

Ermilton Junio Pereira de Freitas

Características epidemiológicas da infecção de bovinos jovens de corte, em rebanhos com alto trânsito animal, para BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. no Estado do Maranhão

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência animal.

Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann

Coorientadores: Prof. Dr. Andrey Pereira Lage

Prof. Dr. Helder de Mores Pereira

Belo Horizonte - MG

2016

F866c Freitas, Ermilton Junio Pereira de, 1984-
Características epidemiológicas da infecção de bovinos jovens de corte, em rebanhos com alto trânsito animal, para BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. no Estado do Maranhão / Ermilton Junio Pereira de Freitas. – 2016.
72 p. : il.

Orientador: Marcos Bryan Heinemann

Coorientadores: Andrey Pereira Lage, Helder de Moraes Pereira

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1. Bovino de corte – Doenças – Teses. 2. *Leptospira* – Teses. 3. Leptospirose em Animais – Teses. 4. Sorologia – Teses. I. Heinemann, Marcos Bryan. II. Lage, Andrey Pereira. III. Pereira, Helder de Moraes. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

CDD – 636.208 089 6

FOLHA DE APROVAÇÃO

ERMILTON JÚNIO PEREIRA DE FREITAS

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração em MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA.

Aprovada em 25 de Fevereiro de 2016, pela banca constituída pelos membros:

Prof. Marcos Bryan Heinemann

Prof. Marcos Bryan Heinemann
Presidente - Orientador

Prof. Amauri Alcindo Alfieri

Prof. Amauri Alcindo Alfieri
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Hamilton Pereira Santos

Prof. Hamilton Pereira Santos
Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Prof. Alessandro de Sá Guimarães

Prof. Alessandro de Sá Guimarães
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Profª. Danielle Ferreira de Magalhães Soares

Profª. Danielle Ferreira de Magalhães Soares
Escola de Veterinária- UFMG



Aos meus pais, Ermilto Gomes de Freitas
e Maria do Rosário Pereira de Freitas; e
minha avó Iraci Gomes de Freitas (in memorian) e
meu padrinho Ernandes José Gomes de Freitas (in memorian)
com muito amor.

*“Temos o destino que merecemos.
O nosso destino está de acordo com os nossos méritos.”*

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me abençoado durante essa trajetória de quatro anos, longe de casa, de familiares, sempre me passando paciência, conforto e fé.

A minha família, representada pelo meu pai, Ermilto Gomes de Freitas, minha mãe, Maria do Rosário Pereira de Freitas e meu irmão, Amauri Pereira de Freitas, por todo carinho, atenção, amor e incentivo.

A Universidade Federal de Minas Gerais, por contribuir na minha formação, oferecendo toda a estrutura física e material humano da melhor qualidade.

Ao meu Orientador Professor Marcos Bryan Heinemann, pela confiança, por ter me aceitado mesmo sem nunca ter me visto antes, por acreditar em mim, pelos ótimos conselhos, incentivos, e acima de tudo, pelo grande amigo que consegui conquistar nesse período por aqui, jamais irei esquecer do senhor, espero que possamos continuar andando juntos em futuras parcerias, deixo meus sinceros agradecimentos.

Ao Professor Andrey Pereira Lage, por ter me recebido no Laboratório de Bacteriologia Aplicada (LBA), por ter suprido a ausência física do meu orientador, quando o mesmo precisou ir embora, por ter sido um grande orientador, serei eternamente grato.

A todos os professores da Escola de Veterinária da UFMG, pela contribuição na minha formação, em especial aos professores do departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP).

A todos os funcionários do DMVP, em especial ao Eduardo, Agda Leite e Grazielle Cossenzo, que contribuíram diretamente para a execução deste trabalho.

Ao curso de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual do Maranhão, nas pessoas do Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira e Prof. Dr. Hamilton Pereira Santos, por terem cedido as amostras de soro sanguíneo de bovinos para a realização do presente trabalho.

A Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão responsável pela coleta das amostras do presente trabalho, bem como de alguns dados de questionário.

Ao laboratório de Virologia Animal (EV-UFMG), na pessoa da Profa. Dra. Zélia Inês Portela Lobato, por ter nos cedido o antígeno para realização da sorologia para o vírus da Língua Azul.

Ao laboratório Epiplan, da Universidade de Brasília, na pessoa do Prof. Dr. Vitor Salvador Picão Gonçalves, no auxílio das análises estatísticas do presente trabalho, os mesmos agradecimentos seguem para Flávio Pereira Veloso e Ana Lourdes Arrais de Alencar Mota.

