

Universidade Federal de Minas Gerais
Conselho de Pós-Graduação
Escola de Veterinária

PREVALÊNCIA DE BOVÍDEOS REAGENTES À PROVA DE IMUNODIFUSÃO
PARA LÍNGUA AZUL NA REGIÃO NORTE DO BRASIL

Vera Lúcia Viegas de Abreu

Belo Horizonte
Minas Gerais
1982

Vera Lúcia Viegas de Abreu

PREVALÊNCIA DE BOVÍDEOS REAGENTES À PROVA DE IMUNODIFUSÃO
PARA LÍNGUA AZUL NA REGIÃO NORTE DO BRASIL

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária

Área: Epidemiologia

Belo Horizonte

Minas Gerais

1982

Abreu, Vera Lúcia Viegas, 1945

A162p Prevalência de bovídios reagentes à
prova de imunodifusão para Língua Azul
na Região Norte do Brasil. Belo Ho-
rizonte, Escola de Veterinária da UFMG,
1982

45p. ilustr.

Tese, Mestre em Medicina Veterinária

1. Virose animal - Bovino. 2. Língua
gua Azul - Prevalência. 1. Título.

CDD - 636.208 969 2

RESUMO

Com o objetivo de determinar a prevalência da infecção pelo vírus da Língua Azul, foram testados, através da prova de dupla difusão em ágar (DDA), 1472 soros sanguíneos de bovinos do Território Federal de Roraima, 360 do Estado do Amazonas, 360 do Estado do Pará, 360 soros sanguíneos de bovinos e 141 de bubalinos do Território Federal do Amapá.

A prevalência foi de 15,9% no Território Federal de Roraima, 25,5% no Estado do Amazonas, 32,5% no Estado do Pará e 21,3% e 19,5%, respectivamente, para bovinos e bubalinos do Território Federal do Amapá.

A maior prevalência da infecção foi verificada em bovinos com idade superior a 24 meses.

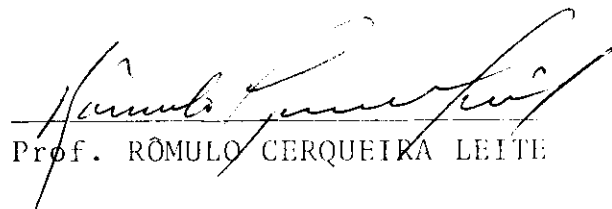
As taxas de reagentes e sua distribuição geográfica indicam que a infecção pelo vírus da Língua Azul está amplamente difundida nas quatro unidades da Região Norte do Brasil.

APROVADA EM: 06/08/1982

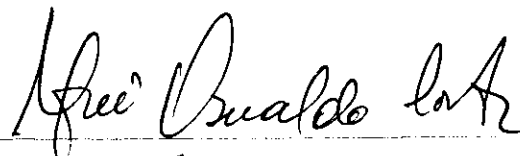


Prof. ÉLVIO CARLOS MOREIRA

- Orientador -



Prof. RÔMULO CERQUEIRA LEITE



Prof. JOSÉ OSWALDO COSTA

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. ÉLVIO CARLOS MOREIRA, da Escola de Veterinária, pela valiosa orientação.

À SECRETARIA DE DEFESA SANITÁRIA ANIMAL DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, pela cessão do material utilizado neste trabalho.

Aos colegas do Curso de Mestrado, pela agradável convivência.

À ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG, pela oportunidade oferecida.

À FUNDAÇÃO DE ESTUDO E PESQUISA EM MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA (FEP-MVP), ao PROGRAMA DE SAÚDE ANIMAL DO CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO (CNPq), pelo apoio financeiro na realização da pesquisa.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

SUMÁRIO

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1. Marco da amostra	8
3.2. Território Federal de Roraima	8
3.2.1. Tamanho da amostra	8
3.2.2. Cálculo do número de proprie- dades	9
3.2.3. Fração global da amostra	10
3.2.4. Colheita de informações	10
3.2.5. Estratificação	10
3.3. Estado do Amazonas	11
3.3.1. Amostragem	11
3.3.2. Tamanho da amostra	12
3.3.3. Cálculo do número de proprie- dades :	12
3.3.4. Fração amostral	12
3.3.5. Estratificação	12

	<u>Página</u>
3.4. Estado do Pará	13
3.4.1. Amostragem	13
3.4.2. Tamanho da amostra	13
3.4.3. Cálculo do número de proprie- dades	13
3.4.4. Fração amostral	13
3.4.5. Estratificação	14
3.5. Território Federal do Amapá	14
3.5.1. Amostragem	14
3.5.2. Tamanho da amostra	14
3.5.3. Estratificação	15
3.6. Prova sorológica	15
3.7. Análise dos dados	15
4. RESULTADOS	29
4.1. Território Federal de Roraima	29
4.2. Estados do Amazonas e Pará	30
4.3. Território Federal do Amapá	30
5. DISCUSSÃO	38
6. CONCLUSÕES	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da Língua Azul tem adquirido importância significativa nos últimos anos, tanto pelas perdas diretas que causa a nível dos rebanhos afetados (METCALF et alii, 1980), como pelas perdas indiretas que atingem as relações econômicas na comercialização internacional de bovinos, ovinos, caprinos e sêmen de bovinos.

Descrita, clinicamente, pela primeira vez em 1876, pela CATTLE AND SHEEP DISEASES COMMISSION da África do Sul, somente em 1943 foi descrita fora do continente africano, tendo sido diagnosticada no Chípre, Israel e Síria; em 1948 nos Estados Unidos; na Espanha e Portugal em 1956; no Paquistão e Japão em 1959; no Peru em 1962 e na Índia em 1963 (BOULANGER & FRANK, 1975).

No Brasil, em 1977, foi evidenciada a presença de anticorpos contra o vírus da Língua Azul em soros sanguíneos de ovinos e bovinos procedentes do Estado de São Paulo e testados no Veterinary Research Institute, Onderstepoort, África do Sul, Laboratório de Referência Mundial da FAO para Língua Azul (SILVA, 1978). Em 1980, bovinos importados do Brasil, em quarentena na Flórida (USA), foram positivos sorologicamente para Língua Azul, inclusive com isolamento do vírus de um desses animais (REPORT, 1980).

A prevalência da infecção pelo vírus da Língua Azul no Brasil, bem como as perdas econômicas causadas pela doença, não são conhecidas: entretanto, a presença da infecção já comprovada (SILVA, 1978; REPORT, 1980) não pode constituir surpresa, considerando que não existe nenhuma restrição à importação de animais e sêmen bovino (PARSONSON et alii, 1981) de países onde ocorre a doença.

Na região norte do Brasil, as condições ecológicas, as coleções naturais de água, as grandes precipitações pluviais provocando alagamento em diversas áreas e as altas temperaturas favorecem o desenvolvimento de mosquitos hematófagos do gênero *Culicoides*, que são os responsáveis pela transmissão biológica natural do vírus da Língua Azul, já havendo sido descritas 60 espécies de *Culicoides* na Bacia Amazônica (WIRTH & BLANTON, 1973).

A finalidade deste trabalho foi a pesquisa sorológica de anticorpos contra o vírus da Língua Azul e, assim, estimar a prevalência da infecção em bovinos no Território Federal de Roraima, Estados do Amazonas, Pará, Território Federal do Amapá e os fatores que podem concorrer para sua existência nestas áreas do País.

2. REVISÃO DE LITERATURA

FAO/OIE (1961) com a finalidade de evitar a entrada do vírus da Língua Azul em países indenes, recomenda medidas de quarentena e exames laboratoriais para ruminantes importados de países onde existe a doença.

