

## HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 (HVB 1): INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLÓGICO NO REBANHO LEITEIRO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL<sup>1</sup>

### BOVINE HERPESVIRUS TYPE 1 (BHV 1): AN EPIDEMIOLOGICAL SURVEY IN THE DAIRY HERD OF RIO GRANDE DO SUL STATE, BRAZIL

Luciane Teresinha Lovato<sup>2</sup>      Rudi Weiblen<sup>3</sup>      Fernando Luiz Tobias<sup>4</sup>  
Mauro Pires Moraes<sup>5</sup>

#### RESUMO

Soros de 7956 bovinos leiteiros foram testados pela técnica de soro-neutralização para determinar a prevalência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (HVB 1). As amostras provinham de 99 municípios do Estado do Rio Grande do Sul. Os municípios foram agrupados em nove bacias leiteiras conforme critérios da Cooperativa Central Gaúcha de Leite (CCGL). A prevalência de anticorpos encontrada foi de 18,8%. Dos 99 municípios testados 91 (91,9%) apresentaram pelo menos um animal positivo e 8 (8,1%) foram negativos. A maioria das bacias leiteiras apresentou uma prevalência semelhante à demonstrada pelo restante do Estado. A bacia 7, região de Passo Fundo apresentou a mais baixa prevalência (12%) e a bacia 9, região de Quaraí, a mais alta (49,5%). As amostras foram

divididas em quatro grupos etários: animais até 2 anos, 2 a 4, 4 a 6 e maior que 6 anos. Observou-se que a prevalência aumentou com a idade, com a maior diferença verificada entre o primeiro e o segundo grupo e que a infecção ocorre com maior freqüência em animais com mais de 2 anos. Não foi verificada diferença significativa entre título de anticorpos e idade dos animais. A grande relevância dos resultados está na prevalência comprovada de 54,5% de propriedades positivas representando 371 de um total de 685 testadas no Estado. Levando-se em consideração os resultados deste inquérito pode-se afirmar que o Herpesvírus Bovino Tipo 1 encontra-se disseminado no rebanho bovino gaúcho. Medidas de prevenção e controle devem ser adotadas com urgência para impedir a progressão da infecção.

**Palavras-chave:** HVB 1, IBR/IPV, inquérito, rebanho leiteiro.

<sup>1</sup>Parte da dissertação do primeiro autor apresentada à Universidade Federal de Santa Maria(UFSM) como uma das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária. Pesquisa financiada pelo CNPq processo nº 501635/91-2.

<sup>2</sup>Médico Veterinário, Professor Assistente, MSC, Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DMP), UFSM, 97119-900, Santa Maria, RS, FAX (055)2261975. Autor para correspondência.

<sup>3</sup>Médico Veterinário, Professor Titular, MSc, PhD, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva Microbiologia e Parasitologia, UFSM. Pesquisador do CNPq.

<sup>4</sup>Acadêmico de Medicina Veterinária, Bolsista do CNPq, UFSM.

<sup>5</sup>Médico Veterinário, aluno do Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, UFSM. Bolsista do CNPq.

## SUMMARY

Sera samples of 7956 dairy cattle were tested with the serum neutralization test for antibody prevalence against Bovine Herpesvirus Type 1 (BHV 1). The samples were collected in 99 counties of the Rio Grande do Sul State. The counties were grouped in 9 dairy regions as determined by the "Cooperativa Central Gaúcha de Leite" (CCGL). The antibody prevalence among the 7956 sera samples studied was 18.8%. The results demonstrated a similar antibody prevalence among the dairy regions. However, two regions had significant differences. Region 7 represented by "Passo Fundo" county had a prevalence of 12% and region 9 represented by "Quaraí" with the highest prevalence with 49.5%. The sera samples were divided into four groups according to cattle age: cattle with less than two years of age, 2 to 4, more than 4 to 6, and older than 6 years age. The results showed that the prevalence increases gradually with age. The major difference was between group 1 and 2. The results also demonstrated that the infection is more frequent in cattle older than two years. There was no significant difference among antibody titers between the age groups. The major relevance of the study was the prevalence of 54.5% positive herds, that represents 371 positive from a total of 685 herds tested. Considering this prevalence, it is clear that the BHV 1 is disseminated among the dairy population of the State. Prevention and control methods should be adopted so the spread of the infection can be withheld.

