias oronasal, genital e ocular (ENGELS; ACKERMANN, 1996). Pode ocorrer por via direta ou indireta. A primeira relaciona-se ao contato com secreções respiratórias, genitais ou oculares de animais infectados ou a contato com aerossóis. Já a forma indireta, apresenta relação com fômites, realização de inseminação artificial sem a devida biossegurança, transferência de embriões ou ocorre através do leite (MARS et al., 2000 FRANCO; ROEHE, 2007).

Posteriormente à penetração no organismo, a replicação viral inicia-se nas células epiteliais locais gerando lise celular e surgimento dos sinais clínicos. A infecção sistêmica ocorre após a invasão do vírus nos linfonodos que, por sua vez, se disseminam pelo organismo (ENGELS; ACKERMANN, 1996; PEREZ et al., 2002 FRANCO; ROEHE, 2007).

#### 2.2.3.2 Prevalência

A prevalência e permanência do BoHV estão associadas à capacidade do vírus em permanecer na forma latente no hospedeiro, os quais servem como reservatório para o vírus no rebanho (THIRY et al., 2006). A exposição dos animais a situações de estresse, como o parto ou mesmo a administração de corticoides, assim como a aglomeração de indivíduos no transporte e confinamento, podem contribuir para a reativação de animais latentes (JONAS et al., 2003; METTENLEITER, 2002).

##### 2.2.3.2.1 Situação no mundo

As infecções causadas pelo BoHV-1 são encontradas em todo o mundo (KAHRS, 2001). Na tabela 3 estão compilados dados de trabalhos que descrevem a ocorrência de BoHV em diversas regiões do mundo.

Tabela 3 - Distribuição de prevalência de rebanho de BoHV no mundo.

País	Autor	Ano	Material	Teste	Prevalência
Irlanda	O'Grady et al	2008	Soro	ELISA	73,2%
China	Yan et al	2008	Soro	ELISA	35,8%
Tailândia	Kampa et al	2009	Leite	ELISA	72,0%
Inglaterra	Woodbine et al	2009	Soro	ELISA	43,1%
Índia	Nandi et al	2010	Soro	ELISA	60,1%
Índia	Trangadia et al	2010	Soro	ELISA	60,8%
Estonia	Raaperi et al	2011	Leite	ELISA	22,0%
Irlanda	Cowley et al	2011	Soro	ELISA	74,9%
Equador	Carbonero et al	2011	Soro	ELISA	82,1%

#### 2.2.3.2.2 Situação no Brasil

O BoHV-1 foi isolado em 1978 no Estado da Bahia (ESTEVEES, 2007 *apud* ALICE, 1978). Já no Estado do Rio Grande do Sul, foi relatado em 1992 (WEIBLEN et al., 1992). O BoHV-5 foi isolado em 1989 no Estado (WEIBLEN et al., 1989). Ainda no Estado do Rio Grande do Sul a prevalência de BoHV-1 apresenta uma variação de 12 a 96% (ESTEVEES, 2007 *apud* PITUCO, 1988; LOVATO et al., 1995; VIDOR et al., 1995; HOLZ et al., 2009).

#### 2.2.3.3 Fatores de Risco

Os possíveis fatores de risco para a ocorrência ou mesmo a manutenção do BoHV no rebanho são diversos e podem ser associados à ocorrência de infecção ativa e principalmente à possibilidade de o agente permanecer latente no hospedeiro. Kampa et al; em 2004 e 2008, sugeriram que os possíveis fatores de risco para BVDV e BoHV são semelhantes e importantes para a introdução da doença no rebanho.

A compra de bovinos, a participação em situações de aglomeração e o contato direto foram considerados como possíveis fatores de risco (VAN SCHAİK, 2001; VAN SCHAİK et al., 2002). Em outros trabalhos, fatores como idade do animal, sexo e

tamanho de rebanho foram considerados de risco por Solis-Calderon (2003) e Boelaert (2005). Holz et al., (2008) consideraram como possíveis fatores de risco o tipo de criação na propriedade, a utilização de inseminação artificial, a compra de animais para utilização na reprodução e a ocorrência de abortos. O tipo de ordenha utilizada assim como a quantidade de ordenhas por dia, a utilização de assistência veterinária, de piquetes pré/pós-parto, o tipo de exploração da propriedade, e a presença de outras espécies como ovinos e caprinos na propriedade, como também de animais silvestres também foram consideradas como possíveis fatores de risco para BoHV.

#### 2.2.4 Controle

Para instituir o controle de BoHV, devem ser levados em consideração a situação da infecção no rebanho, as práticas de manejo utilizadas, além da situação da doença na região (NOODEGRAAF et al., 2000). Nesse sentido, o estabelecimento de um programa de vigilância constante do rebanho, descartando-se animais positivos, bem como instituindo-se a quarentena para animais recém-adquiridos, são exemplos de ações que podem contribuir para o controle de BoHV (LAMBERTO, 2003).

Os países que erradicaram o BoHV realizaram a identificação de animais positivos, e preconizaram manejo diferenciado, com o objetivo de eliminar os animais positivos do rebanho (CASTRUCCI et al., 2002).

### 2.3 Métodos de detecção viral

Os sinais clínicos, o histórico do rebanho e os exames laboratoriais são fundamentais para o diagnóstico do BVDV e BoHV (GOYAL, 2005; ROEHE et al., 1997). Contudo, para o diagnóstico definitivo, torna-se necessária a utilização de métodos que detectem antígenos virais ou por isolamento viral ou mediante a realização de testes sorológicos relacionados com a resposta do sistema imunológico ao vírus, resultando em dados epidemiológicos da população e auxiliando no diagnóstico (GOENS, 2002). Os referidos testes podem ser divididos em dois grupos: o primeiro grupo está relacionado com testes diretos que se baseiam na detecção de antígeno ou ácido nucleico viral, estando o segundo grupo relacionado com testes indiretos que detectam a resposta do sistema imunológico à ação do agente viral.

O método comumente empregado para diagnóstico dessas doenças é o isolamento viral, em cultivos celulares. A citada técnica permite observar a presença de vírus viável na amostra, mediante o efeito citopático causado pelo vírus no citoplasma celular (RIDPATH; FLORES, 2007). Das técnicas mais utilizadas para a detecção de antígenos virais, as mais utilizadas são a imunoperoxidase, que tem como princípio básico a detecção da reação antígeno-anticorpo (mono ou policlonal), e a imunofluorescência, que pode ser realizada a partir de cortes histológicos ou cultivos celulares com inóculos virais (KEUSER, 2004; RIDPATH; FLORES, 2007).

Como outras técnicas para o diagnóstico sorológico, podem ser citadas a soroneutralização e o teste de ELISA (enzyme linked immunosorbent assay). A soroneutralização é considerada a técnica padrão para detecção de anticorpos contra BVDV e BoHV, apesar de não ser capaz de demonstrar a diferenciação no âmbito de cada família viral (ROEHE et al, 1997), o teste de ELISA é amplamente utilizados devido a alta sensibilidade e especificidade, além do baixo custo, favorecendo o diagnóstico pertinente ao rebanho (SPILKI et al., 2005). Os testes moleculares destacam-se por serem rápidos e sensíveis, podendo ser utilizados em larga escala na identificação de indivíduos ou rebanhos (PILZ et al., 2007; HOFFMANN et al., 2009).

### 2.3.1 ELISA em amostra de leite

O teste de ELISA efetuado no leite a granel, para detecção de anticorpos, é um método rápido, não invasivo e de baixo custo que tem sido importante para os programas de controle para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) na Suécia, Noruega, Finlândia e Dinamarca (LINDBERG; ALENIUS, 1999; NYLIN et al., 2000). O teste pode ser usado como um primeiro passo em uma estratégia de controle, por discriminar rebanhos possivelmente infectados e não infectados, ou seja, pode fornecer uma medida qualitativa do estado de infecção de um rebanho em relação a uma infecção particular. Além disso, para certas infecções endêmicas de BVDV e BoHV-1, há também uma correlação entre o nível de anticorpos em uma amostra de leite a granel e os títulos de anticorpos nas vacas (NISKANEN et al., 1991;. NISKANEN, 1993; HARTMAN et al., 1997;. NYLIN et al., 2000; BEAUDEAU et al., 2001).

### 2.3.1.1 Teste em tanque de leite para BVDV

O teste do leite a granel é uma ferramenta eficiente para detectar a introdução de infecções em um estágio inicial, facultando a verificação das mudanças nos níveis de anticorpos entre as amostras pareadas (LINDBERG; ALENIUS, 1999). A presença de apenas uma ou de poucas vacas em lactação, com altos títulos de anticorpos para BVDV em um rebanho, resulta em um teste positivo de leite a granel (NISKANEN, 1993).

A mensuração de anticorpos em tanques coletivos de leite, visando estimar a exposição de um rebanho ao BVDV, é possível, uma vez que apresenta uma boa correlação com a prevalência de animais soropositivos no rebanho (NISKANEN 1993). Em rebanhos com altos títulos de anticorpos nos tanques coletivos de leite, possivelmente existe uma infecção ativa de BVDV, sendo recomendado, nessas propriedades, realizar o teste em todos os animais objetivando a detecção e eliminação de animais PI (NISKANEN et al., 1993; LAUREYNS et al., 2009).

Como método de escolha para triagem de rebanhos leiteiros, o teste ELISA indireto tem sido o mais empregado na detecção de anticorpos anti-BVDV (NISKANEN et al., 1991; NISKANEN 1993; LINDBERG; ALENIUS 1999). Nesses estudos, a diferenciação entre rebanhos possivelmente infectados e não infectados usando amostras coletivas de leite, se baseia na estratificação dos valores de densidade óptica (DO) (NISKANEN 1993, BEAUDEAU et al., 2001, GREISER-WILKE et al. 2003) e são amparados principalmente nos resultados de Niskanen (1993), Houe (1995), os quais, avaliando kits de ELISA indireto, encontraram uma boa correlação entre altos valores de DO e a prevalência de vacas soropositivas para BVDV, como também para a detecção de rebanhos com animais PI.