KENNEDY (1968) estudando a epidemiologia da Língua Azul nos Estados Unidos, não conseguiu determinar com certeza como a doença foi introduzida no País. Entretanto, observou que provavelmente a introdução da Língua Azul resultou da importação de ruminantes africanos com infecção latente, principalmente de raças Afrikander que participaram na formação da raça Santa Gertrudes.

LUEDKE et alii (1969) constataram altos e persistentes títulos de viremia em bovinos inoculados, intradermicamente e através de exposição a *Culicoides*, com vírus da Língua Azul. O vírus foi isolado do sangue dos animais desde o 2º até o 50º dia após exposição. Anticorpos neutralizantes e precipitantes foram detectados a partir do 21º dia. Dos três animais expostos ao contágio por vetores, dois desenvolveram lesões de pele com queda dos pelos, engrossamento e descamação.

McKERCHER et alii (1970) descreveram casos de

hidro-anencefalia em bezerros, com lesões similares à hidro-anencefalia dos cordeiros causada por Língua Azul. Através de estudos sorológicos concluíram que a causa teria sido infecção fetal pelo vírus da Língua Azul.

METCALF & JOCHIM (1970), através da prova de imunodifusão em ágar para Língua Azul, testaram soros de bovinos infectados experimentalmente, não infectados, suspeitos e animais de matadouro sem informação. De 20 animais infectados experimentalmente sete foram positivos à prova aos 21 dias, 13 aos 28 dias e 19 aos 50 dias após inoculação. De 57 animais suspeitos, provenientes de propriedades onde havia sido isolado vírus da Língua Azul, 18 foram positivos à prova. Dos 57 soros testados, 30 foram coletados de bovinos com sintomas agudos da doença, 25 em fase de convalescência e dois animais aparentemente normais. Encontraram taxas de 6,7% de positivos em animais com sintomas agudos e 6% nos animais na fase de convalescência. Com a finalidade de detectar reações sorológicas cruzadas, o antígeno utilizado na prova foi testado frente a 31 soros imunes de viroses, selecionadas pela sintomatologia semelhante, origem, transmissão e características do vírus. Nesse estudo não evidenciaram reações cruzadas.

BORDEN et alii (1971), através da reação de fixação do complemento, não detectaram reações cruzadas entre o vírus da Língua Azul e grupos polivalentes e/ou antissoros específicos para 15 arboviroses e vírus transmitidos por artrópodes.

WIRTH & BLANTON (1973) em abrangente trabalho de revisão sobre maruins ou mosquitos hematófagos do gênero *Culicoides* na Bacia Amazônica, baseado principalmente em material coletado em várias localidades dos Estados do Amazonas e Pará, descreveram 60 espécies de *Culicoides* nessa região.

THOMAS et alii (1976), comparando testes sorológicos para detectarem anticorpos contra Língua Azul em 137

soros de bovinos e ovinos provenientes de grupos experimentais e animais infectados naturalmente, encontraram de maneira geral correlação entre os resultados dos testes de neutralização em placa, fixação de complemento e a prova de dupla difusão em ágar (DDA). Observaram que o teste de neutralização em placa foi mais sensível que os outros dois, os anticorpos foram detectados entre duas a três semanas após exposição enquanto que nos testes de fixação de complemento e DDA os anticorpos foram detectados entre quatro a seis semanas após exposição.

SILVA (1978) relatou a presença de anticorpos do vírus da Língua Azul em soros sanguíneos de ovinos e bovinos procedentes do município de São Carlos (SP), testados através da prova de fixação de complemento no Veterinary Research Institute (Onderstepoort, África do Sul). O resultado dos exames indica a presença do vírus da Língua Azul na região de São Carlos (SP), considerando que foram positivos bovinos da raça nativa Canchim e ovinos também nativos.

LUEDKE et alii (1977), através de vetores biológicos, infectaram dois grupos de fêmeas com 60 e 120 dias de gestação e comprovaram a presença de aborto e efeitos teratogênicos do vírus da Língua Azul em bovino. Nas 10 fêmeas infectadas foram detectados anticorpos neutralizantes e precipitantes, viremia e leucopenia. Ocorreram dois abortos, um natimorto e seis dos sete bezerros nascidos vivos apresentaram anomalias e três disfunções. Artrogriposes, tecido gengival excessivo, agnatia, prognatia, deformação craniana e ataxia foram observados.

SELLERS et alii (1979) estudaram as possíveis origens de um surto de Língua Azul ocorrida no Chipre em 1977 e chegaram às seguintes conclusões: o vírus da Língua Azul teria persistido no Chipre desde 1969 quando causou reconhecíveis sinais clínicos; teria sido trazido por animais portadores através de importações legais ou ilegais ou através de *Culicoides* infectados carreados pelo vento, provavelmente de surtos ocorridos em países vizinhos.

FAO (1979) em trabalho sobre a distribuição da Língua Azul na Austrália, menciona a possibilidade de existir reações sorológicas cruzadas entre o vírus da Língua Azul e um grupo de outras doenças transmitidas por artrópodes; não citam, entretanto, a prova realizada e nem fazem referências às possíveis pesquisas realizadas.

PEARSON & JOCHIM (1979) desenvolveram a prova de imunodifusão em ágar, para Língua Azul, utilizando placas de Petri de vários diâmetros, com resultados seguros e similares aos encontrados por JOCHIM & CHOW (1969) com a prova de micro-imunodifusão realizada em lâminas de microscópio.

SIMPSON (1979) trabalhando em Botswana, com uma amostra de 592 bovinos, verificou uma prevalência de 92%, através da prova de DDA. A porcentagem de reagentes declinava com o aumento da idade, o que também havia sido verificado em duas populações de búfalos africanos em 1974 e 1976.

COACKLEY et alii (1980) testaram, pela prova de DDA, 18.849 bovinos do oeste da Austrália encontrando 9,7% de positivos e 6,1% de suspeitos ou fracamente positivos. Verificaram que o maior número de animais positivos situava-se na faixa etária acima de dois anos.

METCALF et alii (1980) estudaram a incidência e as perdas econômicas causadas pela infecção de Língua Azul em bovinos do Estado do Mississippi (USA) durante 1979 e encontraram um total de perdas diretas de 35.000 dólares nas propriedades amostradas. Quando projetaram para todo rebanho do Estado, o total de perdas diretas foi superior a seis milhões, sendo esta perda altamente significativa. Nesse trabalho constataram uma maior incidência da infecção em bovinos adultos.

De 60 bovinos zebuínos importados do Brasil, admitidos para quarentena no Centro de Importação Harry Truman, na Florida (USA), oito foram positivos à prova de DDA para Língua Azul e apresentaram altos títulos neutralizantes pa-

ra os sorotipos quatro e 20. O vírus da Língua Azul, sorotipo quatro, foi isolado de um animal (REPORT, 1980).

Na primeira pesquisa, utilizando a prova de DDA, no Brasil, MOREIRA et alii (1980) detectaram 273 soros positivos entre os 577 bovinos testados, provenientes dos municípios de Araxá e Uberaba (MG), Jaú, Barretos e Ribeirão Preto (SP).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Marco da amostra

A Região Norte do Brasil, excluindo-se os Estados do Acre e Rondônia, possui uma área de 3.185.547 km², com 21.178 km² de águas internas.

Esta área representa 37,42% do Território Nacional e caracteriza-se por um clima tropical quente, com temperaturas médias anuais acima de 25°C e uma umidade relativa anual de 80%, apresentando duas estações bem definidas, uma chuvosa ou inverno e uma seca ou verão (FIBGE, 1977).

3.2. Território Federal de Roraima

O Território Federal de Roraima é formado por dois grandes municípios: Boa Vista e Caracaraí. Conta com uma extensão territorial de 230.104 km².

Possui uma população bovina de 330.824 animais distribuída em 740 propriedades rurais, segundo cadastramento da Secretaria de Agricultura do Território, em 1978.