**Key words:** BHV 1, IBR/IPV, survey, dairy herd.

## INTRODUÇÃO

O Herpesvírus Bovino Tipo 1 (HVB 1) é um importante patógeno que provoca alterações nos sistemas respiratório e reprodutivo de bovinos. O vírus foi isolado pela primeira vez no ano de 1956 por MADIN et al., e desde então tem sido descrito em vários países. A infecção por este vírus está associada a um grande número de manifestações clínicas que são genericamente conhecidas por Rinotraqueíte Infecciosa Bovina/Vulvovaginite Pustular Infecciosa (RIB/VPI ou IBR/IPV). Este, como os demais membros da família Herpesviridae, tem a característica de produzir latência no organismo hospedeiro (FENNER et al., 1993).

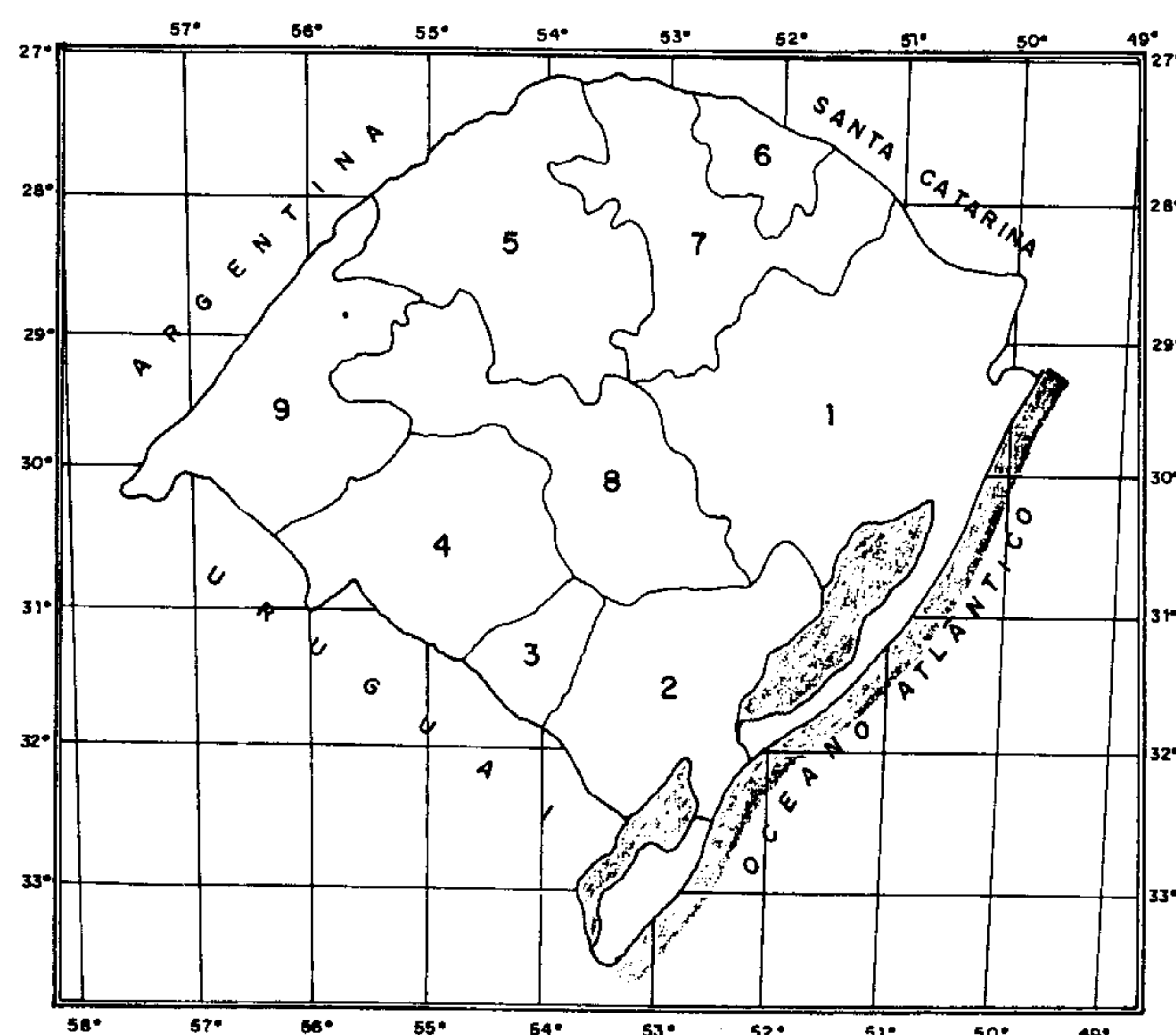
No Brasil o HVB 1 já foi isolado de diferentes manifestações da enfermidade. No Estado Rio Grande do Sul foram relatados isolamentos do vírus de casos de balanopostite infecciosa (WEIBLEN et al., 1991) e vulvovaginite pustular infecciosa (LOVATO et al., 1995). Foram realizados também em alguns Estados brasileiros inquéritos sorológicos que comprovam que o HVB 1 está bastante

