

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 EM REBANHOS BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO AMAZÔNICA MARANHENSE

D.C. Bezerra, N.P. Chaves, V.E. Sousa, H.P. Santos, H.M.Pereira

Universidade Estadual do Maranhão, Escola de Medicina Veterinária, CP 9, CEP 65055-970, São Luís, MA, Brasil. E-mail: dcbvet@bol.com.br

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar a frequência e os fatores de risco para a infecção pelo Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras na região Amazônica maranhense. Amostras de soro de animais não vacinados contra o BoHV-1 e provenientes de 40 propriedades foram submetidas à técnica de ELISA indireto. Em cada propriedade avaliada, aplicou-se ainda um questionário epidemiológico para investigar os fatores de risco que poderiam estar associados à infecção pelo vírus. Das 400 amostras de soro analisadas, 69,25% (n = 277) foram reagentes com a detecção de bovinos sorologicamente positivos em 100% (n = 40) das propriedades. Dentre os fatores de risco avaliados, faixa etária entre 3 a 7 anos, ausência de assistência veterinária e sinais respiratórios apresentaram significância estatística ($P < 0,05$) associada à infecção pelo BoHV-1. Os resultados do estudo indicam que a frequência de anticorpos contra o BoHV-1 foi elevada na região Amazônica maranhense e que os fatores relacionados às características das propriedades e ao manejo foram associados ao risco de infecção pelo BoHV-1.

PALAVRAS-CHAVE: BoHV-1, anticorpos, ELISA, vacas leiteiras, *odds ratio*.

ABSTRACT

RISK FACTORS FOR BOVINE HERPESVIRUS 1 INFECTION IN CATTLE HERDS IN THE MARANHENSE AMAZON REGION, BRAZIL. This study was performed in order to determine the frequency of Bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1), and the main factors related to the frequency of the infection in dairy cows not vaccinated against BoHV-1 from the Maranhense Amazon region, Brazil. Serum samples from 40 ranches were submitted to indirect ELISA test for detection of BoHV-1 antibodies. An epidemiological questionnaire was applied for each herd to investigate variables that could be associated with this infection. From 400 serum samples examined, 69.25% (n = 277) in 100% (n = 40) of the herds were positive for ELISA. Variables identified as risk factors such of age range of 3-7 years, absence of veterinary assistance and respiratory signs presented a statistical significance ($P < 0.05$) associated to BoHV-1 infection. These results indicate that BoHV-1 infection is high in the region studied and that factors related to characteristics of the ranches and to the livestock management practices were associated with the risk of infection by BoHV-1.

KEY WORDS: BoHV-1, antibodies, ELISA, dairy cows, *odds ratio*.

A bovinocultura leiteira no Estado do Maranhão vem sofrendo um processo de modernização com adoção de modelos mais eficientes de gestão. Como consequência, a eficiência no processo de produção tem sido fundamental para o sucesso dos setores que compõem a cadeia da pecuária leiteira maranhense. O sistema intensivo de criação de bovinos é o mais praticado por produtores rurais no estado. Entretanto, sistemas intensificados favorecem a ocorrência de micro-organismos patogênicos nas propriedades. Algumas doenças infecciosas, como a infecção pelo BoHV-1, são potencialmente capazes de comprometer a viabilidade econômica de uma produção leiteira.

O BoHV-1 pertence à família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae, gênero *Varicellovirus* (INTERNATIOVAL..., 2000) e pode ser classificado ainda em subtipos BoHV-1.1 e BoHV-1.2 (D'ARCE *et al.*, 2002). O BoHV-1 é responsável por perdas significativas para a exploração pecuária sendo que a infecção pode resultar em uma grande variabilidade de sinais clínicos, associados à enfermidade respiratória, conhecida como rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), além de conjuntivite, vulvovaginite pustular infecciosa (IPV), balanopostite pustular infecciosa (IPB), reabsorção embrionária, abortamento, infertilidade temporária, nascimento de animais fracos e infecção multissistêmica fatal dos neonatos (VIEIRA *et al.*, 2003).