3.2.1. Tamanho da amostra

Para estabelecer o tamanho da amostra tomou-se co-

mo valor de referência a proporção de soros positivos encontrada por MOREIRA et alii (1980), que foi de 47%.

O cálculo do número de animais a serem testados foi feito segundo recomendação do CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS (1979):

$$n = \frac{p \cdot (100-p) z^2}{\left(\frac{p \cdot d^2}{100}\right)}$$

onde:

n = tamanho da amostra

p = prevalência esperada

z = grau de confiança

d = margem de erro esperada

p = 47%

d = 6%

z = 1,96 (95% de confiança)

$$n = \frac{47 \cdot (100-47) \cdot (1,96)^2}{\left(\frac{47 \cdot 6}{100}\right)^2} = 1.203$$

Para maior segurança o valor de n foi acrescido de 25% resultando, desta maneira, 1.500 animais.

3.2.2. Cálculo do número de propriedades

Com o objetivo de selecionar propriedades (r), convencionou-se testar 10 animais em cada propriedade. O número de propriedades foi calculado da seguinte forma:

$$r = \frac{n}{b}$$

onde:

r = número de propriedades

n = tamanho da amostra

b = número constante de animais por propriedade

$$r = \frac{1.500}{10} = 150 \text{ propriedades}$$

3.2.3. Fração global da amostra

A fração amostral (f) para a amostra n (animais) é $f = \frac{n}{N}$ e a fração de propriedades (fr) é igual a $fr = \frac{nr}{Nr}$;

$$f = \frac{1.500}{330.824} = \frac{1}{220}$$

$$fr = \frac{150}{740} = \frac{1}{5}$$

Em consequência, a nível global, foi sangrado um animal em cada 220 e visitada uma propriedade em cada cinco.

3.2.4. Colheita de informações

Paralelamente ao trabalho de colheitas das amostras sanguíneas, reuniram-se informações sobre a área de estudo, tamanho do rebanho, estrutura do rebanho e idade dos animais.

3.2.5. Estratificação

Usou-se, para estratificação, três critérios, sendo um geográfico, um por tamanho de rebanho e, por último, pela idade, esperando-se obter nestas três características, diferenças nos resultados finais (FIG. 1).

A distribuição da amostra para os diferentes estratos foi feita com base no tamanho proporcional da população bovina em cada estrato (TAB. 1).

Para a seleção da amostra, estabeleceu-se um procedimento em duas etapas:

- a) na primeira etapa foram sorteadas as propriedades;
- b) na segunda etapa foram escolhidos os animais dentro de cada propriedade sorteada.

Os animais sorteados em cada propriedade foram

divididos, por critério de idade, nas seguintes faixas etárias: quatro a 12 meses, 13 a 24 e maiores de 24 meses.

Distribuiu-se a amostra em 20% para as duas primeiras faixas de idade e em 60% para a última.

A TAB. II apresenta a distribuição da amostra por estratos e por tamanho do rebanho com sua respectiva distribuição relativa de acordo com a população animal.

A TAB. III apresenta a distribuição da amostra por intervalo de idade, de acordo com o tamanho do rebanho e número de animais selecionados nos três estratos*.

3.3. Estado do Amazonas

O Amazonas, com 1.564.445 km², é o maior Estado do Brasil em extensão territorial, em quase sua totalidade é coberto pela Floresta Amazônica.

Possui uma população bovina efetiva estimada em 204.000 animais, sua distribuição não é homogênea, encontrando-se maior densidade nas micro-regiões: Madeira, Solimões-Japurá e Médio Amazonas (FIBGE, 1977).

3.3.1. Amostragem

Utilizou-se a amostragem realizada pelo Ministério da Agricultura que referiu-se a 3.814 propriedades com 40.705 bovinos (fêmeas acima de 30 meses), distribuídos em três micro-regiões homogêneas do Estado do Amazonas.

A escolha dessas micro-regiões baseou-se na distribuição geográfica da população bovina e no número de propriedades rurais. Abrangeu-se, assim, 94% da população bovina e 90% das propriedades rurais (TAB. IV).

* Essa amostra foi obtida originariamente para pesquisa de anticorpos anti-VIA

O valor de $n = 880$ foi obtido segundo metodologia descrita no item 3.2.1.

3.3.2. Tamanho da amostra

$$n_1 = \frac{47 (100-47) (1,96)^2}{\left(\frac{47 \cdot 11}{100}\right)^2} = 360 \text{ soros}$$

Da amostra de $n = 880$ sorteou-se 360 soros.

3.3.3. Cálculo do número de propriedades

Com o objetivo de selecionar propriedades (r), convencionou-se testar três animais em cada propriedade. O número de propriedades foi, então:

$$r = \frac{360}{3} = 120$$

3.3.4. Fração amostral

A fração amostral (f) para a amostra n_1 é igual:

$$f = \frac{360}{40.705} = \frac{1}{113} \text{ e}$$

a fração das propriedades (fr):

$$fr = \frac{120}{3.814} = \frac{1}{32}$$

3.3.5. Estratificação

Usou-se, para estratificação, critério geográfico (FIG. 2).

A distribuição da amostra para os diferentes estratos foi feita com base no tamanho proporcional da população bovina (fêmeas acima de 30 meses) em cada estrato (TAB. V).

3.4. Estado do Pará

O Estado do Pará, com 1.348.042 km² de área e 83 municípios, é o segundo Estado do Brasil em extensão territorial, quase toda sua área é ocupada pela Floresta Amazônica.

Possui a maior população de bovídeos entre as unidades da Região Norte, estimada em 1.542.000 animais, servindo principalmente ao mercado de corte. Sua distribuição não é homogênea, estando concentrada em micro-regiões específicas (FIBGE, 1977).

3.4.1. Amostragem

Utilizou-se amostragem realizada pelo Ministério da Agricultura que referiu-se a 5.184 propriedades rurais com 335.398 bovinos (fêmeas acima de 30 meses), distribuídos em seis micro-regiões homogêneas e que representaram 96% da população bovina e 80% das propriedades rurais (TAB. VI).

O valor de $n = 2.046$ foi calculado segundo metodologia descrita no item 3.2.1.

3.4.2. Tamanho da amostra

$$n_1 = n_2 = 360$$

Da amostra de $n = 2.046$ sorteceu-se 360 soros.

3.4.3. Cálculo do número de propriedades

Convencionou-se testar dois animais por propriedade. O número de propriedades foi, então:

$$r = \frac{360}{2} = 180$$

3.4.4. Fração amostral

$$f = \frac{360}{335.398} = \frac{1}{930}$$

$$f_r = \frac{360}{5.184} = \frac{1}{14.4}$$

3.4.5. Estratificação

Foram constituídos três estratos geográficos (FIG. 3).

A distribuição da amostra foi feita de acordo com a proporção da população bovina (fêmeas acima de 30 meses) em cada estrato (TAB. VII).

3.5. Território Federal do Amapá

O Território Federal do Amapá é formado por cinco municípios: Macapá, Amapá, Calçoene, Marzagão e Oiapoque, com uma extensão territorial de 140.276 km².

Possui uma população de bovídeos estimada em 77.000 animais, quase que totalmente concentrada na costa litorânea, na região formada pelos campos limpos e cerrados (FIBGE, 1977).

3.5.1. Amostragem

Utilizou-se amostragem realizada pelo Ministério da Agricultura que referiu-se a 462 propriedades rurais e 54.734 bovídeos (39.274 bovinos e 15.460 bubalinos), distribuídos nos cinco municípios do Território.

O valor $n = 1.500$ (1.070 bovinos e 430 bubalinos) foi calculado conforme item 3.2.1.

3.5.2. Tamanho da amostra

Da amostra $n = 1.500$, sorteou-se 360 soros de bovinos e 142 de bubalinos.