distribuído na população bovina no país (WIZIGMANN et al., 1972; RAVAZZOLO et al., 1989; ROSA et al., 1992; DE STEFANO et al., 1993; PITUCO et al., 1993).

Este trabalho teve como objetivos determinar a prevalência de anticorpos contra o HVB 1 nas propriedades, municípios e bacias leiteiras do Estado do Rio Grande do Sul e relacionar esta prevalência com a idade dos animais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 7956 amostras de soro sanguíneo provenientes de bovinos de 685 propriedades de 99 municípios do Estado do Rio Grande do Sul. Estes municípios foram distribuídos em nove bacias leiteiras conforme critérios da Cooperativa Central Gaúcha de Leite (CCGL) e esta distribuição está representada na Figura 1.



(1) 2309/449.263 = 0,5%	(2) 362/79.291 = 0,5%
(3) 247/25.259 = 1,0%	(4) 116/9.521 = 1,2%
(5) 1571/159.096 = 1,0%	(6) 354/50.249 = 0,7%
(7) 2366/102.068 = 2,3%	(8) 479/42.836 = 1,1%
(9) 152/32.812 = 0,5%	

Figura 1. Representação das bacias leiteiras, número de vacas em lactação e número de amostras testadas pela prova de soro-neutralização contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (HVB 1).

O soro foi separado do sangue, descomplementado a 56°C por 30 minutos e estocado a -18°C até o momento do exame. As células Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK) utilizadas no experimento foram cultivadas em tubos e garrafas contendo Meio Essencial Mínimo (MEM), soro fetal bovino e antibióticos.

Como antígeno foram utilizadas as cepas respiratória SV 35/90 (SUAREZ-HEILEIN et al., 1993), reprodutiva SV 56/90 (WEIBLEN et al., 1991), reprodutiva SV 453/93 (LOVATO et al., 1995) isoladas no Setor de Virologia da UFSM, e a cepa respiratória de referência IBR LA do Herpesvírus Bovino Tipo 1. As cepas isoladas no Setor de Virologia da Universidade Federal de Santa Maria foram testadas em um experimento piloto, não demonstrando diferenças significativas no título de anticorpos frente a 215 amostras de soro testadas (REBELATTO et al., 1993).

A técnica de soro-neutralização foi realizada de acordo com CARBREY et al. (1971) utilizando-se diluição fixa do vírus e diluição variável do soro.

Para a análise estatística foram calculadas as freqüências dos resultados de prevalência nas bacias leiteiras, nos grupos de idade, propriedades e municípios; assim como a análise de regressão para estabelecer associação entre título de anticorpos e idade dos animais.

## RESULTADOS

Os resultados de prevalência de anticorpos anti-Herpesvírus Bovino Tipo 1 (HVB 1) do Estado do Rio Grande do Sul demonstraram 18,8% de amostras positivas, 73,4% de amostras negativas e 7,6% de amostras tóxicas.

A prevalência de amostras soro positivas, negativas e tóxicas em cada uma das 9 bacias leiteiras pode ser visualizada na Figura 2. A distribuição da prevalência de anticorpos contra o HVB 1 nos grupos etários está representada na Figura 3.