### 2.3.1.2 Teste em tanque de leite para BoHV

Para o BoHV, os testes de ELISA são cada vez mais utilizados para a detecção de anticorpos em amostras de tanque de leite (WELLENBERG et al., 2001). De acordo com Kramps (1994), esses testes possuem a capacidade de detectar baixo título de anticorpos neutralizantes da glicoproteína gB do BoHV-1, sendo considerado mais sensível se comparado com a soroneutralização. Ao testar leite a granel, um resultado positivo indica que a infecção já se espalhou no rebanho (SÓLIS-CALDERÓN et al.,

2003). Com o ELISA de bloqueio, o resultado é considerado positivo quando pelo menos 10-15% do rebanho está infectado (WELLENBERG et al., 2001).

O diagnóstico da infecção por BoHV por ELISA, utilizando amostras de leite a granel, pode indicar o *status* sorológico de BoHV. Para efeitos de fiscalização geral, o teste a granel de leite do tanque pode dar uma estimativa de prevalência de BoHV em um rebanho, uma área ou um país (NYLIN et al., 2000).

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

Trata-se de um estudo epidemiológico analítico transversal (prevalência) para determinação de fatores de risco associados à infecção pelo BVDV e BoHV em rebanhos leiteiros no Vale do Taquari no estado do Rio Grande do Sul.

#### **3.1 Caracterização da região e população alvo (N)**

O Estado do Rio Grande do Sul (RS) é o que se localiza mais ao sul do Brasil possuindo a área total de 268.781,896 quilômetros quadrados, sendo dividido em 496 municípios (IBGE, 2011). A população bovina é de 11.184.000 animais, sendo que 982.000 são vacas leiteiras (IBGE, 2006 – Censo Agropecuário), o que torna o RS o segundo maior estado produtor de leite no Brasil (IBGE, 2009 – Censo Pecuário).

A população alvo do estudo foi composta por 1.656 rebanhos de gado de leite pertencentes aos associados de uma cooperativa que abrange 50 municípios, dentre os quais, 38 foram incluídos na amostra. A maior parte deles pertence à microrregião geográfica de Lajeado-Estrela que, por sua vez, pertence à Mesorregião Centro Oriental do estado Rio Grande do Sul. O número total de animais em atividade nos meses de Março e Abril de 2009 era de 31.504 bovinos, dos quais 16.323 eram vacas em lactação. O total de animais dos rebanhos da população alvo corresponde a 14,7% dos bovinos da microrregião geográfica, a qual possui aproximadamente 213.980 bovinos (IBGE, 2009).

O bioma é Mata Atlântica e o clima é subtropical úmido. A composição étnica e cultural possui forte influência da colonização alemã e italiana. Os estabelecimentos são predominantemente pequenos, utilizam mão de obra familiar, plantam principalmente soja, milho e fumo, além de efetuarem a criação de aves, suínos e gado leiteiro (IBGE, 2009). Em até 50% das propriedades, o número de animais é de 21, as quais apresentam 8 vacas com média de produção de 14 litros/vaca/dia.



### **3.2 População de estudo (n) e amostragem**

A unidade primária de interesse é o rebanho leiteiro. Para o estudo, foram amostradas de forma aleatória simples, 300 propriedades de gado leiteiro de uma listagem fornecida pela cooperativa. O tamanho da amostra foi calculado para estimar a prevalência de BVDV e BoHV na população alvo mediante a pesquisa de anticorpos oriundos de amostras do tanque de leite. Os parâmetros para o cálculo da amostragem foram: nível de confiança de 95%, precisão absoluta de 5% e prevalência de rebanho esperada de BVDV de 58% (FRANDOLOSO, 2008).

### **3.3 Questionário epidemiológico e georreferenciamento**

Um questionário epidemiológico foi aplicado para avaliação dos possíveis fatores de risco associados à infecção pelo BVDV em 281 propriedades das 300 propriedades amostradas inicialmente. O questionário (anexo 1), revisado e previamente testado em propriedades com características similares ao da população de estudo, foi composto inicialmente por um cabeçalho contendo: data da aplicação, identificação do entrevistador, localização geográfica e dados pessoais do entrevistado como nome, telefone, data de nascimento e seu grau de escolaridade, buscando estabelecer o nível socioeconômico do produtor. Posteriormente ao cabeçalho, apresenta 16 questões fechadas contendo respostas classificadas como: variáveis discretas (variável quantitativa), ou variáveis nominais ou ordinais (variável qualitativa) que abrangem índices de reprodução, práticas de manejo, biosseguridade, higiene e limpeza das instalações.

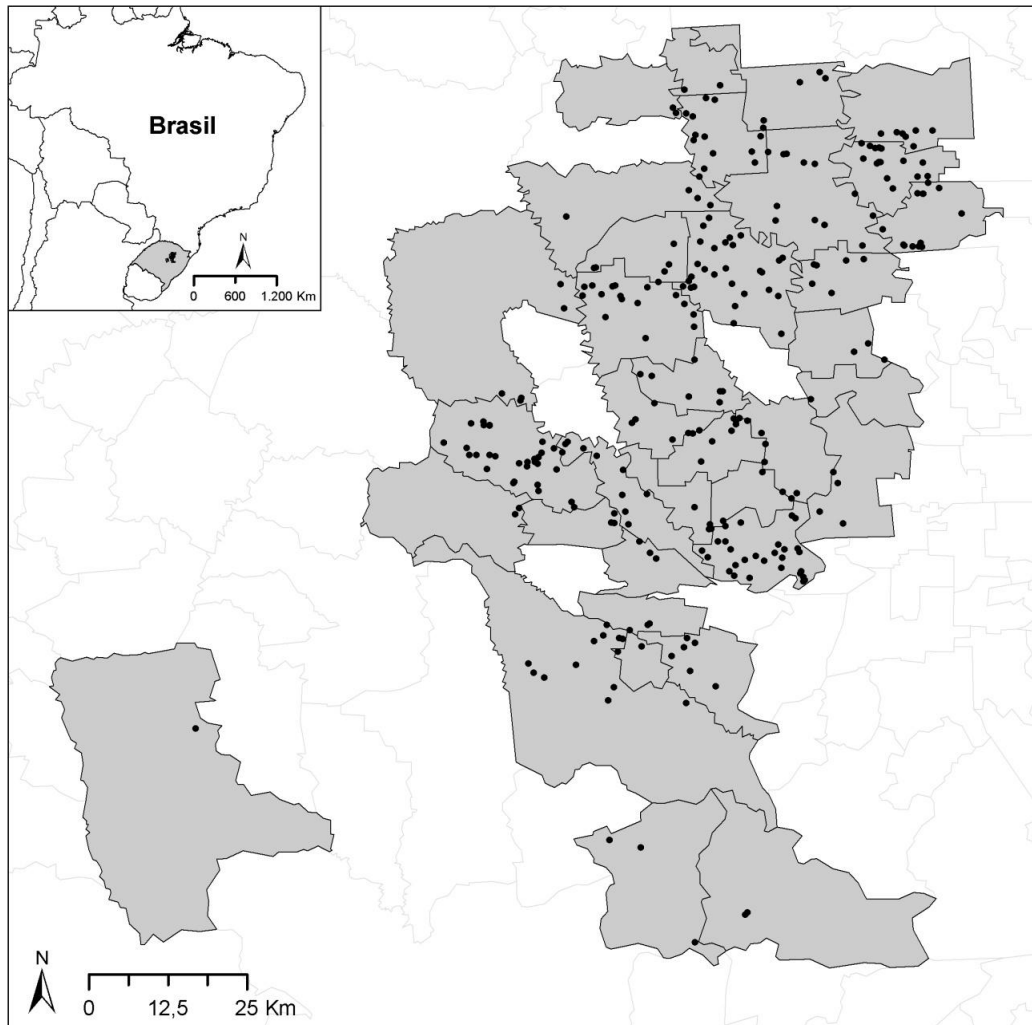
A localização geográfica dos estabelecimentos foi obtida por meio de aparelho GPS (modelo Garmim Map 60 CS) utilizado durante a aplicação do questionário. O mapeamento foi realizado utilizando-se o *software* Sistema de Informação Geográfica (SIG) ArcGis 10.0 (Figuras 1, 2 e 3).

### **3.4 Diagnóstico sorológico em tanque de leite**

Amostras de tanque de leite coletadas dos rebanhos foram submetidas ao teste validado de ELISA. Foi utilizado um teste de ELISA comercial (Svanova Biotech,

Suécia), validado para detecção de anticorpos contra BVDV em amostras de leite (NISKANEN, 1993) e o Kit ELISA HerdChek®IBRgB - IDEXX, para detecção de anticorpos contra o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina.

Figura 1 - Mapa da localização geográfica dos municípios das propriedades visitadas. Os pontos representam a localização das propriedades visitadas.



#### 3.4.1 Interpretação do ELISA para BVDV

Amostras foram analisadas usando Kit comercial ELISA indireto (SVANOVA Biotech AB, Uppsala, Suécia), em que placas de microtitulação são revestidas com antígeno de BVDV. O teste foi usado para detecção de anticorpos anti-BVDV em amostras de leite a granel, de acordo com instruções do fabricante. A absorvância do

comprimento de onda de 450nm foi determinada utilizando-se um espectrofotômetro Asys Expert Plus (Asys Hitech GmbH, Austria).

A sensibilidade (Se) e especificidade (Sp) de rebanho para o anticorpo BVDV teste ELISA, de acordo com Sthal et al (2002), foram de 85% e 97%, respectivamente. Antes de interpretar os resultados, os valores de densidade óptica (DO) foram corrigidos subtraindo-se o DO da amostra do DO controle, tendo como resultado o DO corrigido (DO amostra – DO controle = DO corrigido).

A interpretação dos resultados foi baseada em classes (Tabela 4), de acordo com as utilizadas no programa de controle e erradicação de BVDV da Suécia (Niskanen, 1993).

Tabela 4 - Intervalo da densidade óptica para a classificação do resultado de ELISA para BVDV.

Classe	Densidade Óptica corrigida
0	< 0,05
1	0,05 - < 0,25
2	0,25 - < 0,55
3	≥ 0,55

Os rebanhos de classe 0 são classificados como negativos, da classe 1 têm um nível muito baixo ou baixo de anticorpos no leite a granel. Rebanhos nas classes 2 têm nível moderado e a classe 3 apresenta grau elevado de anticorpos, o que sugere que a infecção está presente no rebanho há relativamente pouco tempo. Animais PI têm mais probabilidade de serem encontrados na classe 3, porque a presença de um animal PI em um rebanho geralmente se manifesta como uma elevada incidência de soro conversão no grupo, resultando em altos níveis de anticorpos no leite a granel (LINDBERG E ALENIUS, 1999).