3.5.3. Fração amostral

$$f_1 = \frac{360}{39.274} = \frac{1}{109}$$

$$f^2 = \frac{142}{15.460} = \frac{1}{109}$$

3.5.3. Estratificação

Foram constituídos três estratos geográficos (FIG. 4).

A TAB. VIII apresenta a distribuição da amostra por estratos de acordo com a distribuição relativa da população animal.

3.6. Prova sorológica

Para detecção de anticorpos precipitantes contra o vírus da Língua Azul foi utilizada a técnica de dupla difusão em ágar (DDA), segundo PEARSON & JOCHIM (1979).

O antígeno e o soro hiperimune utilizados foram fornecidos pelo National Veterinary Laboratory de Ames(USA).

A técnica consistiu na preparação de salina a 0,85% na qual dissolveu-se agarose na concentração final de 0,09%. Desta solução 15 ml foi colocado em placas de Petri de 90 x 15 mm. Uma vez solidificada a agarose, foram feitas cavidades de 4 mm de diâmetro, dispostas da seguinte forma: uma no centro e seis na periferia guardando simetria e medindo entre elas 2,4 mm. O antígeno foi colocado na cavidade central e o soro-controle em duas cavidades periféricas opostas (aproximadamente 0,6 ml em cada orifício). Nas quatro cavidades restantes colocou-se os soros a serem testados. As reações desenvolveram-se em ambiente úmido à temperatura ambiente. As leituras foram feitas 24 horas após terem sido colocados os reativos.

3.7. Análise dos dados

A análise estatística compreendeu o estudo das

diferenças nas proporções de reagentes para cada parâmetro, de acordo com o teste de χ^2 (SPIEGEL, 1977).

TABELA I - População bovina, número de propriedades e distribuição relativa segundo tamanho do rebanho nos estratos I, II e III. Território Federal de Roraima, 1978

Tamanho do rebanho	Número			Total				
	I População Propriedades	II População Propriedades	III População Propriedades	I População Propriedades	II População Propriedades	III População Propriedades	Total Número	
Até 299 bovinos	10.230	56	51	9.684	55.950	225	55.864	330
De 300 a 699	52.262	116	76	44.549	34.021	86	121.452	278
De 700 a 1099	20.472	25	24	21.417	15.010	16	54.899	65
Mais de 1100	42.455	29	21	35.686	24.488	17	100.629	67
TOTAL	125.419	226	172	99.356	106.069	542	550.824	740

TABELA II - Número de bovinos e propriedades selecionadas, por tamanho do rebanho, nos estratos I, II e III. Território Federal de Roraima, 1978

Tamanho do rebanho	I		II		III		Total Número	
	Número	Bovinos Propriedades	Número	Bovinos Propriedades	Número	Bovinos Propriedades		
Até 299 bovinos	50	5	40	4	150	15	240	24
De 300 a 699	240	24	160	16	160	15	560	56
De 700 a 1099	90	9	100	10	60	7	250	25
Mais de 1100	190	19	150	15	110	11	450	45
TOTAL	570	57	450	45	480	48	1500	150

TABELA III - População total e da amostra e número de animais selecionados por idade e tamanho do rebanho nos estratos I, II e III. Território Federal de Roraima, 1978

Estratos	Tamanho do rebanho	Total	População				Total
			Amostra				
			Intervalos de idade (em meses)				
4-12	13-24	Mais de 24					
I	Até 299	10.250	10	10	50	50	
	300-699	52.262	48	48	144	240	
	700-1099	20.472	18	18	54	90	
	Mais de 1100	42.455	38	38	114	190	
SUB-TOTAL		125.419	114	114	342	570	
II	Até 299	9.684	8	8	24	40	
	300-699	54.549	52	52	96	160	
	700-1099	21.417	20	20	60	100	
	Mais de 1100	55.686	50	50	90	150	
SUB-TOTAL		99.556	90	90	270	450	
III	Até 299	55.950	50	50	90	150	
	300-699	54.621	52	52	96	160	
	700-1099	15.010	12	12	56	60	
	Mais de 110	24.488	22	22	66	110	
SUB-TOTAL		106.069	96	96	288	480	
TOTAL		550.824	500	500	900	1500	

TABELA IV - Distribuição da população bovina e das propriedades rurais nas micro-regiões, Estado do Amazonas, 1978

Micro-regiões	Bovinos *		Propriedades	
	Nº	%	Nº	%
024	1.525	3,5	114	2,7
026	1.332	3,1	307	7,3
027	37.848	88,0	3.393	80,7
TOTAL	40.705	94,6	3.814	90,7

* Refere-se à população de fêmeas acima de 30 meses

TABELA V - População bovina, propriedades rurais e distribuição da amostra nos estratos. Estado do Amazonas, 1978

Estratos	População		Propriedades	
	Total	Amostra	Total	Amostra
I	1.525	15	114	5
II	37.848	330	3.393	110
III	1.332	15	307	5
TOTAL	40.705	360	3.814	120

TABELA VI - Distribuição da população bovina e das propriedades rurais nas micro-regiões. Estado do Pará, 1978

Micro-regiões	Bovinos*		Propriedades	
	Nº	%	Nº	%
041	46.552	13,3	2.026	31,2
043	23.792	6,8	344	5,3
046	161.727	46,4	866	13,3
048	22.456	6,4	496	7,6
049	25.044	7,2	526	8,1
051	55.827	16,1	926	14,3
TOTAL	335.398	96,2	5.184	79,6

* Refere-se à população de fêmeas acima de 30 meses

TABELA VII - População bovina, propriedades rurais e distribuição da amostra por estratos, Estado do Pará, 1978

Estratos	População		Propriedades	
	Total	Amostra	Total	Amostra
I	103.327	110	1.948	55
II	70.344	80	2.370	40
III	161.727	170	866	85
TOTAL	335.398	360	5.184	180

TABELA VIII - População total da amostra de animais selecionados, por espécie, nos estratos I, II e III. Território Federal do Amapá, 1978

Estratos	Bovinos		Bubalinos	
	Total	Amostra	Total	Amostra
I	21.700	200	7.688	67
II	10.622	100	6.936	66
III	6.952	60	856	9
TOTAL	39.274	360	15.460	142