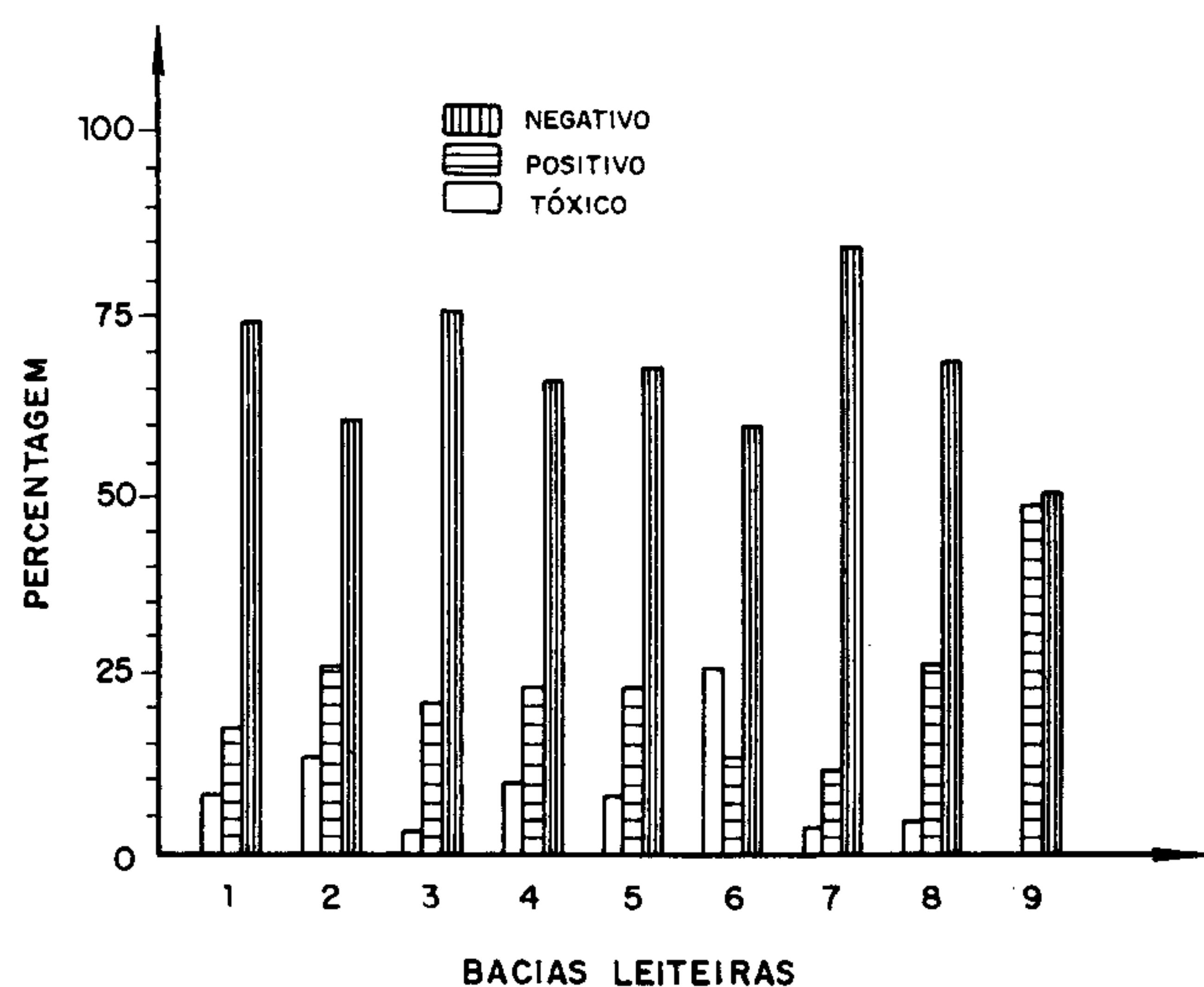


Figura 2. Prevalência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (HVB 1) em amostras de soro de bovinos de nove bacias leiteiras do Estado do Rio Grande do Sul.