### 3.4.2 Interpretação do ELISA para BoHV

Amostras foram analisadas utilizando-se um Kit comercial ELISA de bloqueio Kit ELISA HerdChek®IBR gB (IDEXX, Suíça), em que placas de microtitulação medem anticorpos anti-glicoproteína B do BoHV-1. O teste foi usado para detecção de anticorpos anti-BoHV em amostras de leite a granel, de acordo com instruções do fabricante. A absorbância do comprimento de onda de 450nm foi determinada utilizando-se um espectrofotômetro.

A sensibilidade (Se) e especificidade (Sp) de rebanho para o anticorpo BoHV, do teste ELISA, de acordo com Raaperi e colaboradores (2009), foram de 76,5% e 97,2%, respectivamente. De acordo com as indicações do fabricante, o rebanho é considerado "negativo" se o percentual de bloqueio for menor que 45%, "suspeito" entre 45 e 55% e "positivo" quando mais de 55% dos anticorpos do conjugado são bloqueados (IDEXX, Suíça). Para a finalidade desse trabalho, todos os resultados suspeitos foram desconsiderados na análise de fatores de risco.

### 3.5 Análise estatística

A prevalência para BVDV e BoHV-1 foi calculada como sendo o número de rebanhos positivos sobre o total testado. No caso de BVDV, rebanhos considerados positivos foram os que apresentavam classe de densidade óptica (CDO)  $\geq 1$ . Para BoHV-1, foram considerados positivos os rebanhos que apresentavam percentual de bloqueio  $>55\%$ . O cálculo do Intervalo de Confiança (IC) (95%) foi feito pelo cálculo binomial exato.

A análise descritiva incluiu os 281 rebanhos referentes às propriedades em que foi aplicado o questionário. Na análise multivariada de fatores de risco para BoHV-1, foram excluídas 12 propriedades (n=269) em razão de terem apresentado resultados inconclusivos no ELISA.

Para cada doença foram construídos dois modelos: um para descrever os fatores de risco e outro para avaliar a associação entre sinais observados no rebanho e a detecção de anticorpos no leite. A variável resposta nos modelos de ambas as doenças foi dicotômica, de acordo com a interpretação do teste. Desta forma, no modelo de BVDV, a variável resposta 1, onde igual a positivo é 1 e negativo é 0, corresponde às

classes 1, 2 e 3 e em relação ao BoHV-1, percentual de bloqueio  $> 55\%$ . A construção dos modelos multivariados foi dividida em duas etapas: seleção de variáveis a serem oferecidas e processo de inclusão mediante a adição das variáveis *forward* e retirada *backward* das variáveis com valor de  $P > 0,05$ . O modelo final foi aquele que continha somente variável com valor de  $P \leq 0,05$ .

### 3.5.1 A seleção de variáveis a serem oferecidas no modelo multivariado

As variáveis do questionário com muitos dados faltantes e que não apresentavam variabilidade foram excluídas, e todas as variáveis com valor de  $P \leq 0,30$  no modelo univariado foram selecionadas para inclusão no modelo multivariado.

O modelo foi construído fixando-se a variável número de animais do rebanho como confundidor. A partir do resultado da regressão univariada com a fixação da variável confundidora, foi feita a comparação do valor de Odds onde o valor não poderia variar mais que 20%. Após a verificação da variável confundidora, foi realizado o teste de correlação.

### 3.5.2 Construção do modelo de análise de fatores de risco

Segundo critério de decisão para estruturar o modelo, foi realizada a inclusão de todas as variáveis, uma a uma, avaliando-se o valor de AIC (Akaike Information Criterion) ao final de cada etapa de inclusão até ser escolhido o modelo multivariado com o maior número de variáveis e o menor valor de AIC.

Com o modelo multivariado construído, foi iniciado o processo inverso avaliando-se o valor de  $P$ . Nessa etapa, a variável com o maior valor de  $P$ , entre as variáveis que constituem o modelo multivariado, é excluída a cada etapa. Essa metodologia foi realizada até que todas as variáveis constituintes do modelo multivariado apresentassem o valor de  $P < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Caracterização da população

A maioria dos produtores amostrados possui de 20 a 30 (41,28%) bovinos na propriedade. Com relação aos anos de estudo dos produtores da cooperativa, após a aplicação do questionário, ficou demonstrado que mais de 65% dos produtores estudaram de quatro a sete anos.

As propriedades visitadas não produzem apenas bovinos, em grande maioria, as propriedades produzem outros animais como suínos e aves. Após a aplicação do questionário, concluiu-se que a maioria dos produtores amostrados, 52,67%, compraram animais para a reposição do rebanho no último ano e destes (34,16%), são de origem externa à cooperativa. Os resultados estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5 - Distribuição das variáveis que caracterizam as propriedades visitadas (n=281).

Variáveis	Nível	Número de rebanhos	Frequência
Nº de Bovinos	< 10	14	4,98%
	10 - 19	95	33,81%
	20 - 30	116	41,28%
	> 30	56	19,93%
Anos de estudo dos produtores	1 a 3 anos	21	7,53%
	4 a 7 anos	184	65,95%
	8 a 11 anos	59	21,15%
	> 11 anos	15	5,38%
Possui animais além de bovino	Suínos	229	81,49%
	Aves	267	95,02%
	Ovinos	19	6,76%
	Caprinos	14	4,98%

Origem do animais comprados	Outro associado	52	18,51%
	Não associado	79	28,11%
	Outro Estado	1	0,36%
	Outro País	16	5,69%

#### 4.2 Prevalência de BVDV e BoHV-1

Uma soroprevalência de rebanho de 42,70% (120/281; IC 95%: 36% – 48%) para infecção pelo BVDV foi encontrada na população estudada (Tabela 06). A maioria dos rebanhos visitados apresentaram resultados negativos de acordo com a densidade óptica (DO).

Tabela 6 - Distribuição de frequência das classes de densidade óptica (CDO) obtidas como resultado do teste de ELISA para BVDV (n= 281).

CDO	Nº de rebanhos	Frequência
0	161	57,30%
1	62	22,06%
2	29	10,32%
3	29	10,32%

Para BoHV-1, foi encontrada uma soroprevalência de 27,88% (75/269; IC 95%: 22% – 33%) na população amostrada. Um total de 12 resultados inconclusivos foram excluídos da análise multivariada, totalizando uma população de 269 rebanhos para o cálculo de prevalência (Tabela 07).

Tabela 7 - Distribuição de frequência dos resultados de ELISA para BoHV-1 (n= 281).

% de bloqueio	Classificação	Nº de rebanhos	Frequência
< 45	Negativo	194	72,12%
45 - < 55	Inconclusivo	12	4,46%
55	Positivo	75	27,88%

Figura 2 - Distribuição das propriedades com BVDV. Propriedades negativas: círculos vazados; Propriedades positivas: círculos cheios.

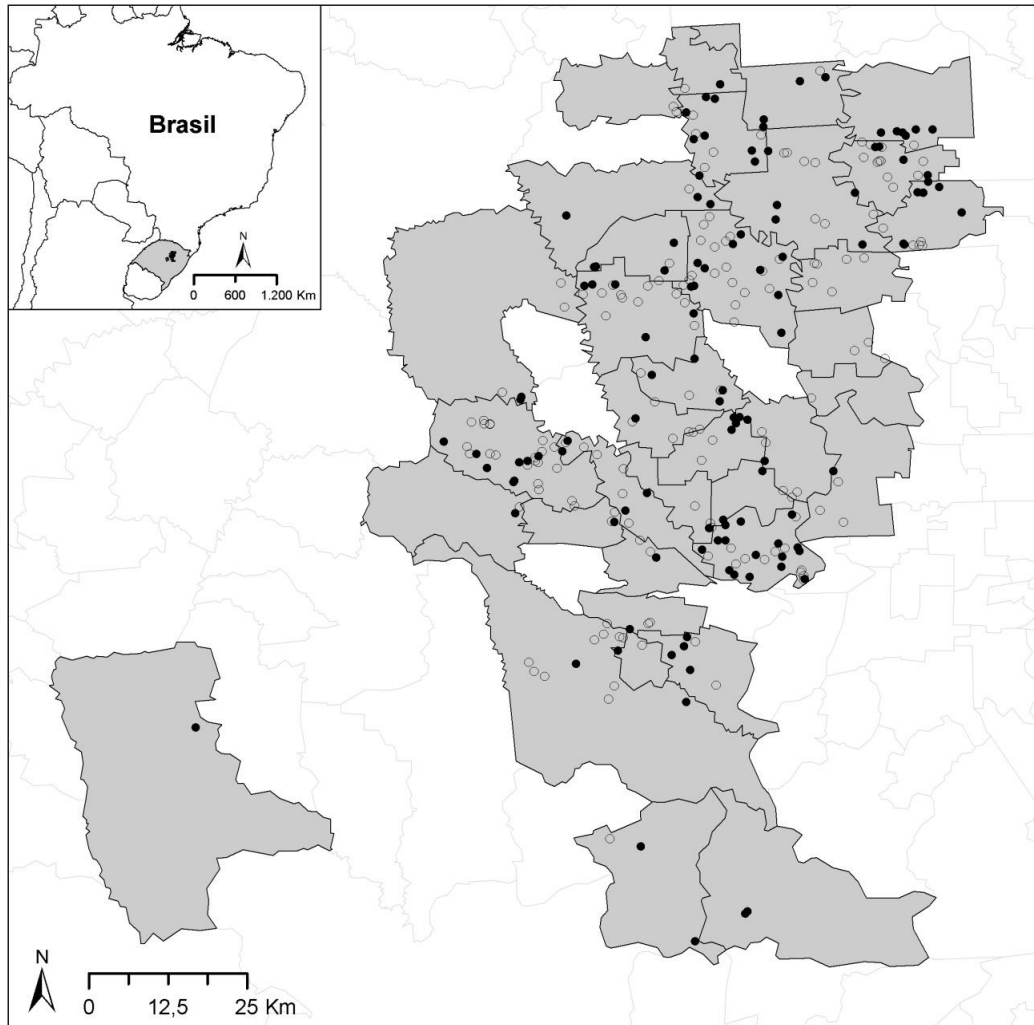
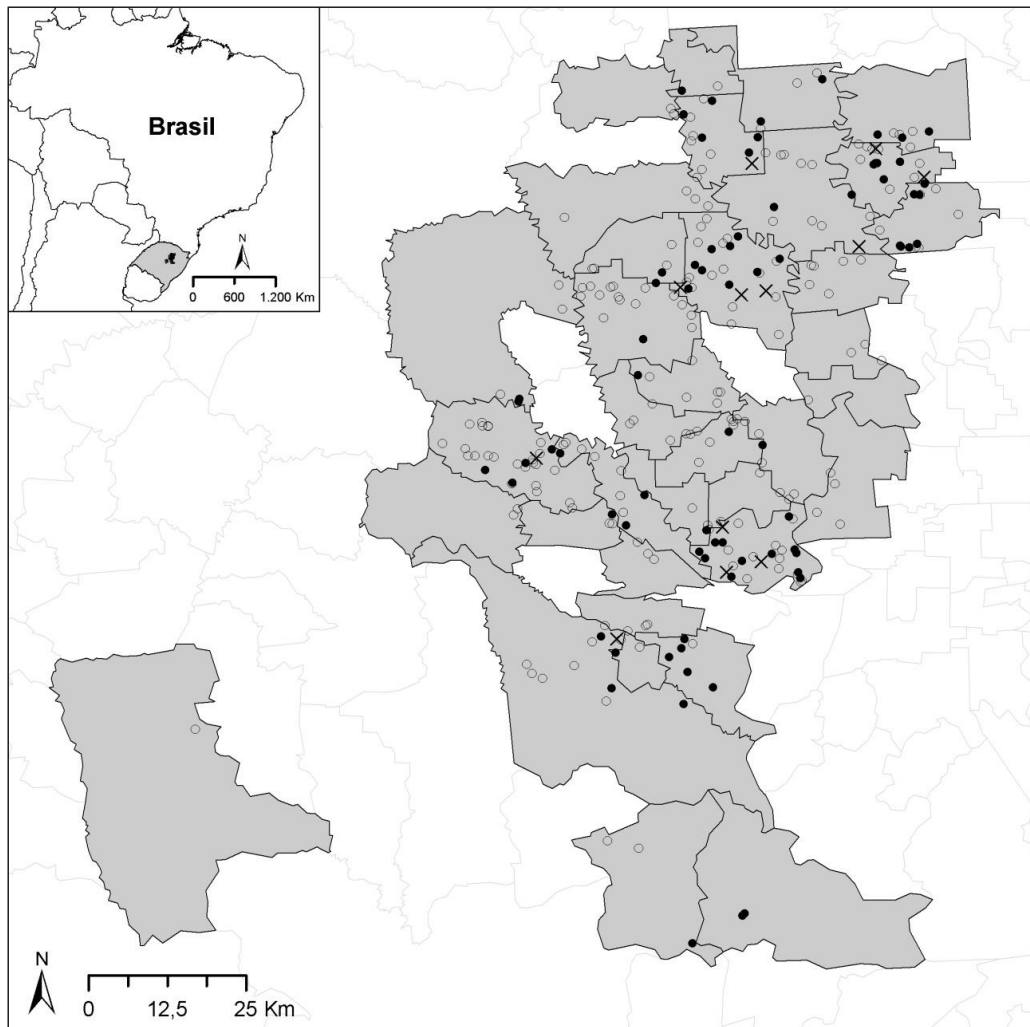