Ao laboratório de Virologia Animal, da Universidade Estadual de Londrina, na pessoa do Prof. Dr. Amauri Alcindo Alfieri e Juliana Torres Tomazi Fritzen, pelo auxílio na realização da sorologia para o BVDV.

Ao laboratório de Zoonoses Bacterianas, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann, pelo auxílio na realização da sorologia para *Leptospira* spp.

A prof. Dra Érica Azevedo Costa, por ter me direcionado quando cheguei na UFMG para cumprir uma parte do meu mestrado, na época ainda pela Universidade Estadual do Maranhão, por ter me indicado o prof. Marcos Bryan como orientador, você realmente me indicou o melhor orientador que eu poderia ter aqui na UFMG, serei eternamente grato por tudo que você fez por mim!

A minha namorada Aline Brandão, pelo companheirismo e força nos meses finais de Belo Horizonte, fizeram total diferença para poder chegar até aqui.

Aos meus grandes amigos Conrado de Oliveira Gamba e Nelsa Alves de Moraes, excelentes companheiros de moradia, minha família aqui em Belo Horizonte, muito obrigado por tudo!

Aos grandes amigos que ganhei aqui, João Helder Naves, Cairo Henrique de Oliveira, Lorena Rocha, Karine Damasceno, Ana Paula e Givanildo Silva; e as amigas já existentes e agora mais consolidadas do Auricélio Macedo e Ana Patrícia, vou sentir muita falta de vocês!

A minha amiga de todas as horas Mayra da Silva Oliveira, que foi uma grande parceira nesses últimos dois anos, sempre me ouvindo, sua amizade fez total diferença nesse período aqui.

A família LBA, formada por Elaine Maria Seles Dorneles, Telma Maria Alves, Dionei Joaquim Haas, Jamili Suhel, Ethiene Luiza, Fernanda Coura, Luciana Pimenta, Andréa, Jonata Barbieri, Carolina Pantuzza e Luciana Oliveira. Aprendi muito com todos!

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa para pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1. Introdução	16
2. Hipótese.....	18
3. Objetivos	18
3.1 Geral.....	18
3.2 Específicos	18
4. Revisão de Literatura	19
4.1 Estado do Maranhão.....	19
4.2 Herpesvírus vírus bovino 1 (BoHV-1)	19
4.3 Vírus da diarreia viral bovina (BVDV).....	21
4.4 Vírus da língua azul.....	23
4.5 <i>Leptospira</i> spp.....	25
5. Material e Métodos	27
5.1 Planejamento do estudo.....	27
5.1.1 Fonte dos dados.....	27
5.1.2 Desenho experimental	28
5.2 Sorologia e análise das Amostras.....	30
5.3 Cálculo da prevalência para o BoHV-1, BVDV, BTV e <i>Leptospira</i> spp.....	31
5.4 Frequência de anticorpos contra o BoHV-1, BVDV, BTV e <i>Leptospira</i> spp. em animais.....	32
5.5 Análise de associação entre as variáveis coletadas com a infecção pelo BoHV-1, BVDV, BTV e <i>Leptospira</i> spp.	32
5.6 Estudo da distribuição espacial dos rebanhos positivos para o BoHV-1, BVDV, BTV e <i>Leptospira</i> spp.....	32
6. Resultados e Discussão	33
6.1 Herpesvírus Bovino 1 (BoHV-1), Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), Vírus da Língua Azul (BTV) e <i>Leptospira</i> spp. em rebanhos bovinos de corte.....	33
6.1.1 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência de animais infectados pelo BoHV-1	33
6.1.2 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência de animais infectados pelo BVDV	35
6.1.3 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência de animais infectados pelo BTV.....	37
6.1.4 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência de animais infectados por <i>Leptospira</i> spp.....	38
6.1.4.1 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência nos animais infectados por sorovariedades de <i>Leptospira</i> spp.....	40
6.2 Prevalência de rebanhos bovinos de corte, infectados pelo BoHV-1 e BVDV com base no título de anticorpos.....	42
6.3 Análises de associação entre variáveis associadas à infecção.....	42
6.3.1 Presença de outras espécies domésticas	42
6.3.2 Tamanho de rebanho	44
6.3.3 Idade.....	49
6.3.4 Análise de Correspondência Múltipla - ACM.....	51