Uma característica importante do BoHV-1 é a capacidade de estabelecer latência em gânglios de nervos sensoriais, principalmente os gânglios trigêmeo e sacral. Reativação viral pode ocorrer quando os animais são submetidos a fatores estressantes, que diminuem a resistência imunológica (COLODEL *et al.*, 2002), quando haverá reexcreção de partículas virais, sendo responsável pela perpetuação do vírus na população bovina. Uma vez infectado, o animal será portador e fonte de infecção toda vida, assegurando a permanência do vírus na população bovina (VIEIRA *et al.*, 2003).

No Brasil, foram realizados isolamentos do BoHV-1 nas regiões Sudeste, Sul, Centro-Oeste e Nordeste (GALVÃO, 1985; NOGUEIRA *et al.*, 1986; WEIBLEN *et al.*, 1991; WEIBLEN *et al.*, 1996). Foram realizados, também, inquéritos sorológicos nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Ceará, Bahia, Sergipe e Maranhão, que comprovaram que o vírus está disseminado na população bovina do país (VIDOR *et al.*, 1995; PITUCO *et al.*, 1997; QUINCOZES, 2007; SOUSA *et al.*, 2009).

O diagnóstico de BoHV-1 é realizado através da detecção do vírus ou componentes virais, ou mediante demonstração de anticorpos específicos em animais vacinados. O isolamento deste vírus em cultivo celular confirma a presença do agente nos animais infectados (VIEIRA *et al.*, 2003).

A identificação de fatores de risco associados à ocorrência de infecções por BoHV-1 em sistema intensivo de criação no Maranhão serão importantes para auxiliar a planificação de estratégias de controle para esta enfermidade. Neste contexto, o trabalho teve o objetivo de determinar a frequência de anticorpos e os fatores de risco potencialmente associados à infecção.

Este estudo transversal foi realizado na região Amazônica maranhense. Esta área abrange as terras maranhenses a oeste do meridiano de 44°, formada pelas regionais de Açailândia, integrada por três municípios (Açailândia, São Francisco do Brejão e Cidelândia) e Imperatriz, formada por sete municípios (Amarante, São João do Paraíso, Lageado Novo, Imperatriz, Senador La Roque, João Lisboa e Porto Franco), totalizando 10 municípios amostrados, com uma população bovina de 1.250.837 animais, sendo 118.454 de exploração leiteira (IBGE, 2008).

A amostragem foi realizada em duas etapas. Primeiro, foi feita a seleção aleatória de um número pré-estabelecido de propriedades. Dentro das propriedades, foi amostrado de forma aleatória um número pré-estabelecido de animais, com a finalidade de determinar o *status* sanitário do rebanho.

O cálculo do número de rebanhos foi determinado pelo grau de confiança, nível de precisão desejado e pelo valor da prevalência esperado (SOUSA *et al.*

2009), utilizando-se a fórmula para amostras simples aleatórias, segundo THRUSFIELD (1995).

A seleção aleatória dos rebanhos foi realizada a partir do cadastro de propriedades existentes junto à Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED-MA). As propriedades a serem amostradas foram selecionadas aleatoriamente, considerando o número de propriedades existente em cada município, desta forma obteve-se um número semelhante de propriedades amostradas entre os municípios.

O número de animais selecionados de cada rebanho foi semelhante, sendo amostrados 10 animais por propriedade, pois os rebanhos eram constituídos por até 99 fêmeas (BRASIL, 2001). Para a seleção dos animais dentro da propriedade utilizou-se o método de amostragem aleatória simples.

Foi analisado um total de 400 amostras de soro de fêmeas leiteiras criadas em sistema intensivo de produção, estratificadas em três faixas etárias: < três anos (estrato-I), 20% das amostras, entre três a sete anos (estrato-II), 60% das amostras, e acima de sete anos (estrato-III), 20% das amostras, provenientes de 40 rebanhos não vacinados contra o BoHV-1.

A colheita de sangue foi realizada, no período de fevereiro a julho de 2009, por meio de punção da veia jugular. As amostras de soro obtidas foram armazenadas em microtubos de plástico e congeladas a -20°C. O questionário epidemiológico foi aplicado em todas as propriedades selecionadas e teve por objetivo obter informações referentes ao manejo e ao estado sanitário dos animais.

A detecção qualitativa de anticorpos contra BoHV-1 foi realizada através a técnica de ELISA, utilizando kit comercial de ELISA indireto (CHEKIT IBR - SERO - Dr. Bommeli AG/Liebefeld - Bern - Swiss) no laboratório da divisão de antígenos do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR).