Figura 3 - Distribuição das propriedades testadas para BoHV -1; Negativos: círculos vazados; Positivos: círculos cheios; Inconclusivos: X.



### 4.3 Fatores de risco para BVDV e BoHV-1

Como resultado dos processos de seleção, quatro variáveis relacionadas com fatores de risco foram oferecidas para a construção do modelo de BVDV (Tabela 08), uma vez que, as variáveis associadas aos sinais clínicos obtiveram valor de  $P > 0,30$ , portanto não passaram do processo de seleção inicial.

Tabela 8 - Variáveis oferecidas para a análise multivariada de fatores de risco para BVDV.

Variável	Resposta	BVDV		AIC	P (Wald)
		Positivo	Negativo		
Inseminação Artificial	Não	06	21	367,873	0,0317
	Sim	111	134		
Origem da Compra	Não comprou	57	90	370,479	0,1641
	Comprou Associado	18	18		
	Comprou Não Associado	40	50		
Última compra realizada	Não comprou	57	90	378,058	0,2745
	> 1 ano	32	38		
	< 1 ano	30	30		
Realiza reposição	Não	57	90	381,676	0,1807
	Sim	63	70		

Duas variáveis associadas aos sinais clínicos e nove variáveis relacionadas com fatores de risco foram oferecidas para a construção do modelo de BoHV-1 (Tabelas 09 e 10).

Tabela 9 - Variáveis oferecidas ao modelo de sinais clínicos relacionados com BoHV-1.

Variável	Resposta	BoHV-1		AIC	P (Wald)
		Positivo	Negativo		
Aborto	Não	33	106	315,051	0,2769
	Sim	41	87		
Diarreia	Não	59	141	313,896	0,1542
	Sim	15	51		

Tabela 10 - Variáveis oferecidas para o modelo multivariado de fatores de risco para BoHV-1.

Variável	Respostas	BoHV-1		AIC	P (Wald)
		Positivo	Negativo		
Fornece Ração Industrializada	Sim	64	175	299,753	0,2828
	Não	06	09		
Possui Suínos	Sim	54	166	311,474	0,0212
	Não	20	28		
Ano da Última Compra	Não	35	106	314,444	0,1191
	> 1 ano	23	44		
	< 1 ano	16	42		
Origem da Compra	Não	35	106	314,598	0,2244
	Associado	11	24		
	Não Associado	29	57		
	1 a 3 anos	06	14		
Quantos anos de estudo?	4 a 7 anos	44	130	316,409	0,1426
	8 a 11 anos	17	42		
	> 11 anos	08	06		
	Sim	40	87		
Faz reposição	Não	35	106	317,798	0,2779
Fonte da água fornecida aos animais:					
Natural	Sim	65	178	317,636	0,1511
	Não	10	16		
Pública	Sim	10	16	317,749	0,1634
	Não	65	178		
Poço artesiano	Sim	19	34	318,114	0,2156
	Não	56	160		

A utilização de inseminação artificial foi significativa ( $P < 0,05$ ) como fator de risco para ocorrência de BVDV (Tabela 15). Já em relação ao modelo de BoHV-1, apenas aquele relacionado aos fatores de risco obteve resultado final estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ) sendo que a presença de suínos na propriedade foi um fator de proteção contra a manutenção do agente BoHV-1 no rebanho (Tabela 11). Houve uma associação significativa entre a variável número de bovinos no rebanho, utilizada como controle de confundidor, com a soropositividade de ambas as doenças.

Tabela 11 - Resultado final da análise de regressão logística para fatores de risco de ocorrência de BVDV e BoHV-1.

Modelo	Variável	Estimate	Odds	IC 95%	<i>P</i> (Wald)
BVDV	Número de Bovinos	0,0189	1,019	1 - 1,038	0,0442
	Inseminação artificial	1,0353	2,816	1,095 - 7,241	0,0317
BoHV-1	Número de Bovinos	0,0214	1,022	1,002 - 1,042	0,0301
	Possui suínos	-0,7762	0,46	0,238 - 0,891	0,0212

## 5 DISCUSSÃO

Depois de caracterizadas as propriedades, verificou-se que o número médio de bovinos em cada uma destas é baixo, grande parte das quais (80%) possui até 30 animais. Esse dado concorda com aqueles do IBGE (2006), que relacionam a região do estudo (Lajeado-Estrela) como representante de 1,57% da população bovina no estado do Rio Grande do Sul, o que possivelmente está relacionado à competição decorrente da existência de outras produções na mesma propriedade, como suinocultura e avicultura. Além disso, verificou-se que a maioria dos produtores apresentaram poucos anos de estudo, por conseguinte, podendo sugerir um baixo índice de escolaridade de tais produtores. Esse resultado deve ser observado com cautela, em virtude de expressar os anos de estudo que o entrevistado possui e não o grau de escolaridade obtido ao longo de sua vida, entendido como a média de anos de estudo da população adulta e o número esperado de anos de estudo que esta poderia ter alcançado (BRASIL ESCOLA, 2012). Todavia, ainda que os indicadores de educação e socioeconômicos estejam diretamente relacionados com a ocorrência de doenças, não foi encontrada nenhuma associação com a ocorrência das doenças estudadas (RODRIGUEZ-TORRES, 1997; AMSON, 2005)

Em comparação com os resultados encontrados em estudos nacionais e internacionais sobre a ocorrência de BVDV, a prevalência encontrada (42,7%) foi menor do que aquela apresentada na maioria dos estudos, que demonstraram prevalência geralmente superior a 50%, alcançando até 96% (PATON et al, 1998;. GRAHAM et al, 2001; MAINAR-JAIME et al, 2001; STAHL et al, 2002). No Brasil, muitos estudos demonstraram valores maiores na ocorrência da doença. Brito et al, (2010), no estado do Goiás, encontraram uma soroprevalência de 64% em um total de 888 rebanhos, e Fonseca et al; (2011) encontraram uma prevalência de 67% em tanque de leite. Estudos realizados no Rio Grande do Sul (Canal et al., 1998; Quincozes et al., 2007) apresentaram prevalências superiores, 90% e 82,35% respectivamente. Além das diferenças regionais e de manejo encontradas, importa salientar que as divergências verificadas entre os resultados obtidos podem ter ocorrido em função dos critérios amostrais do estudo e do tipo de diagnóstico empregado.

A prevalência de rebanhos com alto título de anticorpos contra BVDV (classe 3) foi de 10,3%, o que se apresenta bem abaixo dos resultados encontrados em alguns estudos em regiões endêmicas para BVDV (STHAL et al., 2002; GOROUSSI et al., 2008) que variavam de 27% até 52%.

A baixa prevalência de rebanhos com infecção ativa encontrada neste estudo pode ser decorrente de circunstâncias relacionadas ao número reduzido de animais nas propriedades, nas quais, mesmo com a presença do animal PI, a doença não permaneceria no rebanho, uma vez que não haveria muitos animais susceptíveis para realizar a manutenção da infecção no rebanho (NISKANEN, 1993; STAHL et al; 2002). No estudo de Kampa et al, (2004) em 220 rebanhos escolhidos de forma aleatória, com amostras de tanque de leite, foi descrita uma baixa prevalência de infecção ativa (13%) e esse fato foi associado com aspectos relacionados à diferença do tamanho de rebanho, densidade populacional e falha na gestão da movimentação animal. Apesar de possuir uma amostra de rebanhos com um baixo número de animais por propriedade, Sthal et al, (2002) verificaram uma prevalência de infecção ativa de 27%. Esses autores encontraram uma correlação positiva entre CDO e tamanho de rebanho, tendo sugerido como uma das possíveis causas de uma prevalência de infecção ativa elevada a alta movimentação ou transmissão contínua da infecção a animais suscetíveis.