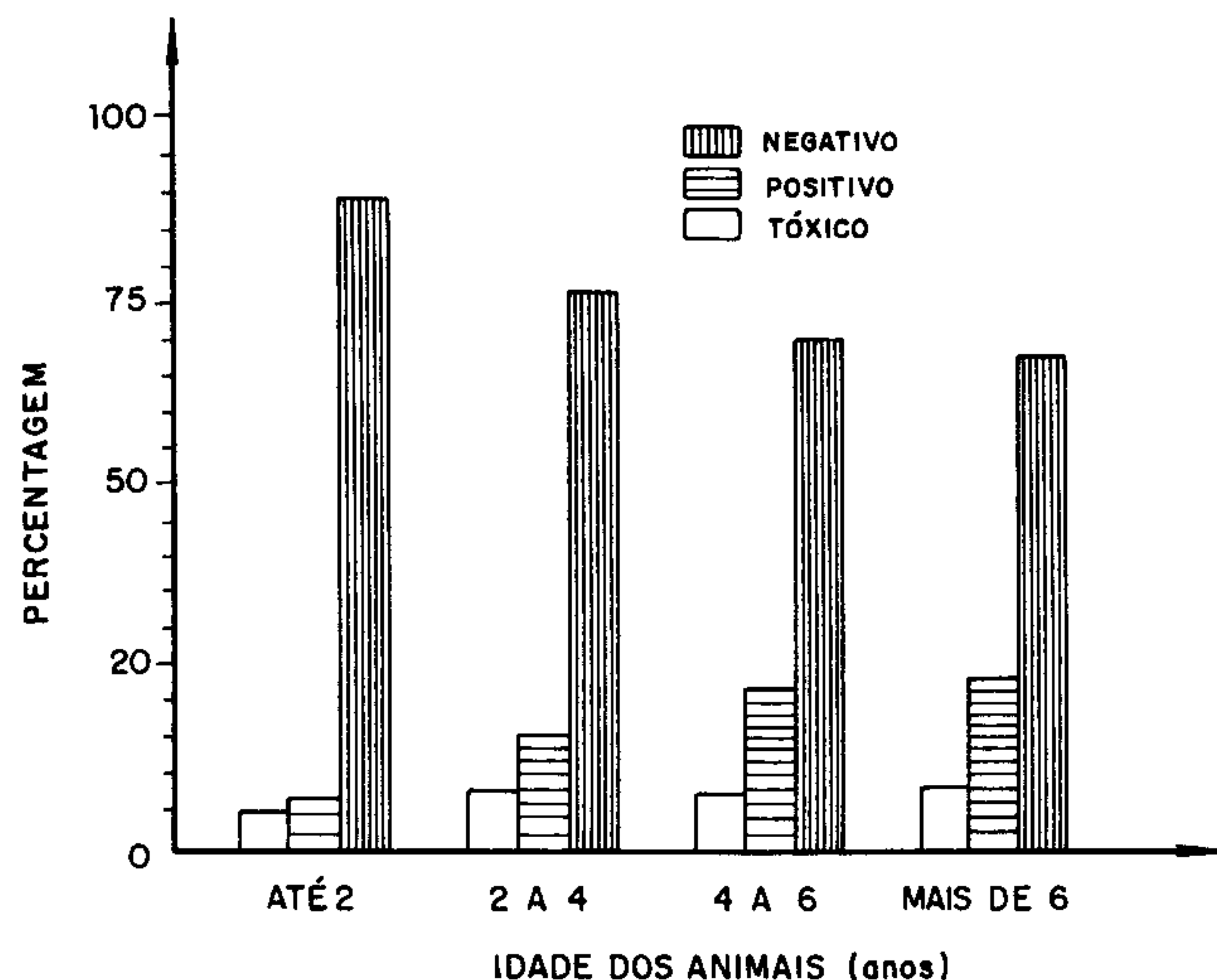


Figura 3. Prevalência de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (HVB 1) em amostras de soro de bovinos de quatro grupos etários do Estado do Rio Grande do Sul.

Para estudar a resposta do título em função da idade dos animais foram testados 2 modelos de regressão, o linear e o quadrático. A análise de variância para o modelo linear mostrou não haver efeito significativo pelo teste T ao nível de 5% de probabilidade de erro. Já a análise de variância para o modelo quadrático mostrou haver efeito significativo pelo teste T ao mesmo nível de probabilidade de erro. No entanto, analisando-se o valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ), que indica o grau de associação entre as variáveis testadas, verifica-se um baixo valor (0,0066), mostrando que o título não depende da idade dos animais (Tabela 1).

Tabela 1. Valores do teste T, da probabilidade ( $P>T$ ) e do coeficiente de determinação ( $r^2$ ) da análise de regressão entre título de anticorpos contra o Herpesvírus Bovino Tipo 1 (HVB 1) e a idade dos animais.

