

## FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÕES POR HERPESVÍRUS BOVINO TIPOS 1 E 5 NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL – BRASIL

VARELA, A.P.M.<sup>1</sup>; HOLZ, C.L.<sup>1</sup>; CIBULSKI, S.P.<sup>1</sup>; TEIXEIRA, T.F.<sup>1</sup>; BATISTA, H.B.C.R.<sup>2</sup>; CAMPOS, F.S.<sup>2</sup>; ROEHE, L.R.<sup>2</sup>; DEZEN, D.<sup>1</sup>; FRANCO, A.C.<sup>2</sup>; ROEHE, P.M.<sup>1, 2, #\*</sup>

1. Equipe de Virologia, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), Estrada do Conde 6000, Eldorado do Sul, RS. 92990-000

2. Laboratório de Virologia, DM-ICBS/ UFRGS, Porto Alegre, RS, Av Sarmiento Leite 500 sala 208, CEP 90050-170.

# Endereço para correspondência: Caixa Postal 2076, Porto Alegre, RS, Brasil, CEP 90 001 970. Tel.: (51) 3481-3711. E-mail: [proehe@gmail.com](mailto:proehe@gmail.com)

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the potential risk factors that contribute to bovine herpesviruses type 1 (BoHV-1) and type 5 (BoHV-5) dissemination in the state of Rio Grande do Sul (RS), Brazil. The sera analysed were collected from adult bovine female, not vaccinated against BoHV. BoHV-1 and BoHV-5 prevalence was determined by serum neutralization (SN) tests on sera of 2,200 cattle sera collected from 390 farms in 158 cities. SN tests were performed against four different types and subtypes of BoHV-1 and BoHV-5. Risk factors were assessed by examining farmers' answers to a questionnaire. The overall BoHV-1 and BoHV-5 seroprevalence was 29.2%. The following factors were considered as contributing to spread of the virus: farming of beef cattle rather than dairy cattle, milking once a day, concomitant presence of sheep, goats or wild animals in the farm, trade of cattle for reproductive purposes, use of pre and post-parturition paddocks, use of private veterinary assistance and farming of European beef breeds. Knowledge on such factors is expected to aid in the control of bovine herpesvirus infections.

Key-words: bovine herpesvirus type 1, bovine Herpesvirus type 5, risk factors.

### Resumo

Os herpesvírus bovinos tipo 1 e 5 são membros da família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus*. Este estudo objetivou avaliar os potenciais fatores de risco que contribuem para a disseminação dos herpesvírus bovino tipos 1 (BoHV-1) e 5 (BoHV-5) no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Os soros analisados foram coletados de fêmeas bovinas adultas, não vacinadas contra BoHV. A prevalência de BoHV-1 e BoHV-5 foi determinada através de testes de soroneutralização (SN), pelos quais analisou-se 2200 amostras de soros de bovinos coletados de 390 propriedades e 158 municípios do Estado. As SN foram realizadas frente a quatro diferentes tipos e subtipos de BoHV-1 e BoHV-5. Os fatores de risco foram avaliados a partir das informações registradas em questionários preenchidos pelos pecuaristas. A soroprevalência média encontrada para BoHV-1 e BoHV-5 foi de 29,2%. Os seguintes fatores

foram considerados como contribuintes para a disseminação dos vírus: exploração tipo corte, ordenhar os animais uma vez ao dia, presença concomitante dos bovinos com ovinos/caprinos e animais silvestres, venda de animais de reprodução, uso de piquetes de parto/pós-parto, uso de assistência veterinária privada e criação de bovinos de raças européias de corte. Espera-se que o conhecimento sobre estes fatores auxilie no controle de infecções causadas pelos herpesvírus bovino.

Palavras chave: fatores de risco, herpesvírus bovino tipo 1, herpesvírus bovino tipo 5.

## **Introdução**

Os herpesvírus bovinos (BoHV) são importantes patógenos de rebanhos bovinos, podendo causar doenças que afetam os sistemas respiratório, reprodutivo e nervoso. O BoHV-1 tem distribuição mundial, afetando bovinos em praticamente todas as áreas de produção pecuária bovina (Straub, 2001). Já o BoHV-5 possui uma distribuição geográfica aparentemente mais restrita, sendo raros os relatos de BoHV-5 no hemisfério Norte (Franco & Roehe, 2007).

A transmissão do BoHV-1 e do BoHV-5 pode ocorrer de forma direta através de aerossóis e contato com secreções (respiratórias, oculares, genitais) de animais infectados e de forma indireta através de fômites, inseminação artificial e transferência de embriões (Franco & Roehe, 2007). Dentre os fatores de risco associados aos BoHV-1 e BoHV-5 nos rebanhos pode-se destacar a idade, sexo, tamanho do rebanho, presença de animais silvestres nas propriedades, contato direto dos animais, assim como a compra de bovinos ou a participação em feiras de animais (Dias et al., 2008; Boelaert et al., 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis fatores de risco que poderiam estar associados a infecções de bovinos pelos BoHV no Estado do Rio Grande do Sul.