A prevalência de BoHV-1 pode ser considerada moderada em comparação aos estudos realizados em outras partes do mundo. Kampa et al, (2008) realizaram um estudo na Tailândia com 186 rebanhos e encontraram uma prevalência de 72% em amostras de tanques de leite. Resultado semelhante foi encontrado por Cowley et al, (74,9%) em estudo realizado na Irlanda no ano de 2011. Entretanto, Raaperi et al, obtiveram um resultado inferior (22%) em um estudo realizado na Estônia no ano de 2011, com 103 rebanhos, utilizando amostras de tanque de leite. Já no Brasil, os estudos realizados no estado do Rio Grande do Sul (LOVATO et al; VIDOR et al,1995; KRAHL et al, 1997; BARBOSA 2005; HOLZ et al, 2009) mostraram prevalência com grande amplitude, variando de 12 a 96%.

A grande dispersão desses resultados pode estar relacionada com o tipo de teste utilizado e o desenho amostral. Além disso, há que se considerar a capacidade do BoVH-1 de poder ser transmitido por aerossóis (MARS et al., 2000; CALLAN; METRE, 2004). Outros autores acreditam que os riscos de reativação do BoHV sob condições naturais em rebanhos foram superestimados no passado (PRITCHARD, 1992; KAMPA et al.,2004) e que a eliminação da doença dentro do rebanho pode acontecer com maior possibilidade em regiões com sistema de produção pouco intensivo e com baixos níveis de estresse (KAMPA et al., 2004).

Com relação aos fatores de risco avaliados para BVDV, o resultado encontrado sugere que a utilização de inseminação artificial é um fator de risco. De acordo com

Fray et al, (2000), o vírus pode ser transmitido mediante inseminação artificial, usando um sêmen tanto de touro com infecção transitória quanto com infecção permanente, uma vez que ambos podem produzir sêmen de qualidade aceitável, no entanto, são normalmente associados a uma baixa fertilidade. Concordando com o autor anterior, Gard, Givens, Stringfellow (2007) mencionam que o uso de sêmen de animais infectados com BVDV pode resultar na disseminação da doença. Como o sêmen utilizado na referida cooperativa é oriundo de centrais de inseminação que controlam o *status* de doenças da reprodução (dados não demonstrados), a probabilidade de transmissão por essa via provavelmente deve ser baixa.

É importante considerar que o BVDV pode permanecer viável no ambiente por alguns dias ou semanas, sendo, por isso, recomendável que se evite expor os animais saudáveis ao agente infeccioso, como também seja efetuado o monitoramento dos materiais utilizados na inseminação artificial como: agulhas, material cirúrgico, luvas para palpação, dentre outros, os quais podem estar contaminados com secreções e excreções (LANG-REE et al., 1994 ; RIDPATH ; FLORES, 2007, THURMOND, 2005). É possível que o trânsito de técnicos em áreas onde ocorrem as inseminações contribua para a disseminação da infecção entre os rebanhos da população estudada.

Esse resultado difere das observações de Luzzago et al, (2008) que realizaram um trabalho na Itália, e consideraram como fatores de risco a comercialização de animais, a participação em eventos com aglomerações de animais e a divisão de pastos entre diferentes rebanhos. Já para Talafha et al, (2009), que realizaram um estudo na Jordânia, o fato de possuir funcionários que visitem outras propriedades e não serem adotadas providências para o isolamento de animais recém-comprados são fatores de risco para BVDV.

Chaves et al, (2010), em um trabalho realizado no estado do Maranhão, consideraram como fatores de risco a baixa produção de leite por vaca, a ausência de assistência de um médico veterinário e a ocorrência de falhas reprodutivas. Saa et al, (2011), em um estudo realizado no Equador, consideraram como fatores de risco potenciais para BVDV a densidade de bovinos no rebanho e a altitude da fazenda.

No caso de BoHV-1, o resultado foi diferente da hipótese gerada, pois a presença de suínos na propriedade foi considerado como fator de proteção. Esperava-se que, devido a um possível maior trânsito de pessoas e veículos em propriedades em que se criam suínos, tal criação se constituiria em um fator de risco. Esse achado não está relacionado em outros trabalhos ou mesmo como a forma de transmissão da doença

(MUYLKENS et al., 2007; CAMPOS et al., 2009; CARBONERO et al., 2011; RAAPERI et al., 2011).

Raaperi et al, (2011), em um estudo realizado na Estônia, relacionaram a presença de veterinário na propriedade, a existência de funcionário particular da propriedade e a ocorrência de BVDV no rebanho como fatores de risco para a permanência de BoHV em tais rebanhos. Carbonero et al, (2011), que realizaram um estudo no Equador, encontraram que a idade do bovino (> 4 anos), a infecção pelo vírus respiratório sincicial dos bovinos BRSV, altitude de até 1800 metros acima do nível do mar e a inclinação do terreno são fatores de risco e a limpeza das instalações como fator protetor.

O resultado encontrado pode estar relacionado ao grau de tecnificação das propriedades que criam suínos, levando-se em consideração que a cooperativa produz suínos de forma industrial, buscando, com isso, a padronização das criações e, portanto, sugerindo que as propriedades apresentem maior cuidado relacionado a com biossegurança.



## 6 CONCLUSÃO

A prevalência de BVDV na população estudada é moderada, no que se refere a estudos anteriores; há poucos rebanhos com infecção ativa, na região estudada, a despeito da inexistência de um procedimento formal de controle. Embora se trate de um polo de produção de leite no Estado a região estudada, necessita de investimento para maior conhecimento sobre o status sorológico do rebanho, bem como sobre os fatores associados à permanência do BVDV, a fim de que esteja apta a desenvolver estratégias para controle e prevenção da doença. Diante dessa necessidade, a metodologia relacionada à utilização de amostras de tanque de leite para investigações epidemiológicas é ideal por apresentar um baixo custo, se tratar de um método não invasivo, além de concentrar a informação do *status* sorológico do rebanho na amostra coletada.

A busca de melhores práticas para inseminação artificial se faz necessária, por se tratar de um importante fator na transmissão do BVDV na região.

O resultado pertinente aos fatores de risco encontrado para BoHV-1 pode estar relacionado a algum fator não medido, tornando necessária a realização de novos estudos para estabelecer possíveis fatores associados ao risco para a permanência do BoHV-1 no rebanho.

## REFERÊNCIAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Disponível em <<http://www.abiec.com.br>>. Acesso em 21/12/2011.

ABPL - Associação Brasileira dos Produtores de Leite. Disponível em <<http://www.leitebrasil.org.br/release.htm>>. Acesso em 21/12/2011.

ALMEIDA, L.L.; MARKS, F.S.; JUNIOR, J.R.; SANTOS, A.S.; GOMES, D.C.; JUNIOR, I.S.V.; DRIEMEIER, D.; CANAL, C.W. Detecção do vírus da diarreia viral bovina em carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* alimentados em bovino persistentemente infectado. **Acta Scientiae Veterinariae**. Vol. 38, n.2 p. 155-159. 2010.

BEAUDEAU F., BELLOC C., SEEGER H., ASSIÉ S., SELLAL E.; JOLY A. 2001. Evaluation of a blocking ELISA for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in serum and milk. **Veterinary Microbiology**. 80:329-337.

BELKNAP, E.B.; COLLINS, J.K.; LARSEN, R.S.; CONRAD, K.P. Bovine viral diarrhoea virus in New World camelids. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.12, p.568-70, 2000.

BOLIN, S.R.; GROOMS, D.L. Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v.20, p.51-68, 2004.

BRASIL ESCOLA O IDH dos países europeus. <http://www.brasilecola.com/geografia/o-idh-dos-paises-europeus.htm> Acesso em 01/04/2012.

BRITO W.M.E.D.; ALFAIA B.T.; CAIXETA S.P.M.B.; RIBEIRO A.C.C.; MIRANDA T.M.T.; BARBOSA A.C.V.C.; BARTHASSON D.L.; LINHARES D.C.; FARIA B.O. Prevalência da Infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no estado de Goiás, Brasil. **Revista de Patologia Tropical** 39(1):p. 7-19. 2010.

BROCK, K.V. The many faces of bovine viral diarrhoea vírus. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v.20,p.1-3,2004

CAMPOS, F.S. Detecção de infecções latentes por herpesvirus bovino 1 e 5 em gânglios trigêmeos de bovinos através da técnica de reação em cadeia da polimerase.2009. Dissertação (Mestrado e Microbiologia Agrícola e do Ambiente)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CANAL, C. W.; STRASSER, M.; HERTIG, C.; MASUDA, A.; PETERHANS, E. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. **Veterinary Microbiology**, v.63, n.2-4, p.85-97, 1998.

CARBONERO A.; SAA L.R.; JARA D.V.; GARCÍA-BOCANEGRA I.; ARENAS A.; BORGES C.; PEREA A. Seroprevalence and risk factors associated to Bovine

Herpesvirus1 (BHV-1) infection in non-vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. **Preventive Veterinary Medicine** 100(1):p.84-88. 2011.

CASTRUCCI G. Vaccination of calves against bovine herpesvirus-1: assessment of the protective value of eight vaccines. **Comparative Immunology Mycobiology e Infectious Disease** v.25:p. 29-41. 2002.

CHAVES PN, BEZERRA DV, SOUSA VE, SANTOS HP, PEREIRA HM. Frequência de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarréia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região amazônica maranhense, Brasil. **Ciência Rural**. 40(6):p.1448-51. 2010.

COWLEY D.J.; CLEQQ T.A.; DOHERTY M.L.; MORE S.J. Aspects of bovine herpesvirus-1 infection in dairy and beef herds in the Republico f Ireland. **Acta Veteriana Scandinavica**.53(1):p.40. 2011.