Modelo	Coefficiente	Teste T	$P>T$	$r^2$
Linear ( $Y=a+bX$ )	a	24,681	0,0001	0,0023
	b	1,959	0,0504	
Quadrático ( $Y=a+bX+cX^2$ )	a	11,277	0,0001	0,0066
	b	2,961	0,0031	
	c	-2,519	0,0119	

De um total de 685 propriedades testadas, 371 (54,5%) apresentaram pelo menos um animal positivo e 314 (45,5%) não apresentaram animais soropositivos. Dos 99 municípios testados, 91 (91,9%) apresentaram animais soropositivos e 8 (8,1%) não apresentaram animais soropositivos.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A Rinotraqueíte Infeciosa Bovina/Vulvovaginite Pustular Infeciosa (IBR/IPV) é ainda considerada uma enfermidade exótica no Brasil por parte do Ministério da Agricultura. Isolamentos virais obtidos por ALICE (1978), WEIBLEN et al. (1991) e LOVATO et al. (1995), inquéritos sorológicos realizados (WIZIGMANN et al., 1972; ANUNCIACÃO et al., 1989; PITUCO et al., 1993; RAVAZZOLO et al., 1989) e os dados de prevalência encontrados no presente estudo contestam esta afirmação.

A prevalência de 18,8% de animais soropositivos evidenciada neste experimento difere da prevalência de 33% demonstrada por WIZIGMANN et al. (1972) e 81,8% por RAVAZZOLO et al. (1989), no Estado do Rio Grande do Sul. A diferença entre as taxas de prevalência talvez possa ser explicada tendo em vista o tipo de população bovina utilizada nos três experimentos. No presente trabalho, esta população constituiu-se de bovinos leiteiros de um grande número de propriedades e municípios riograndenses, sem padrão zootécnico definido e sem histórico de problemas reprodutivos. Os autores anteriormente referidos não esclareceram o tipo de população utilizada.

ROSA et al. (1992), trabalhando com amostras de soros de animais provenientes de 341 propriedades de 67 municípios do Estado reunidos para uma exposição feira, demonstraram 7,3% de animais soropositivos; a mais baixa prevalência descrita até hoje. Tratava-se de animais oriundos de diferentes regiões do Estado e cuja característica principal era seu alto padrão zootécnico, o que talvez pudesse explicar esta taxa de prevalência tão baixa uma vez que animais de cabanha que participam desta exposição estão sujeitos a um controle sanitário mais rígido.

O resultado obtido neste trabalho assemelha-se aos descritos por PITUCO et al. (1993) que demonstraram 19,7% de amostras positivas no Paraná e DE STEFANO et al. (1993) apresentando 17,2% de amostras positivas em Ibirubá/RS. É possível que estes dados representem melhor a situação real da infecção pelo HVB 1 no rebanho bovino brasileiro, mas principalmente o gaúcho devido ao número de animais e propriedades examinadas no presente trabalho.

Na distribuição por bacias observou-se que a percentagem de positivos alcançou um valor aproximado àquele demonstrado para o Estado considerado na sua totalidade. Entretanto foi possível visualizar diferença um

pouco maior na Bacia 7, representada pela região de Passo Fundo, com a menor prevalência (12%) e diferença acentuada na Bacia 9, representada pela região de Quaraí, com a maior prevalência (49,3%). O menor valor obtido na Bacia 7 talvez possa ser explicado pelo grande número de amostras examinadas, representando 2,4% da população leiteira da região. Analisando detalhadamente os inquéritos sorológicos realizados com HVB 1 no Brasil observou-se uma tendência de que trabalhos que utilizaram um pequeno número de amostras obtiveram altas prevalências (ANUNCIACÃO et al., 1989; MUELLER et al., 1981).

Analisando-se a Bacia 9 separadamente, observa-se que a prevalência de 49,3% de animais positivos está de acordo com a evidenciada em outros Estados brasileiros por CASTRO (1988) que demonstrou 51% de soro positivos em Minas Gerais e MUELLER et al. (1981) que demonstraram 42,2% de amostras de soros positivos em São Paulo; e, mesmo em outros países como a de 62% de animais positivos determinada por JESSETT & RAMPTON (1975) e a de 49% de animais reagentes positivos determinado por CAVIRANI et al. (1992). Este valor mais alto talvez possa ser explicado, em parte, pelo fato dos municípios desta região fazerem fronteira com a Argentina e o Uruguai, países que utilizam a vacinação anti-IBR. É também do conhecimento de muitos a facilidade existente para a introdução de produtos biológicos através destas fronteiras. Sendo assim, esta alta prevalência na região poderia ser explicada pela possível utilização destes biológicos e também pela presença da enfermidade. Estes dois fatores aqui postulados são de conhecimento público, principalmente de técnicos e produtores mas não descritos na literatura. Caso sejam aceitas as hipóteses acima pode-se explicar os valores encontrados na região. Deve-se, entretanto, fazer a ressalva de que WIZIGMANN et al. (1972) também demonstrou uma prevalência média de 47,7% em quatro municípios desta região em uma época em que ainda não haviam sido desenvolvidas vacinas contra o HVB 1.

