

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV) E HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 (BoHV-1) EM FÊMEAS BOVINAS LEITEIRAS CRIADAS EM SISTEMA DE PRODUÇÃO SEMI-INTENSIVO*

Vanessa Evangelista de Sousa¹, Danilo Cutrim Bezerra², Nancyleni Pinto Chaves³, Hamilton Pereira Santos⁴ e Hélder de Moraes Pereira⁵⁺

ABSTRACT. de Sousa V.E., Bezerra D.C., Chaves N.P., Santos H.P. & Pereira H.M. [Frequency of antibodies against bovine viral diarrhea virus (BVDV) and bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) in female dairy cattle production system in semi-intensive]. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) e Herpesvírus Bovino Tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(1):21-25, 2013. Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, Tirical, São Luís, MA 65055-970, Brasil. E-mail: helderpereirap@yahoo.com.br

The object of this study was estimate the frequency of reacting animals to BVDV and BoHV-1 in milk-jug bovines cattles breeding in semi-intensive system of production. Were analyzed 156 blood's serum to BVDV and 160 to BoHV-1, from bovines females, by the test of indirect ELISA. The frequency of bovines serologically reacting to BVDV and BoHV-1 were 67,30% (105/156) and 67,50% (108/160), respectively. The results acquired in this research allowed to conclude that the BVDV and BoHV-1 are present in evaluated cattles with a high frequency and the risk factors such as milk production between 1 and 5 liters when it was the BVDV and the absent of veterinary care related to BoHV-1 are related to the infection and there is a positive and strong association between both infections.

KEY WORDS. BVD, IBR, cattle, milk.

RESUMO. Objetivou-se com este estudo avaliar as frequências de animais reagentes para o BVDV e BoHV-1 em rebanhos bovinos leiteiros criados em sistema de produção semi-intensivo. Foram analisados 156 soro sanguíneos para o BVDV e 160 para o BoHV-1 oriundos de fêmeas bovinas, pelo teste de Elisa indireto. As frequências de bovinos sorologicamente reagentes ao BVDV e BoHV-1

foram 67,30% (105/156) e 67,50% (108/160), respectivamente. Os resultados obtidos nesta pesquisa permitiram concluir que o BVDV e o BoHV-1 encontram-se presentes nosrebanhos avaliados com alta frequência e que fatores de risco como a produção de leite de 1 a 5 litros quando se tratava do BVDV e a ausência de assistência veterinária referente ao BoHV-1 estão associados às infecções e

*Recebido em 03 de março de 2012.

Aceito para publicação em 14 de janeiro de 2013.

¹Médica-veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, Tirical, São Luís, MA 65055-970, Brasil. E-mail: vane_vet@yahoo.com.br

²Médico-veterinário, MSc. Curso de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias (CCA), UEMA, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, Tirical, São Luís, MA 65055-970. E-mail: dcbvet@bol.com.br

³Médica-veterinária, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Renorbio-Rede Nordeste de Biotecnologia, UECE, Av. Paranjana, 1.700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE 60740-000, Brasil. E-mail: nancylenichaves@hotmail.com

⁴Médico-veterinário, DSc. Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Patologia, CCA, UEMA, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, Tirical, São Luís, MA 65055-970, Brasil. E-mail: hpsluiza@yahoo.com.br

⁵Médico-veterinário, DSc. Curso de Medicina Veterinária, Departamento das Clínicas, CCA, UEMA, Cidade Universitária Paulo VI, Caixa Postal 09, Tirical, São Luís, MA 65055-970. +Autor para correspondência. E-mail: helderpereirap@yahoo.com.br

que há uma associação forte e positiva entre ambas as infecções.

PALAVRAS-CHAVE. BVD, IBR, bovinos, leite.

INTRODUÇÃO

A bovinocultura leiteira é uma atividade bastante praticada nas mais diferentes regiões do Brasil. Entre as principais causas de perdas na produtividade de bovinos leiteiros encontram-se as infecções reprodutivas causadas pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV), Herpesvírus Bovino (BoHV-1), *Neospora caninum* (NC), *Brucella abortus*, *Leptospira* spp. e *Listeria monocytogenes*. Outras infecções, como a causada pelo Vírus da Leucose Enzoótica Bovina (BLV) e *Mycobacterium tuberculosis*, também podem reduzir a produtividade de bovinos (Frاندoloso et al. 2008).