D'ARCE R.C.F.; ALMEIDA R. S.; SILVA T.C.; FRANCO A.C.; SPILKI F.R.; ROEHE P.M.; ARNS C.W. Restriction endonuclease and monoclonal antibody analysis of Brazilian isolates of bovine herpesviruses types 1 and 5. **Veterinary Microbiology** n.88(4):p.315-324. 2000

D'OFFAY J. M.; MOCK R.E.; FULTON R.W. Isolation and characterization of encephalitic bovine herpesvirus type 1 isolates from cattle in North America. **American Journal of Veterinary Research** n.54(4):p534-539. 1993.]

DIAS, F.C.; SAMARA, S.I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto de tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.161-168, 2003.

DIEGUEZ, F.J.; YUS, E.; VILAR, M.J.; SANJUÁN, M.L.; ARNAIZ, I. Effect of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection on dairy calf rearing. **Research in Veterinary Science**, v.87, n.1, p.39-40, 2009.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa Gado de Leite. Disponível em:< <http://www.cnpgl.embrapa.br/>> Acesso em: 21/12/2011.

ENGELS, M.; ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infectious. **Veterinary Microbiology**, v.53, n.1,p.3-15.1996).

ESTEVES P.A. Análise da Região Carboxiterminal da Glicoproteína C (gC) e sua Utilização na Diferenciação entre Herpesvírus Bovinos tipos 1 (BoHV-1) e 5 (BoHV-5). 2007. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

ESTEVES, P.A.; SPILKI, F.R.; FRANCO, A.C.; SILVA, T.C.; OLIVEIRA, E. A.; MOOJEN, V.; ESMERALDINO, A.M.; ROEHE, P.M. Bovine herpesvirus type 5 in the sêmen of a Bull not exhibiting clinical signs. **Veterinary Record** n.152 (21):p658-659. 2003

EVERMANN, J.F.; BARRINGTON, G.M. Clinical Features. In: GOYAL, S.M.; RIDPATH, J.F. (Eds) *Bovine Viral Diarrhea Virus: Diagnosis, management and control.*: Iowa: Blackwell Publishing, 2005, cap.6, p.105-129.

EZANNO, P.; FOURICHON, C.; SEEGER, H. Influence of herd structure and type of virus introduction on the spread of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) within a dairy herd. **Veterinary Research**, v.39, n.5, p.39-51, 2008.

FLORES, E.F.; SCHUCH, L.F.D. Diarréia viral bovina. In: RIET-CORREA, F. et al. *Doenças de ruminantes e eqüídeos*, 3th Ed, Santa Maria: Pallotti, 2007, v.1, p.81-93.

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

FONSECA S.C.C.; SANTOS T.C.C.; LOPES C.E.R.; FILHO J.M.M.; FREITAS E.J.P.; SANTOS H.P.; PEREIRA H.M. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) no leite individual e de conjunto em tanque, de rebanhos não vacinados na bacia leiteira de imperatriz, Maranhão, Brasil. **Veterinária e Zootecnia** 18 P.749-752.2011.

FRANCO, A.C.; ROEHE, P.M. 2007. *Herpesviridae*. In: Flores, E.F., *Virologia Veterinária*, Ed. UFSM, cap.17,p.436,2007.

FULTON, R.W.; BRIGGS, R.E.; RIDPATH, J.F.; SALIKI, J.T.; CONFER, A.W.; PAYTON, M.E.; DUFF, G.C.; STEP, D.L.; WALKER, D.A. Transmission of bovine viral diarrhoea virus 1b to susceptible and vaccinated calves by exposure to persistently infected calves. **Canadian Veterinary Journal** 69: 161-169, 2005.

GARD, J.A.; GIVENS, M.D.; STRINGFELLOW, D.A. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV): Epidemiologic concerns relative to semen and embryos. **Theriogenology**, v.68, n.3, p.434-442, 2007.

GAROSSI M.T.; HAGHPARAST A.; ESTAJEE H. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus antibodies in bulk tank Milk of industrial dairy cattle herds in suburb of Mashhad-Iran. **Preventive Veterinary Medicine** 84:p.171-176. 2008

GAROSSI M.T.; HAGHPARAST A.; HAJENEJAD M.R. Prevalence of Bovine Viral Diarrhoea Virus antibodies among the industrial dairy cattle herds in suburb of Mashhad-Iran. **Tropical Animal Health and Production** 41(4):p.663-667. 2009.

GOENS, S.D. The evolution of bovine viral diarrhoea: a review. **Canadian Veterinary Journal**, v.43, n.12, p.946-954, 2002.

GOMES L.I.; ROCHA M.A.; SOUZA J.G.; COSTA E.A.; BARBOSA-STANCIOLI E.F. Bovine herpesvirus 5 (BoHV-5) in Bull semen: amplification and sequence analysis of the US4 gene. **Veterinary Research Communication**. n.27(6):p.495-504. 2003

GONÇALVES DD, TELES PS, REIS CR, LOPES FMR, FREIRE RL, NAVARRO IT, ALVES LA, MULLER EE, FREITAS JC Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.48, p.135-140, 2006.

GOYAL, S.M. Diagnosis. In: Goyal, S.M & Ridpath, J.F. (Eds) Bovine Viral Diarrhea Virus: Diagnosis, management and control. Iowa:Blackwell Publishing, 2005, cap.12, p.197-208.

GREISER-WILKE, I.; GRUMMER, B.; MOENNIG, V. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe. **Biologicals**, v.31, n.2, p.113-118, 2003.

GROOMS, D.L. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.20, n.1, p.5-19, 2004

GROOMS, D.L. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. **Theriogenology**, v.66, n.3, p.624-628, 2006.

GUARINO H.; NÚÑEZ A.; REPISO M.V.; GIL A.; DARGATZ D.A. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhoea virus in beef cattle in Uruguay. **Preventive Veterinary Medicine**. 85:p.34-40. 2008.

HANDEL I.G.; WILLOUGHBY K.; LAND F.; KOTERWAS B.; MORGAN K.L.; TANYA V.N.; BRONSVOORT B.M. Seroepidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in the Adamawa Region of Cameroon and use of the SPOT test to identify herds with PI calves. **PLOS ONE** volume: 6, Issue: 7, Publisher: Public Library of Science,;p 11. 2011.

HEFFERNAN, C.; MISTURELLI, F.; NIELSEN, L.; GUNN, G.J.; YU, J. Analysis of Pan-European attitudes to the eradication and control of bovine viral diarrhoea. **Veterinary Record**, v.164, n.6, p.163-167, 2009.

HEUER, C.; HEALY, A.; ZERBINI, C. Economic effects of exposure to bovine viral diarrhoea virus on dairy herds in New Zealand. **Journal of Dairy Science** 90: 5428-5438, 2007.

HOFFMANN, B.; BEER, M.; REID, S.M.; MERTENS, P.; OURA, C.A.L.; VAN RIJN, P.A.; SLOMKA, M.J.; BANKS, J.; BROWN, I.H.; ALEXANDER, D.J.; KING, D.P.A review of RT-PCR technologies used in veterinary virology and disease control: Sensitive and specific diagnosis of five livestock diseases notifiable to the World Organization for Animal Health. **Veterinary Microbiology**, v.139, p.1-23, 2009.

HOLZ C.L. Otimização da soroneutralização com diferentes tipos e subtipos de herpesvírus bovinos e sua aplicação à epidemiologia. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008

HOLZ C.L.; CIBULSKI S.P.; TEIXEIRA T.F.; BATISTA H.B.C.R.; CAMPOS F.S.; SILVA J.R.; VARELA A.P.M.; CENCI A.; FRANCO A.C.; ROEHE P.M. Soroprevalência de herpesvírus bovino tipos 1 e/ou 5 no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 29(9):n. 767-773. 2009.

HOUE, H. Economic impact of BVDV infection in dairies. **Biologicals** 31: 137-143, 2003.

HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**, v.64, n.1-3, p.89-107, 1999.

HÜBNER S.O.; OLIVEIRA A.P.; FRANCO A.C.; ESTEVES P.A.; SILVA A.D.; SPILKI F.R.; RIJSEWIJK F.A.; ROEHE P.M. Experimental infection of calves with a gI, gE, US9 negative bovine herpesvirus type 5. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases** n.28:p.187-196, 2005.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. SIDRA, pesquisa pecuária municipal. Disponível em: <[www.sidra.ibge.gov.br](http://www.sidra.ibge.gov.br)>. Acesso em: 22 dez. 2009.

JAMES, A. The state of veterinary epidemiology and economics. **Preventive Veterinary Medicine**, 67: 91-99, 2005.

JONES C. Herpes simplex vírus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. **Clinical Microbiology Review** n.16(1):p.79-95, 2003.

KAMPA J.; ALENUS S.; EMANUELSON U.; CHANLUN A.; AIUMLAMAI S. Bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in dairy herds: Self clearance and the detection of seroconversions against a new atypical pestivirus. **Veterinary Journal** 182:p. 223-230. 2009.

KAMPA, J.; STAHL, K.; MORENO-LOPEZ, J.; CHAULUN, A.; AIUMLAMAI, S.; ALENUS, S. BVDV and BHV-1 infections in dairy herds in northern and northeastern Thailand. **Acta Vetrinaria Scandinavica**, v.45, p.181-192, 2004.

KEUSER V. Improved antigenic methods for differential diagnosis of bovine, caprine, and cervine alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus. **Journal of Clinical Microbiology** 42 n.3:p.1228-1235. 2004.

KHALILI M.; MOLAEI M.M.; MOZAFFARI A.A.; GIRAEI F.D.; EHSAN N-f. Prevalence of bovine viral diarrhoea vírus antibodies in dairy cattle herds in the suburb of Kerman, Iran.. **Comparative Clinical Pathology** .p.1-3. 2010

L. O'Grady, R. O'Neill, D.M. Collins, T.A. Clegg, S.J. More Herd and within-herd BoHV-1 prevalence among Irish beef herds submitting bulls for entry to a performance testing station. **Irish Veterinary Journal**, 61:p. 809–815. 2008

LAMBERTO P. Imunopfilaxia da rinotrqueíte infecciosa bovina: vacinas com vírus atenuado, vacinas com vírus vivo termosensível e vacinas inativadas. In: SIMPÓSIO PFIZER, 4., Goiânia. Anais.p. 16-21. 2003

LANG-REE, J.R., VATN, T., KOMMISRUUD, E., LØKEN, T., 1994. Transmission of Bovine Viral Diarrhoea Virus by rectal examination. **Veterinary Record**, v. 135, p.412-413.