Foram analisadas como possíveis fatores de risco as variáveis: tipo de ordenha, reposição dos animais, produção de leite por vaca, assistência veterinária, reprodução, abortamentos, presença de caprinos/ovinos, presença de suínos e sinais respiratórios.

Para o estudo da associação entre a soropositividade e as variáveis analisadas, foi feita a análise univariada, utilizando teste Exato de Fisher ou, teste Qui-quadrado de independência, quando as condições para o teste Exato de Fischer não foram verificadas. O nível de significância utilizado foi de 5%, com intervalos de confiabilidade de 95%.

No período e região estudados, foi verificada anticorpos para o BoHV-1 em 69,25% (n = 277) dos animais analisados. A frequência de rebanhos soropositivos para o BoHV-1, foi de 100%. Nos 10 municípios amostrados foram encontrados animais reagentes indicando que a infecção pelo BoHV-1 está amplamente distribuída na região estudada.

Tabela 1 - Fatores de risco para o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras na região Amazônica maranhense.

Variáveis		Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1)						OR	IC 95%	Valor de P
		Reagentes		Não reagentes		Total				
		N	%	N	%	N	%			
Tipo de ordenha	Manual	268	80	56	17	324	97	0.25	0.01-4.36	0.36
	Mecânica	9	3	0	0	9	3			
Faixa etária	< 3anos	180	45	26	6.5	206	51.5	---	---	0.00
	3 > I < 7 anos	35	8.75	21	5.25	56	14			
	> 7anos	62	15.5	4	1	66	16.5			
Aquisição de animais	Região	244	61	55	13.75	299	74.75	---	---	0.73
	Estado	47	11.75	8	2	55	13.75			
	Outros estados	40	10	10	2.5	50	12.5			
Presença de ovinos/caprinos	Sim	91	27	25	8	116	35	0.60	0.33-1,08	0.12
	Não	186	56	31	9	217	65			
Presença de suínos	Sim	55	17	15	5	70	21	0.67	0.34-1.31	0.28
	Não	222	67	41	12	263	79			
Produção de leite/vaca	1 - 5 L	199	49.75	34	8.5	233	58.25	1.29	0.68-2.44	0.50
	6 - 10 L	77	19.25	17	4.25	94	23.5			
Assistência veterinária	Sim	31	9	14	4	45	14	0.37	0.18-0.76	0.00
	Não	246	74	42	13	288	86			
	MN	225	56.25	45	11.25	270	67.5			
Reprodução	IA	34	8.5	10	2.5	44	11	---	---	0.45
	MN + IA	17	4.25	2	0.5	19	4.75			
	Sim	16	5	8	2	24	7			
Sinais respiratórios	Não	263	79	46	14	309	93	0.34	0.14-0.86	0.03
	Sim	249	75	49	15	298	89			
Abortamento	Sim	249	75	49	15	298	89	1.27	0.52-3.07	0.63
	Não	28	8	7	2	35	11			

A análise univariada dos possíveis fatores de risco para a infecção pelo BoHV-1 demonstrou que as variáveis faixa etária entre 3-7 anos, ausência de assistência veterinária e presença de sinais respiratórios apresentaram associação estatística significativa ($P < 0.05$) ao risco de ocorrência da infecção (Tabela 1). Quanto à faixa etária, foi encontrada maior frequência de reagentes para a faixa etária de três a sete anos, com 45% ($n = 180$) de positividade e significância estatística desta variável ao risco de ocorrência da infecção pelo BoHV-1. Animais na idade adulta são mais comumente afetados pelo vírus, pois, reflete a idade em que ocorre maior estresse em função da movimentação dos animais, maior grau de exposição ao vírus, provavelmente pela introdução de bovinos soropositivos nos lotes de produção, onde o animal portador está eliminando o vírus em suas secreções. Além disso, na idade adulta, os animais estão no ápice das suas atividades produtivas e reprodutivas, sendo exigidos ao máximo.

A falta de assistência médica veterinária neste estudo pode ter se refletido especialmente no diagnóstico e na ausência de implantação de programas de controle para a doença em questão, estando esta variável associada ao risco de ocorrência de herpesvírus no rebanho.