A infecção pelo BVDV pode causar sinais clínicos respiratórios, digestivos, reprodutivos, doença das mucosas (DM), síndrome hemorrágica (SH) e imunodepressão. As maiores perdas resultam da infecção de fêmeas prenhes, podendo ocorrer natimortalidade, malformação fetal, nascimento de bezerras fracas, persistentemente infectados (PI) e imunotolerantes ao vírus (Dias & Samara 2003). Já a infecção pelo BoHV-1 pode resultar em 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).

Tanto o BVDV como o BoHV-1 apresentam-se distribuídos mundialmente e são descritos como um problema sanitário que causam significativas perdas produtivas e reprodutivas (Kunrath et al. 2004). Considerando a importância que a Diarréia Viral Bovina e a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina apresenta nos rebanhos bovinos, notadamente os voltados à exploração leiteira, realizou-se este estudo com o objetivo de estimar a frequência do BVDV e BoHV-1 em fêmeas bovinas criadas em sistema semi-intensivo, bem como identificar possíveis fatores de risco associados às enfermidades estudadas.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada na Ilha de São Luís que ocupa uma área territorial de 1.409 km², sendo constituída pelos municípios de São Luís, Paço do Lu-

miar, São José de Ribamar e Raposa (IBGE 2009). O efetivo de rebanho leiteiro é formado por animais mestiços da raça Holandesa com aproximadamente 1.443 cabeças (AGED 2010). Para a determinação do tamanho da amostra, utilizou-se a fórmula segundo Callegari & Jacques (2003).

Foram coletadas 156 amostras de sangue de fêmeas bovinas para a análise do BVDV e 160 para o BoHV-1 em 16 rebanhos, sendo por município. As amostras foram estratificadas em três faixas etárias (inferior a 36 meses, entre 36 e 84 e superior a 84 meses). A percentagem de animais dentro de cada faixa etária foi definida de acordo com os dados obtidos por Brownlie (1990). Com base nesta característica, foram coletadas 10 amostras por rebanho, sendo 20% (n=2) para animais com idade inferior a 36 meses, 60% (n=6) para animais entre 36 e 84 meses e 20% (n=2) para animais com idade superior a 84 meses. Todos os rebanhos avaliados neste estudo utilizavam como prática de manejo o sistema de criação semi-intensivo. A população estudada foi constituída por fêmeas bovinas leiteiras, mestiços da raça girolanda, não imunizadas contra o BVDV e BoHV-1.

O sangue foi coletado por punção da veia jugular, com agulhas descartáveis e auxílio de tubos a vácuo. O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 250 rpm, durante 15min e acondicionado em microtubos e posteriormente estocados à temperatura de -20°C, até a realização dos testes sorológicos. A detecção qualitativa de anticorpos anti-BVDV e anti-BoHV-1 foi realizada mediante a técnica de ELISA indireta. Sendo utilizados respectivamente o kit comercial HERDCHEK BVDV Ab version 06-44000-02® e o Kit comercial produzido pelo TECPAR® (Laboratório da divisão de antígenos).

Para cada rebanho, foi aplicado questionário epidemiológico para obtenção de informações referente aos animais e manejo empregado, visando identificar possíveis fatores de risco associados à infecção pelo BVDV e BoHV-1. As seguintes variáveis foram analisadas no questionário: tipo de ordenha, aquisição de animais, presença de ovino/caprinos e suínos, produção de leite por vaca, assistência veterinária, sinais clínicos reprodutivos e digestivos, sendo este último avaliado somente para BVD.

Para o cálculo da frequência utilizou-se a análise estatística descritiva através de distribuições absolutas e relativas. O grau de associação entre os

animais reagentes, bem como o Coeficiente de Associação para as infecções foi calculado de acordo com Reis (2003). O estudo da associação entre a infecção e fatores de risco, foi avaliado através da razão de probabilidade (*Odds ratio* – *OR*). O teste empregado foi o exato de Fisher com um nível de significância de 5% (0,05) e intervalo de confiança de 95% pelo programa Instat 2.0 versão 2003.