Dos municípios do Estado, 91,8% possuem animais reagentes ao HVB 1. Através deste resultado pode-se supor que em todos estes municípios existam bovinos albergando o vírus e atuando como fonte de infecção para os animais da região. Até a presente data os poucos inquéritos sorológicos efetuados no Estado (RAVAZZOLO et al., 1989; ROSA et al., 1992; DE STEFANO et al., 1993; PITUCO et al., 1993) utilizaram um menor número de municípios não indicando, porém, a quantidade de animais positivos e negativos por município.

A prevalência de 54,5% de propriedades positivas demonstradas encontra-se um pouco abaixo da demonstrada por outros autores. DURHAM & HASSARD (1990) evidenciaram 59,5% de propriedades positivas e CAVIRANI et al. (1992) demonstrou 65%. Apesar da diferença entre o número de propriedades positivas esses achados são de grande relevância pois, estes animais soropositivos, podem

representar fonte de infecção para um número maior de animais dentro de cada propriedade e mesmo para propriedades vizinhas posteriormente.

JESSETT & RAMPTON (1975), MINTZEL et al. (1986) e DURHAM & HASSARD (1990) comprovaram através de inquéritos sorológicos que animais adultos, geralmente com mais de 20 meses de idade apresentavam-se soropositivos com maior frequência. Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com os referidos autores uma vez que, na distribuição da prevalência por idades pode-se verificar um aumento gradual da mesma a cada grupo etário.

BRADLEY (1985) observou ainda que, os animais jovens permaneciam negativos ao HVB 1 até o momento de sua introdução no rebanho adulto, quando então havia soroconversão. Esta tendência pode ser verificada também neste trabalho pois se os animais forem divididos em dois grandes grupos, menores e maiores do que 2 anos, a maior parte de soropositivos está concentrado no segundo grupo (Figura 3).

Por outro lado a relação título/idade não pôde ser confirmada neste estudo quando testados modelos de regressão (Tabela 1), não sendo verificado aumento dos títulos com o avanço da idade dos animais, conforme sugerido por FENNER et al. (1993). Este estudo foi feito sobre o rebanho, não sendo realizado o monitoramento dos animais individualmente.