6.4 Distribuição espacial dos rebanhos positivos para o BoHV-1, BVDV, BTV e <i>Leptospira</i> spp.	53
7. Conclusões	56
8. Considerações Finais.....	57
9. Referências Bibliográficas	58
10. ANEXO – Formulário de Visita Prévia	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequência de anticorpos contra o BoHV-1 em bovinos no Brasil, 1995-2014	21
Tabela 2 – Frequência de anticorpos contra o BVDV em bovinos no Brasil, 1987-2013	23
Tabela 3 – Frequência de anticorpos contra o BTV em bovinos no Brasil, 2000-2012.....	25
Tabela 4 – Frequência de anticorpos contra a <i>Leptospira</i> spp. em bovinos no Brasil, 1999-2014	27
Tabela 5 - Sorovariedades de <i>Leptospira</i> spp. utilizadas como antígeno para técnica de soroaglutinação microscópica	31
Tabela 6 – Prevalência de rebanhos positivos para o BoHV-1, em função da presença ou ausência de outras espécies domésticas, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	43
Tabela 7 – Prevalência de rebanhos positivos para o BVDV, em função da presença ou ausência de outras espécies domésticas, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	44
Tabela 8 – Prevalência de rebanhos positivos para <i>Leptospira</i> spp., em função da presença ou ausência de outras espécies domésticas, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	44
Tabela 9 – Prevalência de rebanhos positivos para o BoHV-1, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	45
Tabela 10 – Prevalência de rebanhos positivos para o BoHV-1, de acordo com os títulos de anticorpos, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	45
Tabela 11 – Prevalência de rebanhos positivos para o BVDV, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	46
Tabela 12 – Prevalência de rebanhos positivos para o BVDV, de acordo com os títulos de anticorpos, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	46
Tabela 13 – Prevalência de rebanhos positivos para <i>Leptospira</i> spp., em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	47
Tabela 14 – Prevalência de rebanhos positivos para <i>Leptospira</i> sorovariedade Wolffi, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012	47
Tabela 15 – Prevalência de rebanhos positivos para <i>Leptospira</i> sorovariedade Hebdomadis, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	47
Tabela 16 – Prevalência de rebanhos positivos para <i>Leptospira</i> sorovariedade Australis, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	48
Tabela 17 – Prevalência de rebanhos positivos para <i>Leptospira</i> sorogrupo Serjoe, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012	48
Tabela 18 – Frequência de animais soropositivos para o BoHV-1, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012	49

Tabela 19 – Frequência de animais soropositivos para o BoHV-1, de acordo com os títulos de anticorpos, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	49
Tabela 20 – Frequência de animais soropositivos para o BVDV, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012	50
Tabela 21 – Frequência de animais soropositivos para o BVDV, de acordo com os títulos de anticorpos, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	50
Tabela 22 – Frequência de animais soropositivos para o BTV, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.....	50
Tabela 23 – Frequência de animais soropositivos para <i>Leptospira</i> spp., em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012	50
Tabela 24 – Frequência de animais soropositivos para <i>Leptospira</i> sorovariedade Wolffi, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012	51
Tabela 25 – Frequência de animais soropositivos para <i>Leptospira</i> sorogrupo Serjoe, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição da população de estudo e reamostragem dos rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.	30
Figura 2 – Distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BoHV-1, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.	35
Figura 3 – Distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BVDV, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.	36
Figura 4 – Distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BTV, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.	38
Figura 5 – Distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para <i>Leptospira</i> spp., em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.	39
Figura 6 – Gráfico resultante da análise correspondência múltipla (ACM), contendo distribuições das variáveis relacionadas a rebanhos positivos e negativos para o BoHV-1, BVDV e <i>Leptospirose</i> spp.; e tamanho de rebanho, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.	52
Figura 7 – Distribuição espacial dos rebanhos de estudo (Figura 7.1), rebanhos positivos e negativos para o BoHV-1 (Figura 7.2), BVDV (Figura 7.3), BTV (Figura 7.4), <i>Leptospira</i> spp. (Figura 7.5) e sorovariedade Wolffi (Figura 7.6), em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.	54
Figura 8 – Diferença entre os valores da função <i>K</i> de Ripley para rebanhos positivos e negativos para o BoHV-1 (Figura 8.1), BVDV (Figura 8.2), <i>Leptospira</i> spp. (Figura 8.3) e sorovariedade Wolffi (Figura 8.4) em função da distância em quilômetros.	55