Foram observados coeficientes baixos de positividade para a variável sinais respiratórios (5%)

nas propriedades, porém esta variável apresentou significância estatística associada à infecção pelo BoHV-1. Em quadros clínicos que envolvem o sistema respiratório é importante diferenciar a infecção pelo BoHV-1 daquelas ocasionadas por outros patógenos que estão agrupados no Complexo Respiratório Bovino, como o vírus respiratório sincicial bovino, vírus da diarreia viral bovina, vírus parainfluenza tipo 3 e bactérias do gênero *Pasteurella* (OBANDO *et al.*, 1999).

É importante enfatizar que a infecção pelo BoHV-1 está disseminada na região Amazônica maranhense, conforme observado pelos coeficientes de frequência apresentados em animais, propriedades e municípios. E, diferentemente de infecções que cursam de forma aguda, esta, por ser ocasionada por um vírus que induz infecção latente, a soropositividade para o vírus representa a presença do animal portador e potencial disseminador do vírus no rebanho por toda a vida. Portanto, no geral, o estudo realizado mostrou que o BoHV-1 consiste em mais um problema sanitário com o qual os produtores tem de conviver.

Em consequência da latência do BoHV-1 e da alta frequência de anticorpos verificado no estudo, torna-se importante alertar sobre mecanismos para o controle desta infecção. A prevenção de novas infecções pode ser realizada utilizando-se uma

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

Os dados epidemiológicos obtidos neste estudo poderão auxiliar a planificação de estratégias de controle fundamentada nos resultados da análise dos fatores de risco associados à infecção pelo BoHV-1 no Estado do Maranhão.

Este trabalho foi realizado conforme os princípios éticos da experimentação animal estabelecidos pela Comissão de Ética e Experimentação Animal – CEEA do curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (nº 037/2011).

CONCLUSÕES

Os resultados do estudo indicam alta frequência de focos do BoHV-1 nos rebanhos da região Amazônica maranhense e que os fatores de risco associados à infecção pelo BoHV-1 foram faixa etária de 3 a 7 anos, ausência de assistência veterinária e presença de sinais respiratórios.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), em nome do Dr. Jorge Victor Bacila Agottani e da Dr^a Josiane Brodwikis, pelo suporte laboratorial necessário para realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). *Inquérito Seroepidemiológico da Brucelose: Manual de Procedimentos*. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2001. 24p.

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

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

GALVÃO, C. L. Diagnóstico da infecção genital do herpesvírus bovino (HV-B-1) pelos métodos de isolamento e IF Direta. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.38, p.92-94, 1985.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.com.br>>. Acesso em: out. 2010.

INTERNACIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. *Virus taxonomy: Seventh Report of the ICTV*. von REGENMORTEL, M.H.V.; FAUQUER, C.M.; BISHOP, D.H.L. (Ed.). San Diego: Academic Press, 2000. 1167p.

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

OBANDO, C.; BAULE, C.; PEDRIQUE, C.; VERACIERTA, C.; BELAK, S.; MERZA, M.; MORENOLÓPEZ, J. Serological and molecular diagnosis of bovine viral diarrhoea virus and evidence of other viral infections in dairy calves with respiratory disease in Venezuela. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.40, n.3, p.253-262, 1999.

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

QUINCOZES, C.G. Prevalência e fatores de risco associados às infecções pelos herpesvírus bovino tipo 1 e 5 (BHV-1 e 5) e pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) nos rebanhos dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí. 2007. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 2007.

SOUSA, V.E.; BEZERRA, D.C.; CHAVES, N.P.; SANTOS, H.P.; PEREIRA, H.M. Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) em bovinos leiteiros não vacinados na bacia leiteira da ilha de São Luís-MA. *Ciência Animal Brasileira*. 2009, Suplemento 1.

THRUSFIELD, M. *Veterinary epidemiology*. 2.ed. Cambridge: Blackwell Science, 1995. 479p.

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

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

WEIBLEN, R.; KREUTZ, R. C.; CANABARRO, T. F.;
FLORES, I. E. Balanoposthitis in bulls due to bovine
herpesvirus in South Brasil. *Brazilian Journal of Medical
and Biological Research*, v.24, p.773-775, 1991.

WEIBLEN, R.; MORAES, M.P.; REBELATTO, LOVATO
L.T.; CANABARRO T.F. Bovine herpesvirus isolates.
Revista de Microbiologia, v.27, n.3, p.87-90, 1996.

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

Recebido em 21/11/10
Aceito em 11/11/11