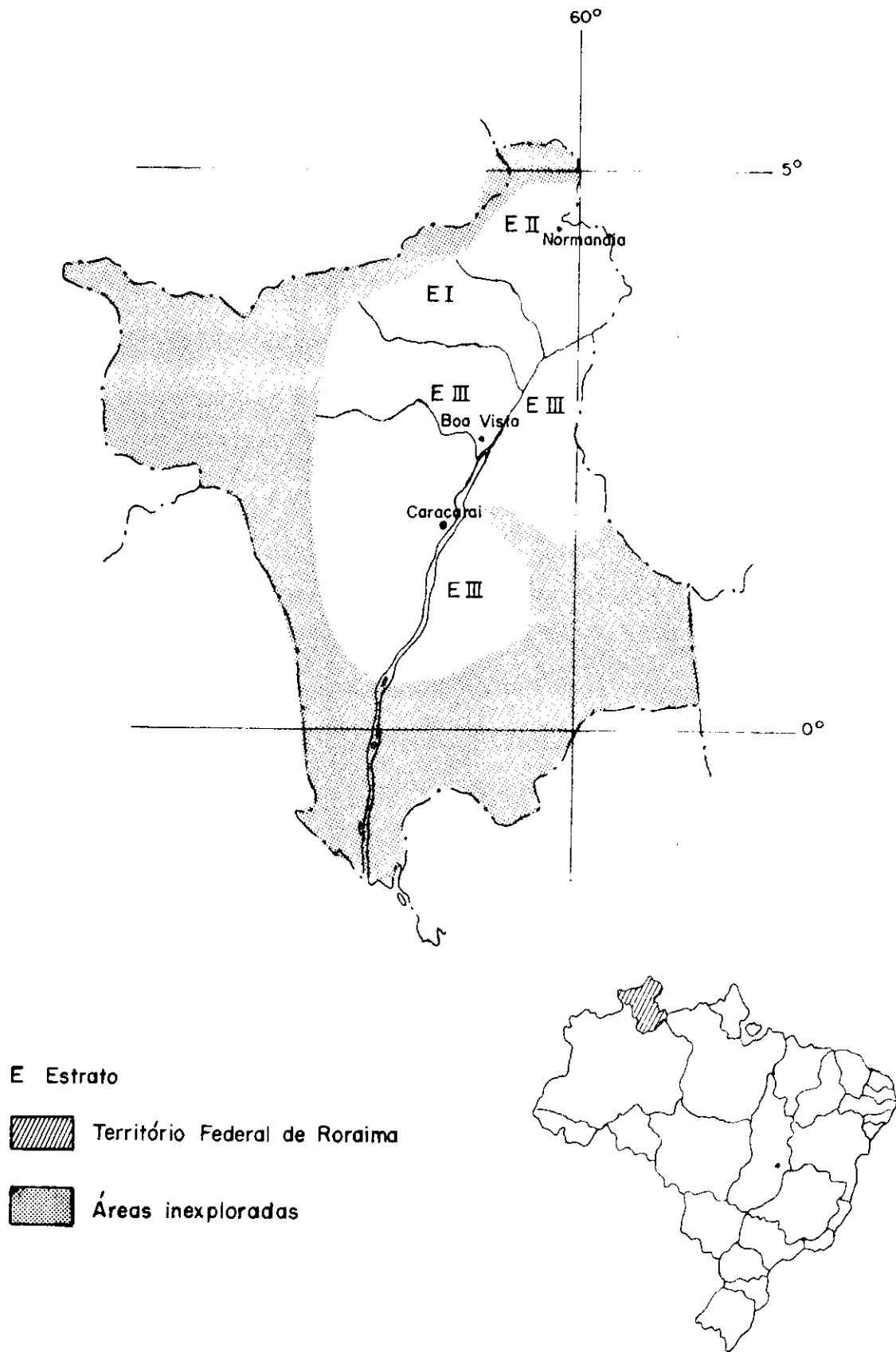


Fig. 1 - Caracterização dos estratos estudados no Território Federal de Roraima :

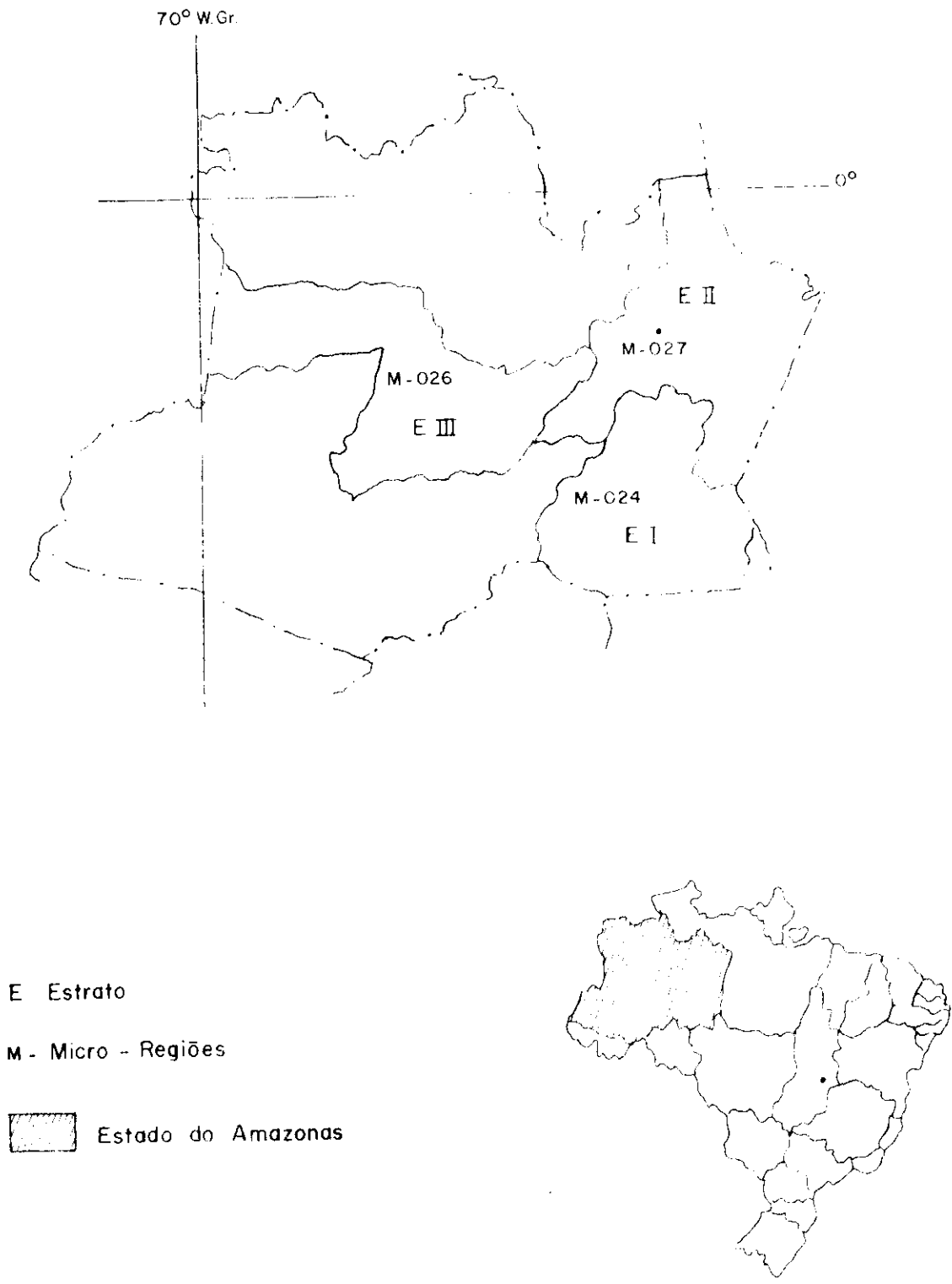


Fig. 2 - Caracterização dos estratos estudados no Estado do Amazonas.