LISTA DE ABREVIATURAS

ACM - Análise de correspondência múltipla

BoHV-1 - Herpesvírus bovino 1

BT - Língua azul

BTV - Vírus da língua azul

BVD - Diarreia viral bovina

BVDV - Vírus da diarreia viral bovina

DM - Doença das mucosas

ELISA - Enzyme linked immunosorbent assay

IBR - Rinotraqueíte infecciosa bovina

IPB - Balanopostite pustular infecciosa

IPV - vulvovaginite pustular infecciosa

MDBK - Madin darly bovine kidney

MEN - Meio mínimo essencial eagle

OIE - Organização mundial de saúde animal

PI - Persistentemente infectado

VN - Vírus Neutralização

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar as características epidemiológicas da infecção de bovinos de corte, de alto trânsito animal, para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. no Estado do Maranhão. Nesse trabalho foram estudados 86 rebanhos de bovinos de corte, e a população alvo foram de animais entre 6 e 24 meses de idade. A análise de associação entre as variáveis com a sorologia positiva para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. foram realizados por qui-quadrado e também através da análise de correspondência. A prevalência de rebanhos foi 77,91% para o BoHV-1; 76,74% para o BVDV; 100% para o BTV e 89,53% para *Leptospira* spp. Entre as sorovarietades de *Leptospira* spp. a Wolffi foi a mais prevalente nos rebanhos. Houve associação entre o tamanho de rebanho com rebanhos positivos para BVDV e *Leptospira* spp. Os animais com idade maior que 12 meses até 24 meses apresentaram uma maior associação com a soropositividade para o BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. Na análise espacial não houve formação de aglomerados de rebanhos positivos. Os resultados indicam que o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. encontram-se amplamente distribuídos nos rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, do estado do Maranhão.

Palavras-chave: Análise espacial, Análise de correspondência múltipla, Sorologia, Prevalência.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the epidemiological characteristics of beef cattle infection, high animal movement, for BoHV-1, BVDV, BTV and Leptospira spp. in the state of Maranhão. In this work were studied 86 herds of beef cattle, and the target population were animals between 6 and 24 months old. The association analysis between variables with positive serology for BoHV-1, BVDV, BTV and Leptospira spp. It was performed by chi-square and also through correspondence analysis. The prevalence of herds was 77.91% for BoHV-1; 76.74% to BVDV; 100% for the BTV and 89.53% for Leptospira spp. Among the serovars of Leptospira spp. the Wolffii was the most prevalent in herds. There was an association between herd size with positive herds for BVDV and Leptospira spp. Animals older aged than 12 months to 24 months had a higher association with seropositivity for BoHV-1, BVDV and Leptospira spp. Spatial analysis there was no formation of positive herds clusters. The results indicate that the BoHV-1, BVDV, BTV, and Leptospira spp. They are widely distributed in beef cattle herds, high animal movement, the state of Maranhão.

Keywords: Spatial Analysis, Multiple Correspondence Analysis, Serology, Prevalence

1. Introdução

O Estado do Maranhão apresenta o décimo segundo maior rebanho de bovinos do Brasil e o segundo maior efetivo da Região Nordeste com 7.490.942 cabeças, perdendo apenas para o estado da Bahia, o que configura nesta mesma região um quarto de todo efetivo (IBGE 2012).

A pecuária bovina do estado é caracterizada por uma exploração do tipo corte com 44,34% (95% IC: 40,75 - 47,99), mista com 42,71% (95% IC: 39,09 - 46,42) e de leite com 12,94% (95% IC: 10,61 - 15,69) com um sistema de criação predominantemente extensivo, perfazendo 74% do total (BORBA, 2012).

Os bovinos são susceptíveis a várias enfermidades, e apesar de grande parte do estado do Maranhão constituir uma pecuária desenvolvida e tecnificada, problemas sanitários ainda ocorrem principalmente por falhas na informação e falta de conhecimento sobre agentes infecciosos, como por exemplo, o Herpesvírus Bovino 1 (BoHV-1), o vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), vírus da Língua Azul (BTV) além da *Leptospira* spp.; esses agentes provocam doenças, como rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) (VAN OIRSCHOT, 1998), diarreia viral bovina (BVD) (VOGEL et al., 2001), língua azul (BT) (LOBATO, 1999) e leptospirose (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010) respectivamente, que estão inseridas na lista da Organização Mundial de Sanidade Animal, por apresentarem grande importância para o comércio internacional de animais por ocasionarem prejuízos produtivos e reprodutivos.

O BoHV-1 é responsável por ocasionar grandes perdas em rebanhos bovinos no mundo, é responsável pela IBR, vulvovaginite e balanopostite pustular infecciosa (IPV/IPB), conjuntivite, e distúrbios reprodutivos como infertilidade, mortalidades embrionária e fetal, natimortalidade e mortalidade neonatal (VAN OIRSCHOT, 1998). É um vírus pertencente à família *Herpesviridae* e subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus* (VAN OIRSCHOT, 1998; FAUQUET et al., 2005).