Pela distribuição da prevalência de anticorpos contra o HVB 1 nas nove bacias leiteiras, municípios e propriedades, pode-se afirmar que o vírus está disseminado no rebanho bovino leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul. Baseando-se nestes dados de prevalência, recomenda-se que sejam tomadas medidas de prevenção e controle contra a infecção pelo HVB 1.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALICE, F.J. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), no Brasil. *Rev Bras Biol*, v. 38, n. 4, p. 919-920, 1978.
- ANUNCIAÇÃO, A.V.M., LEITE, R.C., MOREIRA, E.C. et al. Presença de anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (HVB 1) em bovinos nos Estados de Minas Gerais, Goiás e Rio de Janeiro através da prova de hemaglutinação passiva. *Arq Bras Med Vet Zoot*, v. 41, n. 5, p. 433-441, 1989.
- BRADLEY, J.W. Eradication of infectious bovine rhinotracheitis virus (Bovine herpesvirus 1) from a herd of beef cattle. *Can Vet J*, v. 26, p. 195-198, 1985.
- CARBREY, E.A., BROWN, L. N., CHOW, T.L. Recommended standard laboratory techniques for diagnosing infectious bovine rhinotracheitis, bovine virus and shipping fever (parainfluenza 3). In: ANNUAL MEETING U.S. ANIMAL HEALTH ASSOCIATION, 1971. *Proceedings...* Animal Health Association, 1971. p. 629-648.
- CASTRO, R.S. Desempenho reprodutivo de receptoras, até 60 dias de gestação, e doadoras de embriões bovinos, frente à infecção por diarréia bovina a vírus, herpesvírus bovino 1, leucose língua azul, em Minas Gerais. Belo Horizonte, 1988. 93 p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais, 1988.
- CAVIRANI, S., LUINI, M., ALLEGRI, G., et al. A 10-years serological survey for Bovine Herpesvirus 1 (BHV-1), Bovine Diarrhea Virus (BVDV) and Bovine Herpesvirus 4 (BHV-4) in dairy herds with reproductive disorders. *Veterinary Bulletin*, v. 62, n. 10, p. 1068, 1992.
- DE STEFANO, E., PASSOS, E.C., ANGERAMI, A.C., et al. Levantamento sorológico da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) no município de Ibirubá, RS. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 6, 1993, São Paulo. *Resumos...*, São Paulo: Instituto Biológico, 1993. p. 16.
- DURHAM, P.J.K., HASSARD, L.E. Prevalence of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3, bovine respiratory syncytial, and bovine viral diarrhoea viruses in cattle in Saskatchewan and Alberta. *Can Vet J*, v. 31, p. 815-820, 1990.
- FENNER, F.J., GIBBS, E.P.J., MURPHY, F.A., et al. *Veterinary Virology*. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1993. Cap. 19: Herpesviridae, p. 337-368.
- JESSETT, D.M., RAMPTON, C.S. The incidence of antibody to infectious bovine rhinotracheitis virus in Kenyan cattle. *Res Vet Sci*, v. 18, p. 225-226, 1975.
- LOVATO, L.T., WEIBLEN, R., RABUSKE, M., et al. Herpesvírus bovino tipo 1: isolamento de casos de vulvovaginite. *Semina*, v. 16, n. 1, p. , 1995.
- MADIN, S.H., YORK, J., MCKERCHER, D.G. Isolation of the infectious bovine rhinotracheitis virus. *Science*, v. 124, p. 721-722, 1956.
- MINTZEL, V.H., RIEDEMANN, S., REINHARDT, G. et al. Rinotraqueíte infecciosa bovina: relación entre títulos de anticuerpos y dos índices reproductivos en un plantel lechero. *J Vet Med B*, v. 33, p. 697-703, 1986.
- MUELLER, S.B.K., IKUNO, A.A., MACHADO, J.S. et al. Prevalência de anticorpos contra o vírus da rinotraqueíte infecciosa/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em bovinos do Estado de São Paulo. *Arq Inst Biol São Paulo*, v. 47, n. 2, p. 55-59, 1981.
- PITUCO, E.M., DE STEFANO, E., PASSOS, E.C., et al. Diagnóstico sorológico da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no período de 1988 a 1992. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 1993, São Paulo. *Resumos...*, São Paulo: Instituto Biológico, 1993. p. 16.
- RAVAZZOLO, A.P., DAL PIZZOL, M., MOOJEN, V. Evidência da presença de anticorpos para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos em bovinos de alguns municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 1986. *Arq Fac Vet UFRGS*, v. 17, p. 89-95, 1989.
- REBELATTO, M.C., ZANINI, M., HOLDEFER, B. et al. Bovine herpesvirus type 1: histocultures and viral strains study for prevalence determinations. In: VIROLÓGICA 93, 1993, Porto Alegre. *Resumos...* Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Virologia, 1993. 373 p. 279.

- ROSA, J.A., BANGEL, E., MARTINS, R.M., et al. Anticorpos contra o vírus da Rinotraqueite Infecciosa Bovina (IBR) em bovinos no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1992, Gramado. *Anais...*, Porto Alegre: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 1992. 150 p. p. 86.
- SUAREZ-HEILEIN, A.S., METZLER, A.E., WEIBLEN, R. et al. Molecular characterization of south american bovine herpesvirus-1 isolates with monoclonal antibodies and SDS-PAGE. *J Vet Med B*, v. 40, p. 125-130, 1993.
- WEIBLEN, R., KREUTZ, L.C., CANABARRO, T.F. et al. Balanoposthitis in bulls due to bovine herpesvirus in south Brazil. *Brazilian J Med Biol Res*, v. 24, n. 8, p. 1-3, 1991.
- WIZIGMANN, G., VIDOR, T., RICCI, Z.M.T. Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus da diarreia a vírus -Enfermidade das mucosas dos bovinos, no Estado do Rio Grande do Sul. *Boletim do IPVDF*, v. 1, p. 52-58, 1972.