## **Material e Métodos**

### *Amostragem*

O presente estudo foi realizado utilizando amostras de soro bovino coletadas para o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBTA), provenientes de fêmeas bovinas adultas (>24 meses).

O Estado do Rio Grande do Sul foi subdividido em 7 mesorregiões, das quais foram selecionadas 2200 amostras, escolhidas aleatoriamente dentre os soros de animais não vacinados contra IBR. Das 390 propriedades pertencentes a 158 municípios do RS foram selecionados de 1 a 15 soros. Todas as amostras foram inativadas em banho-maria a 56° C por 30 minutos e em seguida foram estocadas a -20° C até o momento do uso.

### *Dados epidemiológicos*

No momento da coleta das amostras, foram preenchidos questionários epidemiológicos com o objetivo de obter informações sobre os sistemas de produção e manejo dos animais.

Foram analisadas as seguintes variáveis como possíveis fatores de risco: ocorrência de aborto no último ano, tipo de exploração, tpo de criação, tipo e

quantidade de ordenhas por dia, uso de inseminação artificial, raça predominante na propriedade, compra e venda de reprodutores, presença de ovinos, caprinos e animais silvestres na propriedade, utilização de piquete de parto/pós-parto e uso de assistência veterinária.

#### *Vírus e células*

As células utilizadas nos testes sorológicos foram da linhagem de células de rim de bovino *Madin Darby Bovine Kidney* (MDBK, originária da ATCC; CCL-22), as quais foram cultivadas conforme métodos usuais (Paul, 1970).

As cepas de vírus utilizadas nos testes de SN foram: Los Angeles – LA (BoHV-1.1), EVI123/98 (BoHV-1.1), EVI88/95 (BoHV-5a) e A663 (BoHV-5b). A multiplicação e titulação das cepas virais foram realizadas em células MDBK.

#### *Testes de Soroneutralização*

A pesquisa de anticorpos neutralizantes para BoHV-1 e BoHV-5 foi realizada utilizando-se a técnica de soroneutralização (SN) em microplacas de 96 orifícios, como descrito previamente (Deregt et al., 1993). Os testes foram repetidos frente a cada uma das quatro cepas virais, utilizando-se em cada teste 100 doses infectantes para 50% dos cultivos celulares (DICC<sub>50</sub>).

#### *Análise estatística*

Para avaliar os fatores de risco potencialmente associados às infecções, os dados contidos nos questionários foram analisados no programa SPSS. O teste estatístico utilizado foi o teste do qui quadrado ( $\chi^2$ ) (Agresti, 1992), complementado pelo teste de resíduo padronizado ajustado (Adj).

### **Resultados e Discussão**

Os resultados dos possíveis fatores de risco ou proteção estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultado da pesquisa sobre os possíveis fatores de risco ou proteção relacionados às infecções por BoHV-1 e 5.

<b>Avaliação nos questionários</b>	<b>Respostas aos questionários</b>	<b>Positivos (%)</b>	<b>Adj (+)</b>	<b>Fator</b>
<b>Mesorregiões</b>	Centro ocidental	34,3	1,9	---
	Centro oriental	19,4	2,6	Proteção
	Metropolitana de Porto Alegre	34,5	1,6	---
	Nordeste	36,5	1,9	---
	Noroeste	19,6	4,8	Proteção
	Sudeste	28,1	0,5	---
	Sudoeste	32,5	2,5	Risco
	Total	29,2		
<b>Quantidade de ordenha*</b>	1x/dia	34,4	2,4	Risco
	2 ou 3x/dia	20,9	2,4	Proteção
	Total	21,7		
<b>Tipo de exploração</b>	Corte	33	5	Risco
	Leite	22,2	3,7	Proteção
	Mista	24,3	2,3	Proteção

	Total	29		
<b>Assistência veterinária</b>	Veterinário de cooperativa	21,9	3,3	Proteção
	Veterinário privado	35,1	4,1	Risco
	Não	28	1,5	---
	Total	29,6		
<b>Venda de animais de reprodução</b>	Sim	35,3	3,4	Risco
	Não	27,7	3,4	Proteção
	Total	29,9		
<b>Uso de piquetes de parto/pós-parto</b>	Sim	32,5	2,3	Risco
	Não	27,7	2,3	Proteção
	Total	29,4		
<b>Presença de ovinos/caprinos</b>	Sim	34,1	5,6	Risco
	Não	23,2	5,6	Proteção
	Total	28,9		
<b>Presença de animais silvestres</b>	Sim	36,2	3,4	Risco
	Não	27,7	3,4	Proteção
	Total	30,6		
<b>Raça predominante</b>	Europeu de corte	42,4	6,1	Risco
	Europeu de leite	25,5	1,6	---
	Mestiço	27,3	1,4	---
	Outras raças	41,9	1,6	---
	Zebus	17,4	4,1	Proteção
	Várias raças	29,9	0,3	---
	Total	29		

Nota: Os resíduos padronizados ajustados (Adj) maiores que +1,96 correspondem a um  $p < 0,05$  na variável analisada.