O BVDV é um dos principais patógenos de bovinos por causar perdas econômicas significativas para a pecuária bovina em todo o mundo como: infertilidade temporária, retorno ao cio, mortalidade embrionária ou fetal, abortos ou mumificações entre outros (BAKER, 1995). Ele pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* (HORZINEK, 1991). O ponto chave da epidemiologia da infecção por BVDV são os animais persistentemente infectados (PI) (DUBOVI, 1992).

A leptospirose é uma zoonose mundial ocasionada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira* (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010). A doença tem sua ocorrência principalmente em regiões tropicais e subtropicais (PLANK; DEAN, 2000). O agente causador desta enfermidade pertence à ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira* (FAINE et al., 1999). O quadro clínico em bovinos se caracteriza principalmente com problemas reprodutivos, como infertilidade, aborto, nascimento de bezerras fracas entre outros (ELLIS, 1994; LANGONI et al., 1999; BENNET, 2003; ROHRBACH et al., 2005; GROOMS, 2006; PEREIRA et al., 2013).

Animais mais jovens apresentam um menor tempo de exposição ao BoHV-1 (MELO et al., 2002; BARBOSA, et al., 2005, THOMPSON et al., 2006), BVDV e *Leptospira* spp. (THOMPSON et al., 2006), a infecção pode ser considerada ativa para animais que apresentem títulos altos (FREDRIKSEN et al., 1999; JUNQUEIRA et al., 2006), uma vez que geralmente os títulos de anticorpos vacinais são baixos (SILVA et al 2007a; SILVA et al., 2007b).

A BT é uma enfermidade viral transmitida por mosquitos do gênero *Culicoides* sp., e acomete todas as espécies de ruminantes domésticos e selvagens. O agente etiológico pertence ao gênero *Orbivirus* e família *Reoviridae*, com 24 sorotipos (WILSON et al., 2008). É uma doença de notificação compulsória à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), as perdas econômicas não decorrem apenas por perdas

diretas nos rebanhos afetados, como morte embrionária, aborto, má formação fetal e infertilidade em touros (OSBURN, 1994), elas ainda estão relacionadas a restrições econômicas impostas por países importadores (OIE, 2002).

Considerando a importância que estas enfermidades possuem dentro dos rebanhos bovinos de corte, por ocasionarem prejuízos produtivos e reprodutivos, juntamente aos poucos dados epidemiológicos da ocorrência desses agentes nos rebanhos do estado do Maranhão, aliado a prática deficiente e/ou inexistente de sanidade dos rebanhos e a ausência de programas de assistência técnica especializada é que se propôs realizar este trabalho.

2. Hipótese

A infecção por BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. em bovinos jovens de corte, são prevalentes nos rebanhos de alto trânsito animal, do estado do Maranhão, apresentando ampla distribuição espacial.

3. Objetivos

3.1 Geral

Determinar as características epidemiológicas da infecção de bovinos jovens de corte, em rebanhos de alto trânsito animal, para BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. no Estado do Maranhão.

3.2 Específicos

Em bovinos jovens de corte, de rebanhos de alto trânsito animal, no estado do Maranhão:

1. Determinar, por um estudo transversal, a prevalência para BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. em rebanhos;
2. Pesquisar a prevalência da infecção ativa para BoHV-1 e BVDV em rebanhos;
3. Estimar a frequência de anticorpos contra o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. em animais;
4. Analisar possíveis associações das variáveis, presença de outras espécies domésticas, tamanho de rebanho e idade à infecção por BoHV-1; BVDV, BTV e *Leptospira* spp.;
5. Analisar a distribuição espacial para BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp.

4. Revisão de Literatura

4.1 Estado do Maranhão

O estado do Maranhão está localizado a 05° 38' 56" latitude sul e 45° 17' 04" longitude do Meridiano de Greenwich, situado no Meio-Norte do Brasil, ocupa uma área territorial de aproximadamente 331.983,29 km², no extremo oeste da região nordeste do país. Limita-se com três estados brasileiros: Piauí (leste), Tocantins (sul e sudoeste) e Pará (oeste), além do Oceano Atlântico (norte). O Maranhão apresenta médias anuais, de umidade relativa do ar variando de 70 a 82%, temperatura 22 a 27°C e precipitação pluviométrica 800 a 2800 mm; e um clima variando desde sub-úmido seco, sub-úmido e úmido (IMESC, 2008).

O mesmo Estado apresenta uma característica peculiar, que é a junção de vários ecossistemas, com a presença de floresta equatorial, mata dos cocais, manguezais, campos, cerrados e dunas, o que confere ao Maranhão uma região de transição, e no mínimo um Nordeste diferente (IMESC, 2008).