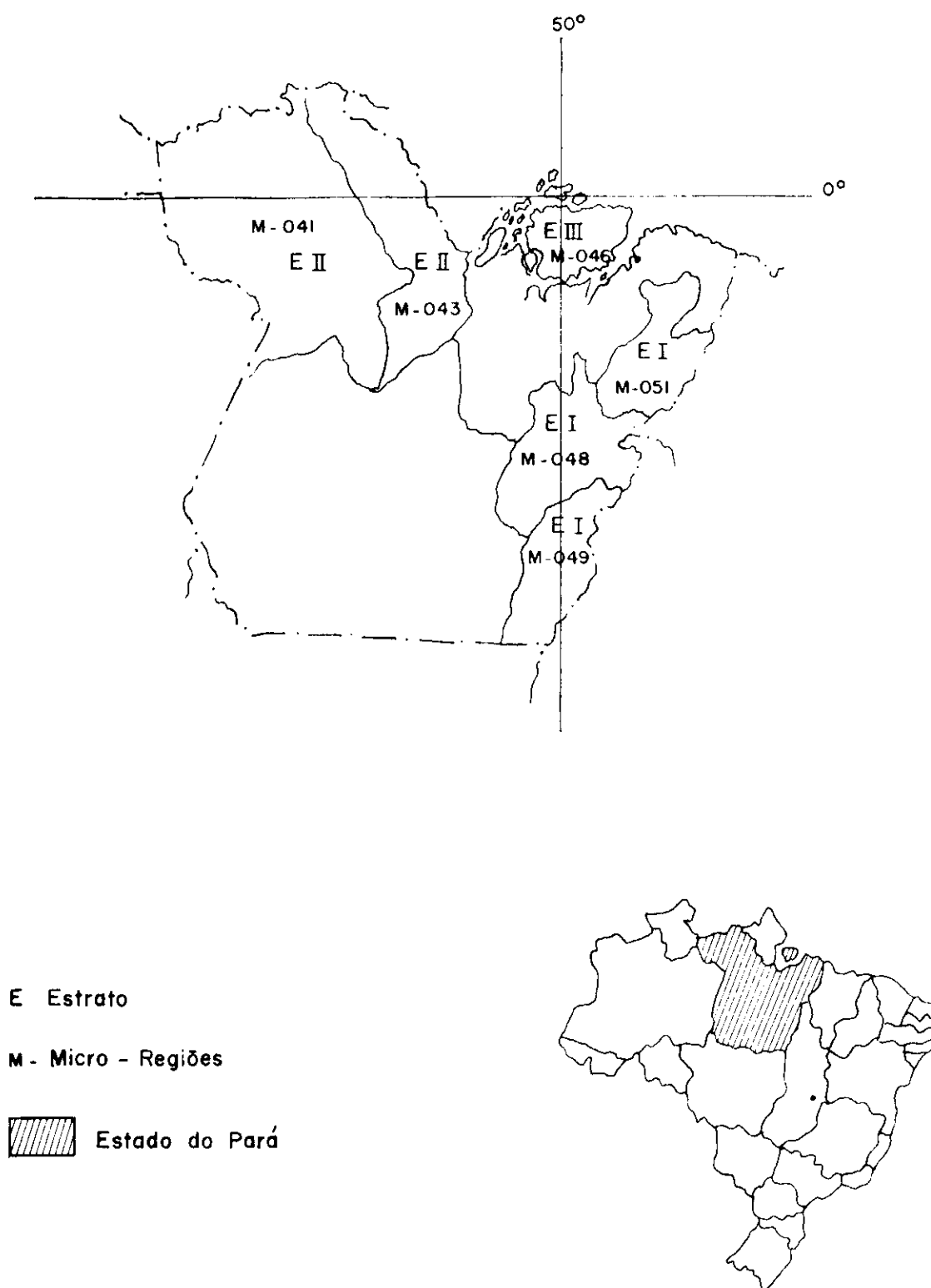


Fig. 3 - Caracterização dos estratos estudados no Estado do Pará.

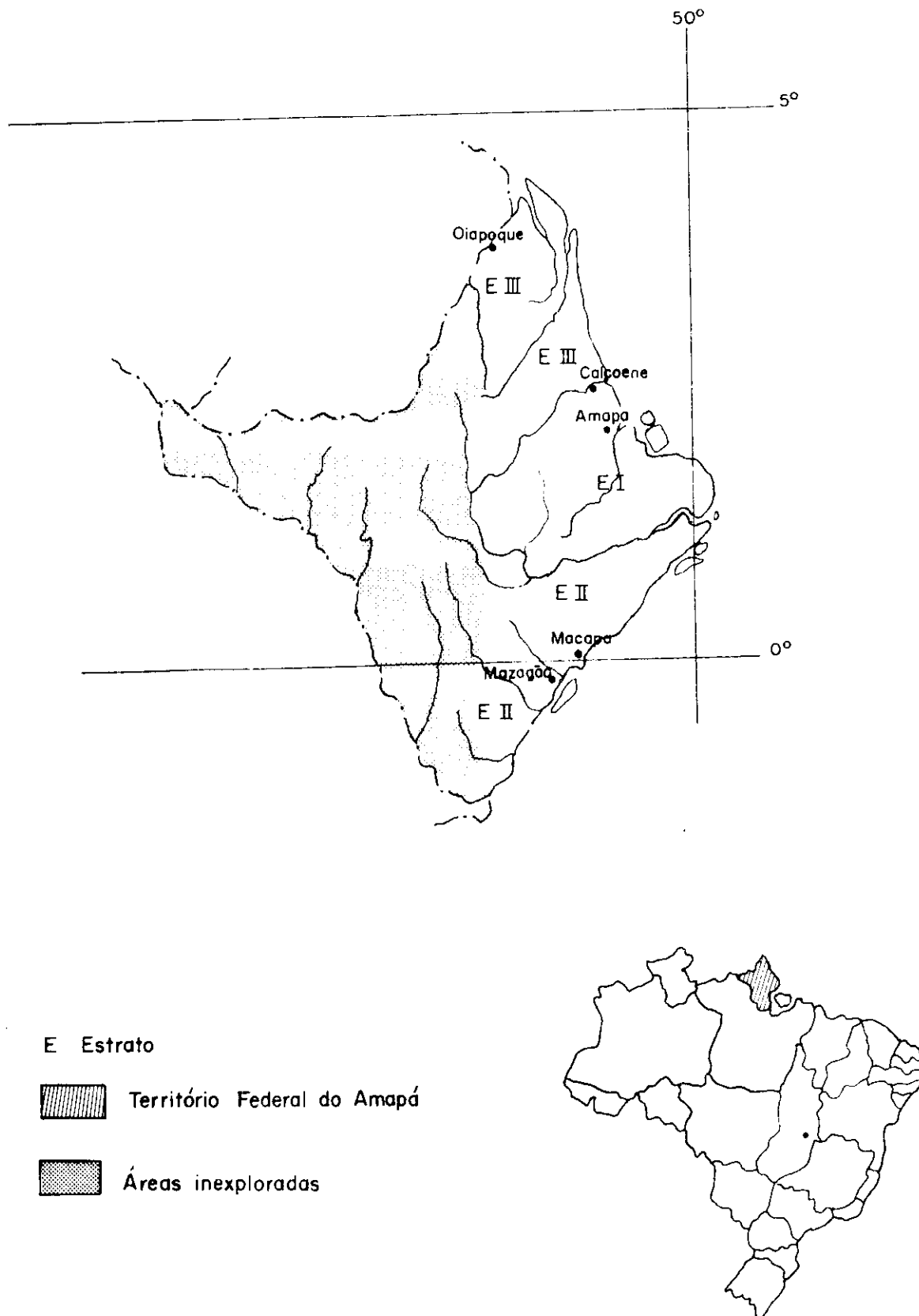


Fig. 4 - Caracterização dos estratos estudados no Território Federal do Amapá.

1. RESULTADOS

1.1. Território Federal de Roraima

Das 150 propriedades examinadas, constatou-se a presença de bovinos reagentes à prova de DDA para Língua Azul em 80, o que resulta uma taxa de $53,3\% \pm 7,9$, com um limite de confiança de 95%. No estrato III verificou-se a mais alta porcentagem de propriedades com animais reagentes ($77,0\% \pm 11,91$); os estratos I e II apresentaram, respectivamente, as porcentagens de $52,6\% \pm 12,9$ e $28,8\% \pm 13,1$. A prevalência nos 1172 animais testados foi de 15,9, situando-se a taxa populacional entre 11,1 e 17,7%, com 95% de confiança. A menor taxa foi verificada no estrato II com $4,5\% \pm 1,9$; no estratos I e III as taxas foram de $18,8\% \pm 5,3$ e $25,5\% \pm 5,8$, respectivamente. A diferença entre as taxas nos três estratos foi estatisticamente significativa ($P = 0,014$). Entre os estratos I e III não houve diferença significativa ($P = 0,05$) (TAB. IX).

Os resultados obtidos nos três estratos agrupados, de acordo com o tamanho do rebanho, são apresentados na TAB. X. A maior taxa foi verificada no grupo de propriedades com até 299 bovinos. A taxa de prevalência para esta variável foi ligeiramente superior no mesmo grupo, porém, a diferença não foi estatisticamente significativa ($P = 0,05$).