\* para a quantidade de ordenha por dia foram considerados somente bovinos de leite.

Nas diferentes mesorregiões do Estado foram percebidas diferenças significativas nas prevalências encontradas. Tais diferenças podem estar relacionadas ao modo de criação e manejo dos rebanhos, além dos fatores climáticos e geográficos de cada uma delas. Neste sentido, a mesorregião Sudoeste apresentou-se como fator de risco. Uma possível explicação para este resultado pode estar relacionada à localização da mesorregião. Os municípios que a compõem fazem fronteira com a Argentina e o Uruguai, países nos quais estudos soroepidemiológicos realizados determinaram 100 e 99 %, respectivamente, de propriedades apresentando pelo menos um animal soropositivo. (Odeon, 1998; Guarino *et al.*, 2008).

Algumas variáveis apresentaram resultados inesperados, dentre elas estão: o tipo de exploração leite e a prática da ordenha, as quais se apresentaram como fatores de proteção. No entanto, tais variáveis, por propiciarem o aglomeramento dos animais, tenderiam a aumentar o contato entre os bovinos e, conseqüentemente, aumentaria a probabilidade de transmissão dos vírus.

A utilização de piquetes separados de parto/pós-parto também se apresentou como fator de risco, resultado oposto ao esperado, visto que nesta fase os animais poderiam reativar e excretar o vírus devido ao estresse e neste sentido, a separação impediria a disseminação desses agentes para o restante do rebanho.

O contato de bovinos com algumas espécies animais, mesmo que elas não exerçam papel importante na disseminação dos vírus, podem atuar como transmissores mecânicos quando se deslocam de um local a outro dentro e entre propriedades. Além disso, sabe-se que os BoHV-1 e 5 possuem a capacidade de infectar diversas espécies de ruminantes, dentre elas cabras, ovelhas, cervos, entre outros. Essas outras espécies podem apresentar-se como um reservatório alternativo para esses vírus. Relacionado a isso, a presença de ovinos/caprinos e de animais silvestres nas propriedades mostrou-se como um fator de risco para essas infecções.

Outro possível fator de risco refere-se à venda de animais de reprodução em leilões, feiras, exposições, para comerciantes de gado ou diretamente a outras fazendas. O fato de muitos desses animais serem vendidos em exposições, leilões e feiras, poderia facilitar a transmissão do vírus visto que estes lugares propiciam o aglomeramento dos animais. Além disso, o transporte para o local dos eventos, assim como para outras fazendas, pode aumentar o nível de estresse dos animais, o que poderia reativar infecções latentes e aumentar ainda mais a disseminação desses agentes.

Veterinários, técnicos e tratadores podem ser capazes de transmitir o BoHV-1 e 5 entre os animais através de fluidos nasais e genitais impregnados nas roupas e calçados. Este fato demonstra a importância dos cuidados nos procedimentos realizados pelos veterinários no intuito de reduzirem essas infecções.

Algumas variáveis analisadas não apresentaram significância estatística ( $p > 0,05$ ) na prevalência de BoHV-1 e 5, dentre estas estão o tipo de criação, tipo de ordenha, uso de IA, compra de animais de reprodução e ocorrência de aborto nos últimos 12 meses.

## **Conclusões**

Os principais fatores de risco associados à positividade para os BoHV-1 e 5 foram: tipo de exploração corte, ordenhar os animais uma vez ao dia, contato com ovinos/caprinos e animais silvestres, venda de animais de reprodução, uso de piquetes de parto/pós-parto, uso de assistência veterinária privada e criação de animais de raças européias de corte.

## **Referências**

Agresti A. 1992. A survey of exact inference for contingency tables. *Statistical Science* 7(1):131–177.

Boelaert F. et al. 2005. Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositive. *Preventive Veterinary Medicine*, 69:285-295.

Deregt D. et al. 1993. A comparative evaluation of two sensitive serum neutralization tests for bovine herpesvirus-1 antibodies. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 57:56-59.

Dias J.A. et al. 2008. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná. Pesquisa Veterinária Brasileira. 28(3):161-168.

Franco A.C. & Roehe P.M. 2007. Herpesviridae, p. 433-488. In: Flores, E.F. Virologia Veterinária. 1ª ed. Ed. Da UFSM, Santa Maria.

Guarino H. et al. 2008. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhoea virus in beef cattle in Uruguay. Preventive Veterinary Medicine 85(1-2):34-40.

Paul J. 1970. Cell and tissue cultures. 4ªed. London: E. & S., Livingstone.

Odeon A.C. 1998. Herpesvirus Bovino, p. 103-111. In: Simpósio Internacional Sobre Herpesvírus Bovino (Tipo 1 e 5) e Vírus Da Diarréia Viral Bovina (BVDV). Anais, Santa Maria.

Straub O.C. 2001. Advances in BHV1 (IBR) Research. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 108:419-422.