As condições climáticas do Maranhão são satisfatórias para a criação de bovinos de corte (MARTINS et al., 2000). Ele apresenta o décimo segundo maior rebanho de bovinos do Brasil, e ocupa uma colocação de destaque na pecuária nordestina, com o segundo maior efetivo da Região Nordeste com 7.490.942 cabeças, perdendo apenas para o estado da Bahia, o que configura nesta mesma região um quarto de todo efetivo (IBGE 2012).

A pecuária bovina do estado é caracterizada por uma exploração do tipo corte com 44,34% (95% IC: 40,75 - 47,99), mista com 42,71% (95% IC: 39,09 - 46,42) e de leite com 12,94% (95% IC: 10,61 - 15,69) com um sistema de criação predominantemente extensivo, perfazendo 74% do total (BORBA, 2012).

4.2 Herpesvírus vírus bovino 1 (BoHV-1)

O BoHV-1, conhecido como vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), é um vírus pertencente à família *Herpesviridae* e subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus* e responsável por ocasionar grandes perdas em rebanhos bovinos no mundo (VAN OIRSCHOT, 1998; FAUQUET et al., 2005). É um vírus DNA linear fita dupla (FENNER, 1987), seus isolados foram agrupados em dois subtipos, denominados BoHV-1.1 e BoHV-1.2 (subdividido ainda em BoHV-1.2a e BoHV-1.2b), de acordo com os perfis de restrição enzimática do genoma do vírus (METZLER et al., 1986).

O subtipo BoHV-1.1 é associado ao grupo que ocasiona doença respiratória clássica; enquanto que o subtipo BoHV-1.2a abrange amostras relacionadas com IBR, vulvovaginite pustular infecciosa (IPV) e aborto e o subtipo BoHV-1.2b causa IPV e balanopostite pustular infecciosa (IPB), porém não associada com ocorrência de abortos (MILLER, 1991).

A espécie bovina é a principal fonte de infecção para o BoHV-1, e suas principais vias de eliminação do vírus são através da secreção respiratória, ocular, genital e sêmen de animais infectados. A principal forma de transmissão ocorre pelo contato direto entre os animais e também pela cópula, secreções respiratórias, oculares e genitais. O embrião e o feto podem infectar-se pela via transplacentária. Os animais podem ainda se infectar pelo contato indireto, ocasionado principalmente por aerossóis, fômites, ingestão de água e alimentos contaminados, além da inseminação artificial que pode apresentar um papel importante na disseminação do vírus nos rebanhos (LEMAIRE et al., 1994; ENGELS; ACKERMANN, 1996; CALDERON et al., 2003).

Os herpesvírus induzem latência, caracterizada pela presença do genoma viral nos gânglios nervosos, principalmente no trigêmeo e sacral, sem produção de progênie viral (ENGELS;

ACKERMANN, 1996). Uma vez ocorrida a infecção primária, o animal será portador do BoHV-1 por toda a sua vida, atuando potencialmente como fonte de infecção para indivíduos susceptíveis, assegurando a permanência da infecção no plantel (LEMAIRE et al., 1994).

O animal portador latente pode reativar o vírus se for exposto a fatores predisponentes e estressantes que diminuem a resistência imunológica. Este mecanismo justifica os períodos de reexcreção viral, acompanhados ou não de sinais clínicos (COLODEL et al., 2002).

O BoHV-1 é responsável por ocasionar IBR, IPV, IPB, conjuntivite, e distúrbios reprodutivos como infertilidade, repetições de cio, mortalidades embrionária e fetal, natimortalidade e mortalidade neonatal (GIBBS; RWEYEMANN, 1977; WYLER et al., 1989; STRAUB, 1991). Além disso, a infecção pelo vírus pode ocasionar o nascimento de animais debilitados e quadro de enterite, provocando a morte de neonatos (LEMAIRE et al., 1994).

A forma respiratória da doença é caracterizada por aumento da temperatura corporal, hiperemia das mucosas, rinite, dispneia, corrimento nasal seroso, lesões erosivas na mucosa nasal e, ocasionalmente, pneumonia. A taxa de mortalidade é baixa, mas podem ocorrer complicações em decorrência de infecções bacterianas secundárias ou de outras infecções virais superpostas (WYLER et al., 1989).

A forma genital em fêmeas manifesta-se clinicamente pelo aparecimento de pequenas vesículas de 1 a 2 mm de diâmetro que evoluem para pústulas e erosões localizadas na vulva e vagina. O epitélio vulvar apresenta-se edemaciado, hiperêmico e com secreção que pode tornar-se mucopurulenta devido à contaminação bacteriana secundária. Em touros, lesões similares são encontradas no prepúcio e pênis (GIBBS; RWEYEMANN, 1977; WYLER et al., 1989).