RESULTADOS

A frequência de animais reagentes foi de 67,3% (n=105), 27,56% (n= 43) não reagentes e 5,14% (n= 8) suspeitos para o BVDV, distribuídos em 100% (n=156) dos rebanhos. De acordo com os municípios estudados, observou-se uma frequência de anticorpos contra o BVDV de 46,15% (n=18) em Paço do Lumiar, 67,5% (n=27) em São Luís, 70% (n=28) em São José de Ribamar e 86,48% (n=32) no município de Raposa. Em todos os rebanhos avaliados foram encontrados animais reagentes contra o BVDV, cujas proporções variaram de 20 a 100%. Quanto à faixa etária, animais com idade inferior a 36 meses apresentaram uma frequência de anticorpos de

16,02% (n=25), entre 36 e 84 meses de 39,74% (n=62) e superior a 84 meses 11,53% (n=18). A análise univariada dos fatores de risco em relação ao BVDV, demonstrou que animais com produção de leite de 1 a 5 e de 6 a 10 litros/dia/vaca apresentou associação estatística significativa (p<0,05) com risco de 2,850 para a ocorrência da infecção (Tabela 1).

Quanto o BoHV-1, das 160 amostras analisadas observou-se frequência de 67,5% (n=108) de animais reagentes, 17,5% (n= 28) não reagentes e 15% (n= 24) suspeitos. De acordo com os municípios estudados observou-se frequência de 65% (n= 26) em Paço do Lumiar, 65% (n=26) em São Luís, 60% (n=24) em São José de Ribamar, e 82,5% (n=33) no município de Raposa. Todos os rebanhos avaliados para o BoHV-1 apresentaram animais reagentes, com variação de 30 a 100%. Avaliando a faixa etária, os animais com idade inferior a 36 meses, entre 36 e 84 meses e superior a 84 meses apresentaram frequências de 7,5% (n=12), 43,75% (n=70) e 16,25% (n=26), respectivamente. Quanto aos fatores de risco avaliados para o BoHV-1, a variável ausência de assistência veterinária apresentou associação estatística significativa (p<0,05) com risco de 7,714 para a ocorrência da infecção. O cálculo do coeficiente de associação indicou associação forte e positiva (57%) entre as infecções estudadas (Tabela 2).

Tabela 1. Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo.

Variável	N	ELISA n (%)	Análise Univariada OR (IC 95%)P	
Tipo de ordenha				
Manual	142	102 (67)	1,70 (0,71-2,00)	0,4762
Mecânica	10	6 (4)	0,58 (0,49-0,40)	0,4762
Aquisição de animais				
Região	134	95 (63)	0,93 (0,72-1,33)	1,0000
Estado	64	40 (26)	0,49 (0,65-1,01)	0,0697
Presença de ovinos/caprinos				
Sim	19	12 (8)	0,66 (0,61-1,25)	0,4261
Não	133	96 (63)		
Presença de suínos				
Sim	36	25 (16)	1,00 (0,75-1,24)	0,835
Não	116	83 (55)		
Produção leite/vaca				
1-5 litros	96	76 (50)	2,85 (1,08-1,77)	0,0053*
6-10 litros	56	32 (21)	0,35 (0,62-0,92)	0,0053*
Assistência Veterinária				
Sim	28	19 (15)	1,19 (0,78-1,42)	0,8235
Não	97	62 (50)		
Sinais clínicos digestivos				
Sim	48	33 (22)	0,85 (0,76-1,19)	0,7028
Não	104	75 (49)		
Diarréia				
Sim	18	13 (9)	1,06 (0,74-1,38)	1,0000
Não	134	95 (63)		
Sinais clínicos reprodutivos				
Sim	116	82 (54)	0,92 (0,77-1,23)	1,0000
Não	36	26 (17)		
Abortamento				
Sim	96	64 (42)	0,54 (0,69-1,03)	0,1400
Não	56	44 (29)		

OR = "Odds ratio"; IC = Intervalo de confiança de 95%; ELISA = Teste de Imunoensaio enzimático. * p< 0,05.