A TAB. XI apresenta os resultados da pesquisa de

anticorpos contra o vírus da Língua Azul, entre os estratos, segundo a faixa etária. Pode-se observar maior prevalência de infecção nos bovinos com idade superior a 24 meses, nos três estratos. A taxa de reagentes entre os animais na faixa de 13 a 24 meses foi superior aos animais na faixa de quatro a 12 meses.

Estes dados podem ser ainda observados na TAB. XII, que mostra os três estratos agrupados, de acordo com a faixa etária. As taxas das faixas etárias apresentam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$).

4.2. Estados do Amazonas e Pará

Dos 360 soros testados em cada Estado, 92 e 117 foram positivos à prova de DDA para Língua Azul, nos Estados do Amazonas e Pará, o que resultou, respectivamente, em uma prevalência de $25,5\% \pm 4,8$ e $32,5\% \pm 4,8$ com 95% de confiança (TAB. XIII e XIV).

4.3. Território Federal do Amapá

Foram examinados 360 soros de bovinos e 141 de bubalinos. A prevalência de bovinos e bubalinos reagentes à prova de DDA foi, respectivamente, $21,3 \pm 4,2\%$ e $19,5 \pm 6,5$. A prevalência da infecção em bovinos mostrou-se superior a dos bubalinos, entretanto, esta diferença não foi estatisticamente significativa.

TABELA IX - Número de propriedades e bovinos reagentes à prova de DDA para Língua Azul, por estratos. Território Federal de Roraima, 1978

Estratos	Propriedades						Bovinos		
	Nº		%		Nº		%		Intervalo de confiança = 95%
	Examinados	Reagentes	Intervalo de confiança = 95%	Examinados	Reagentes	Examinados	Reagentes		
I	57	50	52,6 ± 12,9	554	104	18,8 ± 5,5			
II	45	13	28,8 ± 13,1	446	20	4,5 ± 1,9			
III	48	57	77,0 ± 11,9	472	110	23,5 ± 3,8			
TOTAL	150	80	53,3 ± 7,9	1.472	254	15,9 ± 1,8			

TABELA X - Número de propriedades e bovinos reagentes à prova de DDA para Língua Azul, segundo o tamanho do rebanho. Território Federal de Roraima, 1978

Tamanho do rebanho	Propriedades						Bovinos		
	Nº		%		Nº		%		
	Examinados	Positivos	Intervalo de confiança = 95%	Intervalo de confiança = 95%	Examinados	Positivos	Intervalo de confiança = 95%	Intervalo de confiança = 95%	
Até 299	24	17	70,8 ± 18,1		255	41	17,4 ± 4,8		
300 - 699	56	31	55,3 ± 13,0		546	86	15,7 ± 3,0		
700-1099	25	12	48,0 ± 19,5		245	40	16,3 ± 4,6		
>1100	45	20	44,4 ± 14,5		446	67	15,0 ± 5,5		
TOTAL	150	80	53,3 ± 7,9		1.472	234	15,9 ± 1,8		

TABELA XI - Bovinos reagentes à prova de DDA para Língua Azul, de acordo com a idade e os estratos. Território Federal de Roraima, 1978

Estratos	Idade (meses)	Bovinos		
		Examinados	Reagentes	%
I	4 — 12	117	12	10,3
	13 — 24	114	15	13,2
	> 24	323	77	23,8
	SUB-TOTAL	554	104	18,8
II	4 — 12	95	1	1,1
	13 — 24	85	3	3,5
	> 24	268	16	6,0
	SUB-TOTAL	446	20	4,5
III	4 — 12	103	10	9,7
	13 — 24	86	17	19,8
	> 24	283	85	29,5
	SUB-TOTAL	472	110	23,5
	TOTAL	1.472	234	15,9

TABELA XII - Bovinos reagentes à prova de DDA para Língua Azul, de acordo com a idade. Território Federal de Roraima, 1978

Idade (meses)	Bovinos		
	Nº		%
	Examinados	Positivos	Intervalo de confiança = 95%
4 — 12	313	23	7,3 ± 2,9
13 — 24	285	35	12,3 ± 3,8
> 24	875	176	20,1 ± 3,6
TOTAL	1.472	234	15,9 ± 1,8

TABELA XIII - Número de bovinos reagentes à prova de BDA para Língua Azul, por estratos. Estado do Amazonas, 1978

Estratos	Bovinos		
	Nº		%
	Examinados	Positivos	Intervalo de confiança = 95%
I	15	7	46,6 + 25,2
II	330	80	24,2 + 4,6
III	15	5	33,3 + 23,8
TOTAL	360	92	25,5 + 4,5

TABELA XIV - Número de bovinos reagentes à prova de DDA para Língua Azul, por estratos. Estado do Paraná, 1978

Estratos	Bovinos		
	Nº		%
	Examinados	Positivos	Intervalo de confiança = 95%
I	110	55	50,0 ± 9,3
II	80	15	18,7 ± 8,5
III	170	47	27,6 ± 7,5
TOTAL	360	117	32,5 ± 4,8

TABELA XV - Número de bovinos e bubalinos reagentes à prova de DDA para Língua Azul, por estratos. Território Federal do Amapá, 1978

Estratos	Bovinos				Bubalinos			
	Nº		%		Nº		%	
	Examinados	Positivos	Intervalo de confiança = 95%	Intervalo de confiança = 95%	Examinados	Positivos	Intervalo de confiança = 95%	Intervalo de confiança = 95%
I	200	45	22.5 ± 5,8	67	14	20,8 ± 9,7		
II	100	25	25.0 ± 8,5	65	15	20,0 ± 9,7		
III	60	7	11.6 ± 8,1	9	1	11,1 ± 20,5		
TOTAL	560	77	21.5 ± 4,2	141	28	19,5 ± 6,5		

5. DISCUSSÃO

A prevalência da infecção no Território Federal de Roraima foi de 15,9%, sendo esta taxa indicativa que a infecção, pelo vírus da Língua Azul, está disseminada no Território, principalmente nas áreas que correspondem aos estratos I e III, onde foram encontradas taxas de 18,8% e 23,3%, respectivamente.

A diferença observada nas prevalências entre os três estratos foi estatisticamente significativa; entretanto, um estudo de comparação entre as taxas dos estratos I e III não revelou diferenças significativas.

A prevalência encontrada no estrato II apresenta uma grande diferença com relação aos demais estratos, o que talvez pudesse ser atribuído à introdução, no ano anterior à colheita das amostras para este trabalho, de um grande número de bovinos entre 12 e 24 meses de idade, que foram deslocados preferentemente para esta região e, talvez oriundos de regiões livres, uma vez que não existem diferenças marcantes entre os aspectos físicos, ocorrência de pequenos mosquitos hematófagos, conhecidos na região como maruins e possíveis vetores e práticas de manejo na criação de bovinos, entre os estratos II e III.

A porcentagem de reagentes, distribuídos de acordo com a faixa etária (TAB. XI e XII), demonstra maior prevalência da infecção em bovinos acima de 24 meses de idade. Este resultado discorda dos observados por SIMPSON (1979) em que a taxa de infecção declinava com o aumento da idade, entretanto, os resultados obtidos por COACKLEY et alii (1980) e METCALF et alii (1980) foram bem similares aos encontrados neste trabalho. Isto se explicaria pela maior probabilidade de exposição aos vetores. O tamanho do rebanho não influenciou na taxa de infecção.

As elevadas porcentagens de reagentes à Língua Azul, verificadas nos Estados do Amazonas, Pará e Território Federal do Amapá confirmam a disseminação da infecção em bovinos e bubalinos no norte do País.