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo BoHV-1 pode ser direto ou indireto, neste caso, principalmente através da sorologia. As técnicas sorológicas mais utilizadas na detecção de anticorpos específicos incluem a vírus neutralização (VN) e o ELISA indireto (TAKIUCHI et al., 2001). A VN por apresentar grande especificidade e boa sensibilidade é considerada a técnica de referência para o diagnóstico sorológico das infecções por BoHV-1 (WYLER et al., 1989; OIE, 2010).

O BoHV-1 foi isolado pela primeira vez no Brasil por Alice em 1978, no Estado da Bahia, a partir de pústulas de vaginas de vacas. No mesmo ano, Muller et al. (1978), no Estado de São Paulo, isolaram e identificaram o BoHV-1 a partir do rim de um feto bovino colhido em matadouro. O primeiro levantamento sorológico no Brasil foi realizado no estado da Bahia, por Galvão et al. (1962/1963), onde foram submetidos ao teste de VN e desses 34,5% foram reagentes.

No estado da Paraíba Thompson et al. (2006), avaliaram o efeito da distribuição espacial hierárquica, nos níveis rebanho, município e ecorregião; e observaram que a soroprevalência variou muito pouco entre os níveis hierárquicos para o BoHV-1, ou seja a modelagem hierárquica realizada demonstrou que seu efeito muito pequeno.

Diversos estudos tem mostrado a distribuição do BoHV-1 em todo Brasil, como podemos observar na tabela 1.

Tabela 1 – Frequência de anticorpos contra o BoHV-1 em bovinos no Brasil, 1995-2014

ANO	REGIÃO	AUTORES	DIAGNÓSTICO	TIPO DE EXPLORAÇÃO	FREQUÊNCIA EM ANIMAIS %	FREQUÊNCIA EM REBANHOS %
1995	Rio Grande do Sul	Lovato et al.	VN	Leiteira	18,8	54,5
1995	Região Sul	Vidor et al.	VN	Corte	31,2	71,3
1999a	Rio Grande do Sul	Richtzenhain et al.	ELISA	-	45,91	-
1999a	Paraná	Richtzenhain et al.	ELISA	-	67,42	-
1999a	São Paulo	Richtzenhain et al.	ELISA	-	68,65	-
1999a	Minas Gerais	Richtzenhain et al.	ELISA	-	67,43	-
1999a	Rio de Janeiro	Richtzenhain et al.	ELISA	-	76,54	-
1999a	Mato Grosso do Sul	Richtzenhain et al.	ELISA	-	86,08	-
2001	Minas Gerais	Rocha et al.	VN ou ELISA	-	58,2	-
2002	Minas Gerais	Melo et al.	VN	Corte	18,89 ¹ /60,93 ²	-
2003	Goiás	Vieira et al.	ELISA	-	83	96,7
2004	Passo Fundo - Rio Grande do Sul	Poletto et al.	VN	leiteira	-	92,85
2005	Goiás	Barbosa et al.	VN	-	51,9	98,5
2006	Paraíba	Thompson et al.	VN	-	46,6	100
2006	Nantes - São Paulo	Junqueira et al.	VN	corte	68,3	-
2008	Oeste do Paraná	Dias et al.	ELISA	-	-	64,41
2008	Nordeste do Rio Grande do Sul	Frandoloso et al.	VN	leiteira	-	57,7
2010	Goiás ³	Affonso et al.	VN	-	84,5	-
2012a	Região amazônica maranhense	Bezerra et al.	ELISA	leiteira	69,25	100
2012b	Maranhão	Bezerra et al.	ELISA	leiteira	71,30	100
2013	Paraná	Dias et al.	ELISA	-	59	71,30
2014	Maranhão ⁴	Freitas et al.	ELISA	corte	63,23	100
2014	Espírito Santo	Santos et al.	VN	leiteira	66,75	100

1 – Cria/recria; 2 – Recria; 3 – Região metropolitana de Goiânia e Rio Verde; 4 – Microrregião de Imperatriz.