LAUREYNS, J.; RIBBENS, S.; KRUIF, A. Control of bovine virus diarrhoea at the herd level: Reducing the risk of false negatives in the detection of persistently infected cattle. **Veterinary Journal**, v.184, p.21-26, 2010.

LEE D.H.; PARK S.W.; CHOI E-W.; LEE C-W. Investigation of the prevalence of bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in South Korea. **Veterinary Record** v.162 p.211-213. 2008

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

LINDBERG, A.L.E.; ALENIUS, S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. **Veterinary Microbiology**, v.64, p. 197-222, 1999.

LINDBERG, AL. Bovine viral diarrhoea virus infections and its control. A review. **Veterinary Questions**, v.25, p.1-16, 2003.

LINDENBACH, B.D.; THIEL, H.J.; RICE, C.M. Flaviviridae: The viruses and their replication. In: Knipe, D.M.; Howley, P.M. (eds.), **Fields Virology**, 5th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, 2007.

LIU, L.; XIA, H.; BAULE, C.; BELÁK, S.; WAHLBERG, N. Effects of methodology and analysis strategy on robustness of pestivirus phylogeny. **Virus Research**, v.147, p.47-52, 2010.

LOVATO L.T.; WEIBLEN R.; TOBIAS F.L.; MORAES M.P. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB 1): Inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural** 25:p425-430. 1995

LUNARDI, M.; HEADLEY, S.A.; LISBÔA, J.A.; AMUDE, A.M.; ALFIERI, A.A. Outbreak of acute bovine viral diarrhoea in Brazilian beef cattle: Clinicopathological findings and molecular characterization of a wild-type BVDV strain subtype 1b. **Research in Veterinary Science**, v.83, n.3, p.599-604, 2008.

LUZZAGO C.; FRIGERIO M.; PICCININI R.; DAPRÀ V.; ZECCONI A. A scoring system for risk assessment of the introduction and spread of bovine viral diarrhoea virus in dairy herds in Northern Italy. **Veterinary Journal** 177(2):p.236-241. 2008.

MARS, M.H.; DE JONG, M.C.; VAN MAANEN, C.; HAGE J.J.; VAN OIRSCHOT, J.T. Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions, **Veterinary Microbiology**, v.76, p. 1-13, 2000a.

MARS, M.H.; RIJSEWIJK, F.A.M.; MARIS-VELDHUIS, M.A.; HAGE, J.J.; VAN OIRSCHOT, J.T. Presence of bovine herpesvirus 1 gB-seropositive but gE-seronegative

Dutch cattle with no apparent virus exposure. **Veterinary Record**, v.147 (12): 328-21. 2000b.

MARS, M.H.; VAN MAANEN, C. Diagnostic assays applied in BVDV control in The Netherlands. **Preventive Veterinary Medicine**, v.72,p,43-48,2005.

METTENLEITER T.C.; Herpesvirus Assembly and Egress. **Journal of Virology**, 76,n.4,p.1537-1547, 2002.

MOCKELIUNIENE, V.; SALOMSKAS, A.;MOCCKELIUNAS, R.; PETKEVICIUS, S. Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. **Veterinary Microbiology**, v.99, n.1, p.51-57, 2004.

MOENNING, V.; HOUE, H.; LINDBERG, A. BVD control in Europe: current status and perspectives. **Animal Health Research Reviews**, v.6,p.63-74,2005.

MUYLKENS B.; THIRY J.; KIRTEN P.; SCHYNTS F.; THIRY E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research** n.38:p.181-209. 2007.

NANDI S.; KUMAR M.; MANOHAR M.; CHAUHAN R.S. Bovine herpes virus infections in cattle.**Animal. Health Research. Reviews.**, 10 p. 85–98. 2009.

NISKANEN R. Relationship between the levels of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bulk tank milk and the prevalence of cows exposed to the virus. **Veterinary Record**. 133:341-344. 1993.

NISKANEN R., ALENIUS S., LARSSON B.; JACOBSSON S.O. Determination of level of antibodies to bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in bulk tank milk as a tool in the diagnosis and prophylaxis of BVDV infections in dairy herds. **Archives of Virology**. 3:245-251. 1991.

NISKANEN, R.; LINDBERG, A. Transmission of bovine viral diarrhoea virus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens. **Veterinary Journal**, v.165,p.125-130,2003

NIZA-RIBIERO L.; PEREIRA A.; SOUZA J.; MADEIRA H.; BARBOSA A.; AFINSOC. Estimate BVDV-prevalence, -contact and -vaccine use in dairy herds in Northern Portugal. **Preventive Veterinary Medicine**, 72(1-2):p.81-85. 2005.

NORONHA, R.P.; CAMPOS, G.S.; SARDI, S.I. Pesquisa do virus da diarréia viral bovina em bovinos jovens. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.424-430, 2003.

NYLIN, B. Bovine herpes virus-1 (BHV-1) in Danish cattle herds : a retrospective evaluation of the diagnostic methods used in the BHV-1 eradication campaign, and an initial study of the effect of the herd size on the BHV-1 infection status.Copenhagen : The Royal Veterinary and Agricultural University, Department of Animal Science and Animal Health, Division of Ethology and Health,136 p.2000.



PEREZ S.E.; BRETESCHNEIDER G.; LEUNDA M.R.; OSORIO E.A.; FLORES E.F.; ODEÓN A.C. Primary infection, latency, and reactivation of bovine herpesvirus type 5 in the bovine nervous system. **Veterinary Pathology** . v.39, pp. 437-444. 2002

PETERAHNS, E.; SCHWEIZER, M. Pestiviruses: How to outmaneuver your hosts. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.142, p.18-25, 2009.

PILZ, D. ALFIERI, A.F.; LUNARDI, M.; ALFIERI, A.A. RT-PCR em pools de soro sanguíneos para o diagnóstico da infecção aguda e de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.1-7, 2007.

PITUCO E.M. Ocorrência de 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 bovino1. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, Universidade de São Paulo, MsC:74.

POLETTI, R.; KREUTZ, L.C.; GONZALES, J.C.; BARCELLOS, L.J.G. Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural** 34: 595-598, 2004.

POTGIETER, L.N.D. Bovine viral diarrhoea and mucosal disease. In: Coetzer, J.A.W.; Tustin, R.C. *Infectious Diseases of Livestock*. 2nd ed. Cape Town: Oxford University, v.2, p.946-969. 2004.

PRESI, P.; HEIM, D. BVD eradication in Switzerland-A new approach. **Veterinary Microbiology**, v.142, p.137-142, 2010.

QUINCOZES, C.G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; VIDOR, T.; BROD, C.S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. *Semina: Ciências Agrárias*, v.28, n.2, p.269-276, 2007.

QUINCOZES, C.G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S.O.; VARGAS, G.D.; VIDOR, T.; BROD, C.S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região sul do Rio Grande do Sul. *Semina: Ciências Agrárias*, v.28, p.269-276, 2007.

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

RADOSTITS, O. M. *et al.* Bovine virus diarrhea, mucosal disease, bovine pestivirus disease complex. In: **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10th ed. Philadelphia:Saunders Elsevier, p.1248-1276, 2007.

RIDPATH, J.F. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. **Biologicals**, v.31, n.2, p.127-131, 2003.

RIDPATH, J.F.; FLORES, E.F. Flaviviridae. In: FLORES, E.F. (Org) *Virologia Veterinária*. Santa Maria: UFSM, 2007, cap.22. p.563-592.

RIET-CORREA F.; MOOJEN V.; ROEHE P.; WEIBLEN R. Víruses confundíveis com febre aftosa: revisão. **Ciência Rural** n.26: p.323-332. 1996

RISSI D.R.; OLIVEIRA F.N.; RECH R.R.; PIEREZAN F.; LEMOS R.A.; BARROS C.S.L. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões emcefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. **Pesquisa Veterinária Brasileira** n.26:n.123-132. 2006.

RODRIGUEZ-TORRES, J. G. Epidemiologia das zoonoses: importância em saúde pública. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 05, p. 185 – 187,1997.

ROEHE P.M.; SILVA T. C.; NARDI N.B.; OLIVEIRA L.G.; ROSA J.C.A. Diferenciação entre o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (BHV-1) e vírus da encefalite bovina (BHV-5) com anticorpos monoclonais. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 17(1):n.41-44. 1997.

ROEHE, P.M.; SILVA, T.C.; NARDI, N.B. Diferenciação entre os vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina e herpesvírus da encefalite bovina com anticorpos monoclonais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17, p.41-44, 1997.

ROIZMAN, B.; DESROSIERS, R.C.;FLECKENSTEIN, B.; LOPEZ, C.; MINSON, A.C.; STUDDERT, M.J. The family Herpesviridae na up date. **Archives of Virology** n. 123p.425-448. 1992

ROIZMAN, B.; KNIPE, M.D.; Herpes simplex vírus and their replication. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins publishers, 2001.

ROIZMANN B.; PELLETT P.E. The family *Herpesviridae*, a brief introduction, p. 2480-2497. In: Knipe, M.D. & Howley, P.M. *Field's Virology*. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 2007

ROSSMANITH, W. Voluntary and compulsory eradication of bovine viral diarrhoea virus in Lower Austria. **Veterinary Microbiology**, v.142, p.143-149, 2010.

SAA L.R.; PEREA A.; GARCÍA-BOCANEGRA I.; ARENAS A.J.; JARA D.V.; RAMOS R.; CARBONERO A. **Tropical Animal Health and Production**. 44:p.645-649. 2012

SALVADOR C.S.; LEMOS R.A.A.; RIET-CORREA F.; ROEHE P.M.; OSÓRIO A.L.A.R. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n.20(3):p.76-83. 1998.

SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L.; BARROS, C.S.L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 20(3): 113-118, jul./set. 2000.

SOLÍS-CALDERÓN J.J., SEGURA-CORREA V.M., SEGURA-CORREA J.C., ALVARADO-ISLAS A. Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatán, Mexico. **Preventive Veterinary Medicine** 57: p.199-208. 2003

SPIPKI F.R.; ESTEVES P.A.; DA SILVA A.D.; FRANCO A.C.; RIJSEWIJK F.A.; ROEHE P.M. A monoclonal antibody-based ELISA allows discrimination between responses induced by bovine herpesvirus subtypes 1 (BoHV-1.1) and 2 (BoHV-1.2a) **Journal of Virological Methods** n129(2):n.191-193. 2005

SPIPKI F.R.; ESTEVES P.A.; LIMA M.; FRANCO A.C.; CHIMANAZZO 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) **Pesquisa Veterinária Brasileira** n24(1):p43-49. 2004

STAHL K.; LINDBERG A.; RIVERA H.; ORTIZ C.; MORENO-LÓPEZ J. Self-clearance from BVDV infections- A frequent finding in dairy herds in na endemically infected region in Peru. **Preventive Veterinary Medicine**. 83:p.285-296. 2008.