Tabela 2. Análise univariada para os fatores de risco associados ou não à infecção pelo Herpesvírus bovino tipo 1 em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo.

Variável	N	ELISA n (%)	Análise Univariada OR (IC 95%) P	
Tipo de ordenha				
Manual	132	101 (73)	0,54 (0,62-4,68)	1,0000
Mecânica	7	6 (4)	0,58 (0,49-0,40)	0,4762
Aquisição de animais				
Região	129	102 (55)		
Estado	57	45 (24)	1,00 (0,46-2,16)	1,0000
Presença de ovinos/caprinos				
Sim	15	14 (10)	4,02 (0,50-31,99)	0,3062
Não	121	94 (69)		
Presença de suínos				
Sim	29	23 (17)	0,99 (0,36-2,73)	1,0000
Não	107	85 (63)		
Produção leite/vaca				
1-5 litros	84	67 (49)	1,05 (0,45-2,48)	1,0000
6-10 litros	52	41 (30)		
Assistência Veterinária				
Sim	25	24 (18)	7,71 (0,99-59,76)	0,0265*
Não	111	84 (62)		
Sinais clínicos reprodutivos				
Sim	116	82 (54)	0,92 (0,77-1,23)	1,0000
Não	36	26 (17)		
Abortamento				
Sim	96	64 (42)	0,54 (0,69-1,03)	0,1400
Não	56	44 (29)		

OR = "Odds ratio"; IC = Intervalo de confiança de 95%; ELISA = Teste de Imunoensaio enzimático. * p< 0,05.

DISCUSSÃO

O percentual de animais reagentes para o BVDV foram semelhantes aos descritos por Chaves et al. (2009), quando observaram uma frequência de 69,44% em bovinos leiteiros no Maranhão. Para os municípios estudados, observou-se que os dados de frequência diferem dos achados de Vieira et al. (1999), que detectaram uma frequência de 52% em municípios do Estado de Goiás. Em todos os rebanhos avaliados foram encontrados animais reagentes conforme descrito por Guimarães et al. (2000), em estudo realizado em Goiânia. O elevado percentual de animais reagentes para o BVDV comprova que o vírus da diarreia viral bovina encontra-se amplamente difundido na região estudada. A faixa etária 3 a 7 anos, apresentou maior percentual de reagentes corroborando com os achados de Kramps et al. (1999) e Brownlie (1990), que afirmam que a população bovina adulta é mais acometida pelo BVDV.

A análise univariada dos fatores de risco em relação ao BVDV demonstrou que animais com produção de leite de 1 a 5 litros/dia/vaca se mostraram como fator risco associado à soropositividade. As variáveis, ordenha manual, ausência de assistência veterinária e presença de diarreia, apesar de não terem sido consideradas fatores de risco neste estudo, podem estar contribuindo para a infecção, uma vez que, apresentaram fator de associação acima de 1.

Já o percentual de reagentes para o BoHV-1 foram bem próximos dos encontrados por Dias et al. (2008), na Região Oeste do Estado do Paraná quando detectaram positividade de 64,41%. A presença de animais sororeagentes em todos os municípios indica que a infecção está amplamente distribuída na região estudada. A faixa etária 3 a 7 anos apresentou maior percentual de reagentes. Nesta faixa etária os animais estão no pico das atividades produtivas e maior exposição a agentes etiológicos.

À análise dos fatores de risco para o BoHV-1 observou-se que as variáveis aquisição de animais oriundos do estado, presença de ovinos e caprinos e produção de leite entre 1 a 5 litros/dia/vaca, propiciaram a ocorrência da infecção com fatores de associação de 1,00; 4,02 e 1,05 respectivamente.

O grau de associação forte e positivo encontrado neste estudo entre as duas enfermidades avaliadas, pode ser explicado pela atividade imunodepressora do BVDV propiciando a ocorrência de infecções pelo BoHV-1.