As altas taxas de infecção encontradas nos Estados do Amazonas e Pará podem ser atribuídas ao fato de que nestes Estados só foram testados animais adultos, pois a amostragem foi feita no efetivo de fêmeas bovinas acima de 30 meses de idade. Estas prevalências vêm confirmar a observação no Território Federal de Roraima, onde a maior taxa de reagentes foi verificada nos animais com idade acima de 24 meses.

Com relação às altas taxas de infecção verificadas nas regiões de Paragominas e Campos de Marajó, respectivamente, nos estratos I e III do Estado do Pará, onde encontram-se as maiores concentrações pecuárias do Estado. Para estas regiões, tem havido um grande afluxo de bovinos oriundos principalmente da região Sudeste onde já foi diagnosticada a infecção pelo vírus da Língua Azul (SILVA, 1978; MOREIRA et alii, 1980; REPORT, 1980). Nestas regiões, de exploração pecuária recente, tem havido um grande desmatamento para formação de pastagens e, como consequência, um aumento da população de mosquitos. Nestas populações podem estar incluídos os vetores do vírus da Língua Azul pois, várias espécies de *Culicoides* já foram identificadas nos Estados do Amazonas e Pará (WIRTH & BLANTON, 1973).

Apesar dos altos índices de infecção por Língua Azul, verificados neste trabalho, em quatro grandes unidades da Região Norte do Brasil, não existem suspeitas ou notificações de doença clínica naquelas áreas. Isto se explicaria pela deficiência das notificações sobre doenças animais na região, por infecções inaparentes e a sintomatologia clínica ser semelhante a outras doenças (LUEDKE et alii, 1969; McKERCHER et alii, 1970; LUEDKE et alii, 1977). Outra possibilidade seria a ocorrência de reações sorológicas cruzadas com doenças transmitidas por artropodes (FAO, 1979). Entretanto, a existência de reações cruzadas não foram verificadas por METCALF & JOCHIM (1970) e BORDEN et alii (1971).

A prova de DDA, utilizada neste trabalho, tem sido eficiente e de fácil execução para detectar animais portadores de infecção (THOMAS et alii, 1976; LUEDKE et alii, 1977; PEARSON & JOCHIM, 1979).

As recomendações da FAO/OIE (1961) aos países indenes, nas importações de bovinos, ovinos, caprinos e sêmen procedentes de países afetados pela Língua Azul, não são praticadas no Brasil. Essas importações são um dos prováveis fatores que explicariam a introdução da doença no País (KENNEDY, 1968; SELLERS et alii, 1979).

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

1) a infecção pelo vírus de Língua Azul está amplamente disseminada nas unidades estudadas da Região Norte do Brasil;

2) os bovinos adultos, acima de 24 meses, apresentam maiores taxas de infecção;

3) o tamanho do rebanho não interfere na taxa de infecção pelo vírus da Língua Azul;

4) as altas taxas de infecção encontradas nas regiões de maiores concentrações de pecuária no Estado do Pará podem estar relacionadas à movimentação de bovinos para essas áreas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BORDEN, E.C.; SHOPE, R.E.; MURPHY, F.A. Physicochemical and morphological relationships of some arthropod - borne viruses to bluetongue virus - A new taxomic group. Physicochemical and serologic studies. J. Gen. Virol., London, 13:261-71, 1971.
2. BOULANGER, P. & FRANK, J.F. Serological methods in the diagnosis of bluetongue. Austr. Vet. J., Brunswick, 51:185-90, 1975.
3. CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS, Ramos Mejia. Procedimientos para estudios de prevalencia por muestro. Ramos Mejia, Buenos Aires, 1979. 35p. (Nota técnica, 18, Rev. 1).
4. COACKLEY, W.; SMITH, V.W.; MAKER, D. A serological survey for bluetongue virus antibody in western Australia. Austr. Vet. J., Brunswick, 56:487-91, 1980.
5. FAO/OIE. Conférence sur les maladies epizootiques d'actualité ou d'avenir. Bull. Off. Int. Epizoot., Paris, 55:1290-301, 1961.

6. FAO. The present position of bluetongue virus in Australia. World Anim. Rev., Roma, 22:49-50, 1979.
7. FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Rio de Janeiro. Geografia do Brasil, Região Norte, Rio de Janeiro, 1977. 466p.
8. JOCHIM, M.M. & CHOW, T.L. Immunodiffusion of bluetongue virus. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 30:33-41, 1969.
9. KENNEDY, P.C. Some aspects of bluetongue in the United States. Austr. Vet. J., Brunswick, 44:191-4, 1968.
10. LUEDKE, A.J.; JOCHIM, M.M.; JONES, R.H. Bluetongue in cattle: Viremia. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 30:511-6, 1969.
11. LUEDKE, A.J.; JOCHIM, M.M.; JONES, R.H. Bluetongue in cattle: Effects of *Culicoides variipennis* - transmitted bluetongue virus on pregnant heifers and their calves. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 38:1687-95, 1977.
12. MCKERCHER, D.G.; SAITO, J.K.; SINGH, K.V. Serologic evidence of an etiologic role for bluetongue virus in hydranencephaly of calves. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 156:1044-7, 1970.
13. METCALF, H.E. & JOCHIM, M.M. Bluetongue in cattle: Efficacy of the agar gel precipitin test. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 31:1743-9, 1970.
14. METCALF, H.E.; LOMME, J.; BEAL, V.C. Estimate of incidence and direct economic losses due to bluetongue in Mississippi cattle during 1979. Anim. Health Assoc., Louisville, 84:186-292, 1980.
15. MOREIRA, E.C.; SILVA, J.A.; VIANA, F.C.; LETTE, R.C. Teste de imunodifusão para Língua Azul em bovinos de alguns municípios do Brasil. In: ENCONTRO DE PESQUISA DA ESCO-

LA DE VETERINÁRIA DA UFMG, 9. Belo Horizonte. Núcleo de Assessoramento à Pesquisa, 1980. p.83.

16. PARSONSON, I.M.; DELLA-PORTA, A.J.; McPHEEE, D.A. Isolation of bluetongue virus serotype 20 from the semen of an experimentally-infected bull. Austr. Vet. J., Brunswick, 57:252-3, 1981.
17. PEARSON, J.E. & JOCHIM, M.M. Protocol of the immunodiffusion test for bluetongue. Separata de AMERICAN ASSOCIATION VETERINARY DIAGNOSTICIANS, 22. Annual Proceedings, 463-71, 1979.
18. REPORT of bluetongue-bovine leukosis committee. Proc. U.S. Anim. Health Assoc., Louisville. 84:215-9, 1980.
19. SELLERS, R.F.; GIBBS, E.P.J.; HERNIMAN, K.A.J. Possible origin of the bluetongue epidemic in Cyprus, august, 1977. J. Hyg., London, 83:547-55, 1979.
20. SILVA, F.J.F. Relatório sobre estudos de ocorrência de Língua Azul em São Paulo. Brasília, 1978. (Trabalho não publicado, Relatório da comissão de estudos - Ministério da Agricultura, Port. Min. nº 150 de 13 fev. 1978).
21. SIMPSON, V.R. Bluetongue antibody in Botswana's domestic and game animals. Trop. Anim. Health Prod., Edinburg, 11:43-9, 1979.
22. SPIEGEL, M.R. O teste do qui-quadrado. In: Estatística. 13^a ed., São Paulo, McGraw Hill eds., 1977. p. 351-61.
23. THOMAS, F.C.; GIRARD, A.; BOULANGER, P.; RUCKERBAUER, G. A comparison of some serological tests for bluetongue virus infection. Can. J. Comp. Med., Ottawa, 40-291-7, 1976.

24. WIRTH, W.W. & BLANTON, F.S. A review of the maruins or biting midges of the genus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in the Amazon Basin. Amazoniana, 4:405-70, 1975.