STAHL, K.; KAMPA, J.; ALENIUS, S.; PERSSON WADMAN, A.; BAULE, C.; AIUMLAMAI, S.; BELÁK, S. Natural infection of cattle with an atypical 'HoBi'-like pestivirus - Implications for BVD control and for the safety of biological products. **Veterinary Research**, v.38, n.3, p.517-523, 2007.

STRAUB, O.C.; Advances in BHV1 (IBR) **Research**. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. n.108:p.419-422, 2001.

SYNGE, B.A.; CLARK, A.M.; MOAR, J.A.; NICOLSON, J.T.; NETTLETON, P.F.; HERRING, J.A. The control of bovine virus diarrhoea virus in Shetland. **Veterinary Microbiology**, v.64, n.2-3, p.223-229, 1999.

TALAFHA A.Q.; HIRCHE S.M.; ABABNEH M.M.; AL-MAJALI AM.; ABABNEH M.M. Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds in Jordan. **Tropical Animal Health and Production**. 41(4):p.499-506. 2009.

THIRY J., WIDÉN F., GRÉGOIRE F., LINDEN A., BELÁK S. & THIRY. Isolation and characterisation of a ruminant alphaherpesvirus closely related to bovine herpesvirus 1 in a free-ranging red deer. **BioMed Central Veterinary Research**. 3(26). 2007

THOMPSON, J.A.; LEITE, R.M.H.; GONÇALVES, V.S.P.; LEITE, R.C.; BANDEIRA, D.A.; HERRMANN, G.P.; MOREIRA, E.C.; PRADO, P.E.F.; LOBATO, Z.I.P.; BRITO, C.P.T.; LAGE, A.P. Spatial hierarchical variances and covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brasil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.76, p.290-301, 2006.

THURMOND, M.C. Virus Transmission. In: GOYAL, S.M.; RIDPATH, J.F. (Eds) Bovine Viral Diarrhea Virus: Diagnosis, management and control. Iowa: Blackwell Publishing, 2005, cap.5, p.91-104.

TRANGADIA, B., RANA, S.K., MUKHERJEE, F. AND SRINIVASAN, V.A., 2010. Prevalence of brucellosis and infectious bovine rhinotracheitis in organized dairy farms in India, **Tropical Animal Health and Production**, 42, 203–207.

VAN CAMPEN, H. Epidemiology and control of BVD in the U.S. 2009. **Veterinary Microbiology**, V.142, p.94-98, 2010

VAN SCHAİK G.; SCHUKKEN Y.H.; NIELEN ,M.; DIJKHUIZEN A.A.; BARKEMA H.W.; BENEDICTUS G. Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF dairy farms: a cohort study. **Preventive Veterinary Medicine** 54(3):p.279-289. 2002

VAN SCHAİK G.; SCHUKKEN, Y.H.; NIELEN M.; DIJKHUIZEN A.A.; BENEDICTUS G. Risk factors for introduction of BHV01 free farm Dutch dairy farms: a case-control study. **Veterinary Quarterly** 23(2):p.71-76. 2001.

VIDOR T.; HALFEN D.C.; LEITE T.E.; COSWIG L.T. Herpes bovino tipo 1 (BHV 1): Sorologia de rebanho com problemas reprodutivos. **Ciência Rural** 25: p.421-424. 1995

VIET, A.F; FOURICHON, C.; SEEGER, H. Review and critical discussion of assumptions and modeling options to study the spread of the bovine viral diarrhoea virus (BVDV) within a cattle herd. **Epidemiology and Infections**, v.135, n.5, p.706-721, 2007.

VILCEK, S.; DURKOVIC, B.; KOLESAROVA, M.; PATON D.J. Genetic diversity of BVDV: Consequences for classification and molecular epidemiology. **Preventive Veterinary Medicine**, v.72,p.31-35,2005.

VILCEK, S.; NETTLETON, P.F. Pestiviruses in wild animals. **Veterinary Microbiology**, v.116, n.1-3, p.1-12, 2006.

VILCEK, S.; RIDPATH, J.F.; VAN CAMPEN, H.; CAVENDER, J.L.; WARG, J. Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope. **Virus Research**, v.108, n.1-2, p.187-193, 2005.

VOGEL, F.S.F.; SCHERER, C.F.C.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; LIMA, M.; KUNRATH, C.F. Resposta sorológica e avaliação de proteção fetal em ovelhas prenhes vacinadas contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV). **Ciência Rural**, v.31, n.5, p.831-838, 2001.

WEIBLEN R.; DE BARROS C.S.; CANABARRO T.F.; FLORES I.E. Bovine meningoencephalitis from IBR vírus. **Veterinary Record**. 124(25):p.666-667. 1989.

WEIBLEN R.; KREUTZ L.; CANABARRO T. F.; FLORES I.E. Balanoposthitis in bulls due to bovine herpesvirus in south Brazil. **Brazilian Journal of Medicine and Biological Research** 24(8):p.773-775. 1991.

WEIBLEN R.; KREUTZ L.C.; CANABARRO T.F.; SCHUCH L.F.; REBELATTO M.C. Isolation of bovine herpesvirus 1 from preputial swabs and sêmen of bulls with balanoposthitis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation** 4(3):p.341-343, 1992.

WELLENBERG G.J.; MARS, M.H.; VAN OIRSCHOT J.T. Antibodies against bovine herpesvirus (BHV) 5 may be differentiated from antibodies against BHV 1 in a BHV 1 glycoprotein E blocking ELISA. **Veterinary Microbiology** 78(1):p.79-84. 2001

WOODBINE K.A.; MEDLEY G.F.; MOORE S.J.; RAMIREZ-VILLAESCUSA A.M.; MANSON S.; GREEN L.E. A four year longitudinal sero-epidemiological study of bovine herpesvirus type-I (BHV-I) in adult cattle in 107 unvaccinated herds in south west England. **BMC Veterinary Research.**, 5: p. 5. 2009.

WRATHALL, A.E.; SIMMONS, H.A.; VAN SOOM, A. Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilization with virus-infected sêmen. **Theriogenology**, v.65,p.247-274,2006.

YAN B.F.; CHAO Y.J.; CHEN Z.; TIAN K.G.; WANG C.B.; LIN X.M.; CHEN H.C.; GUO A.Z. Serological survey of bovine herpesvirus type 1 infection in China **Veterinary Microbiology**, 127, Issues 1–2, 5:p 136-141. 2008.

## ANEXO I

Data da aplicação: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Entrevistador: \_\_\_\_\_

Nome do proprietário: \_\_\_\_\_ N° Matr.: \_\_\_\_\_ Tel.:( ) \_\_\_\_\_

Nome do respondente: \_\_\_\_\_ É proprietário? ( )sim ( )não

Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Estudou quantos anos? ( )	1. nenhum;	4. 8 a 11 anos;
Escolaridade?	2. 1 a 3 anos	5. > 11 anos
	3. 4 a 7 anos	6. não lembra

---

1 Propriedade possui funcionário contratado? ( )sim ( )não

---

2 Número de bovinos totais da propriedade?

---

3 Compra animais de reposição? ( )sim ( )não (caso não, pule para Q.6)

---

4 Quando foi a última compra de animais/novilha?  
 ( ) < 1 ano ( ) > 1 ano ( ) não lembra (caso não lembre, pule para Q.6)  
 Opcional. Lembra o ano da compra?

---

5 Sobre a origem dos animais comprados:

De outro associado: ( )sim ( )não

De outros produtores não associados: ( )sim ( )não

De outro Estado: ( )sim ( )não

De outro país: ( )sim ( )não

---

6 Você observou no último ano (2009)

6.1 Nascimento de terneiros fracos? ( )sim ( )não ( )não lembra

---

6.2 Aborto (s)? ( )sim ( )não ( )não lembra

---

6.3 Aumento de taxa de retorno ao cio? ( )sim ( )não ( )não lembra

---

6.4 Realizou tratamento para retenção de placenta? ( )sim ( )não ( )não lembra

---

6.5 Realizou tratamento para problemas respiratórios? ( )sim ( )não ( )não lembra

---

6.6 Realizou tratamento para diarreias? ( )sim ( )não ( )não lembra

---

7 Utiliza quantas doses de sêmen por fêmea aproximadamente? ( )1-2 ( )3-4 ( )>4

---

8 Fez repasse com monta natural no último ano? ( )sim ( )não

8.1 Caso sim, utilizou touro próprio? ( )sim ( )não

---

9 Seus animais têm contato com os animais dos vizinhos? ( )sim ( ) não ( )não sabe

---

10 Utiliza pastagem em comum com animais de outras propriedades? ( )sim ( )não

---

11 Qual dos seguintes animais você possui:

11.1 Suínos? ( ) sim ( ) não

---

11.2 Aves? ( ) sim ( ) não

---

11.3 Ovinos? ( ) sim ( ) não

---

11.4 Cabras? ( ) sim ( ) não

---

**12** Possui cão na propriedade? ( ) sim ou ( ) não , caso sim, quantos?

---

**13** Qual é a origem da água fornecida aos animais?

13.1 Rede pública ( ) sim ( ) não

---

13.2 Poço artesiano ( ) sim ( ) não

---

13.3 Cursos naturais ( ) sim ( ) não

---

**14** A ração (concentrado) é:

14.1 Produzido na propriedade ( ) sim ( ) não

---

14.2 Industrializada ( ) sim ( ) não

---

**15** Tipo de restrição à entrada de pessoas estranhas na propriedade (avaliação do entrevistador):

15.1 Placa de aviso ( ) sim ( ) não

---

15.2 Porteira ( ) sim ( ) não

---

15.3 Corrente ( ) sim ( ) não

---

15.4 Outro:

---

**16** Características da sala de ordenha (avaliação do entrevistador)

16.1 Piso ( ) sim ( ) não

---

16.2 Parede com azulejo ( ) sim ( ) não

---

16.3 Organização e limpeza ( ) 1- Bom 2- Médio 3 -Ruim

---

**Espaço para observações:**

---

---