A alta frequência observada para ambas as in-

fecções é preocupante, pois as propriedades estudadas não adotam a vacinação em seu manejo sanitário e, portanto, os anticorpos encontrados, não são de origem vacinal. A partir deste estudo, surge a necessidade da realização de outros, que venham elucidar estas enfermidades, com a realização de levantamentos sorológicos em rebanhos de corte, associados ao isolamento do vírus, bem como, o entendimento da reativação da infecção latente nos rebanhos da bacia leiteira da Ilha de São Luís, Maranhão.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente estudo, pode-se concluir que a frequência de anticorpos contra os Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) e do Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema produção semi-intensivo foi elevada e que as fêmeas com idade entre 3 e 7 anos apresentaram maior percentual de animais reagentes. Fatores de risco como a produção de leite de 1 a 5 litros quando se tratava do BVDV e a ausência de assistência veterinária quando BoHV-1 estão associados às infecções e que há uma associação forte e positiva entre as infecções pelo BVDV e BoHV-1.

Agradecimentos. À Universidade Estadual do Maranhão, instituição na qual o trabalho foi desenvolvido, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de Iniciação Científica, ao INAGRO (Instituto de Agronegócios do Maranhão), em nome do Dr. José de Jesus Reis Ataíde, pelo apoio financeiro necessário para realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGED-MA. Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão. Disponível em: < <http://www.aged.ma.gov.br> >. Acesso em: 20 Mai 2010.
- Brownlie J. The pathogenesis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Rev. Sci. Technol., Of. Int. Epiz.*, 9:43-59, 1990.
- Callegari-Jacques S.M. Testes não-paramétricos, p.165-184. In: Callegari-Jacques S.M. (Ed.), *Bioestatística: Princípios e aplicações*. Artmed, Porto Alegre, 2003.
- Chaves P.N., Bezerra D.V., Borges F.C., Sousa V.E., Santos H.P. & Pereira H.M. Frequência e fatores associados à infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados nas regiões de Bacabal e Pedreiras, estado do Maranhão. *Ciênc. Anim. Bras.*, Suplemento 1. Anais VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, Belo Horizonte, MG, p.502-507, 2009. (Resumo)
- Dias F.C. & Samara S.I. Detecção de anticorpos contra o ví-

- rus da diarréia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 40:161-168, 2003.
- Dias J.A., Alfieri A.A., Médici K.C., Freitas J.C., Ferreira Neto J.S. & Müller E.E. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná. *Pes. Vet. Bras.*, 28:161-168, 2008.
- Frndoloso R., Anziliero D. & Spagnolo J. Prevalência de leucose enzoótica bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cienc. Anim. Bras.*, 9:1102-1106, 2008.
- Guimarães P.L.S.N., Chaves N.S.T., Silva L.A.F. & Acypreste C.S. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina em bovinos do entorno de Goiânia, em regime de criação semi-extensivo. *Cienc. Anim. Bras.*, 1:137-142, 2000.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.com.br>>. Acesso em: 26 Jan 2009.
- Kramps J.A., Yan Maanen C., van de Wetering G., Stienstra G., Quak S., Brinkhof J., Ronsholt L. & Nylin B. A simple, rapid and reliable enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) specific antibodies in cattle serum, plasma and bulk milk. *Vet. Microbiol.*, 64:135-144, 1999.
- Kunrath C.F., Vogel F.S.F., Oldoni I., Flores E.F., Weiblen R., Dezengrini R., Torres F.D. & Pan K.A. Soroneutralização e imunofluorescência utilizando anticorpos monoclonais no diagnóstico rápido de infecções pelo herpesvírus bovino tipos 1 e 5 (BHV-1 e BHV-5). *Cienc. Rur.*, 34:1877-1883, 2004.
- Reis J.C. *Estatística Aplicada à Pesquisa em Ciência Veterinária*. 1ª ed., Luci Artes Gráficas Ltda., Olinda, 2003. 651p.
- Vieira S., Brito W.M.E.D., Souza W.J., Alfaia B.T., Linhares D.C. Anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (BHV-1) em bovinos do Estado de Goiás. *Cienc. Anim. Bras.*, 4:131-137, 2003.
- Vieira S., Dias Fº F.C., Queiróz D.A.O., Brito W.M.E.D. Seropizootiological study on bovine herpesvirus-1 (BHV-1) and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in cattle from Goiás, Brazil. *Journal of the Brazilian Society for Virology*. Anais X Encontro Nacional de Virologia, Curitiba, PR, 1999. p.58. (Resumo)