4.3 Vírus da diarreia viral bovina (BVDV)

BVDV é um dos principais agentes infecciosos de bovinos que ocasiona perdas econômicas significativas para a pecuária bovina de todo o mundo (BAKER, 1995). É um RNA vírus de fita simples, pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* (HORZINEK, 1991), que apresenta dois biotipos, a forma citopatogênico e não citopatogênico, além de dois diferentes genótipos: BVD (diarreia viral bovina) tipo 1 e BVD tipo 2 (RIDPATH, et al., 1994). Recentemente novas espécies dentro do gênero *Pestivirus* foram propostas: Giraffe vírus, Pronghorn vírus, Bungowannah vírus e HoBi-like vírus (BAUERMAN; RIDPATH, 2015). Em relação as novas espécies propostas, atualmente a espécie HoBi-like vírus tem distribuição mundial (BAUERMAN; RIDPATH, 2015).

A transmissão ocorre por contato direto, através do focinho-focinho, coito e mucosa, ou indireto, focinho-secreções e/ou excreções, focinho-feto abortado e/ou placenta e contato com secreções e excreções. A transmissão ainda pode ocorrer por meio de agulhas, material cirúrgico contaminado e luvas de palpação (FLORES, 2003). A transmissão do BVDV pode ocorrer também através da saliva, secreções nasais, oculares, urina, fezes, sêmen, embrião, sangue e fômites (REVELL et al., 1988; VOGEL et al., 2001).

A infecção por BVDV pode ocasionar sinais clínicos relacionados à doença reprodutiva, respiratória e digestiva (VOGEL et al., 2001; DIAS; SAMARA, 2003). A BVD normalmente está

associada com problemas reprodutivos. Se a infecção ocorrer antes ou após a cobertura ou inseminação artificial, pode gerar perdas reprodutivas como: infertilidade temporária, retorno ao cio, mortalidade embrionária ou fetal, abortos ou mumificações entre outros (BAKER, 1995). Outros sinais incluem enfermidade gastroentérica aguda ou crônica, doença respiratória em bezerros, síndrome hemorrágica com trombocitopenia, patologias cutâneas e imunossupressão (BROWNLIE 1990; BAKER 1995).

O ponto chave da epidemiologia da infecção são os animais persistentemente infectados (PI) (DUBOVI, 1992). Esses animais surgem a partir da infecção fetal entre os dias 40 e 120 de gestação com forma não citopatogênica do vírus, esses bezerros são soronegativos, podem ser clinicamente normais, e excretam o vírus continuamente em grandes quantidades em secreções e excreções (BROWNLIE, 1990; BAKER, 1995). Além de serem os maiores disseminadores do vírus nos rebanhos, eles ainda podem vir a desenvolver a forma da doença com alta letalidade, conhecida como doença das mucosas (DM) (LIESS et al., 1974).

Alguns animais PI podem apresentar desenvolvimento normal, além de poder desenvolver as funções reprodutivas normalmente. Porém a maioria apresenta retardo do crescimento, morte precoce, e alterações reprodutivas. Os animais PI podem desenvolver a DM e morrer até os dois anos de idade. A DM é a forma mais grave da infecção pelo BVDV. Ela surge quando um animal PI é infectado com a forma citopatogênica do vírus, originadas por mutações do vírus na forma não citopatogênica (McCLURKIN; CORIA; CUTLIP, 1979; FLORES, 2003).

Os sinais observados na DM na forma aguda incluem febre (40 - 41 °C), salivação, descarga nasal e ocular, diarreia profusa hemorrágica, desidratação e morte. Pode ocasionar ainda, laminite e coronite. Na forma crônica, porém menos comum, observa-se inapetência, perda de peso, apatia progressiva, diarreia contínua ou intermitente, descarga nasal e ocular persistente. Esses animais podem sobreviver por muitos meses e geralmente morrem após debilitação progressiva (BAKER, 1995; LINDBERG, 2003; FLORES, 2003).

Na infecção transplacentária até os 180 primeiros dias de gestação além de poder gerar o nascimento de animais PI, pode ocasionar, deformidades congênicas (LARSON, 1996; FRAY; PATON; ALENIUS, 2000), natimortos nascimento de bezerros fracos, débeis, prematuros, e com alterações de crescimento (KRAMPS et al., 1999).

As malformações congênicas ocorrem principalmente na infecção transplacentária entre os dias 100 e 150 de gestação. Entre as principais alterações observadas pode-se citar: hipoplasia cerebelar, microcefalia, hidranencefalia, mielinização deficiente na medula espinhal, atrofia ou distrofia da retina, catarata, microftalmia, displasia tímica, braquignatismo e artrogrípse (FLORES, 2003).

O diagnóstico sorológico normalmente utilizado é a técnica de VN ou ELISA indireto. A detecção de anticorpos pode ser realizada no soro sanguíneo e no leite. Para identificação dos animais PI são empregadas ELISA direto e detecção do RNA viral por PCR (EDWARDS, 1990; LINDBERG, 2003; FLORES, 2003).

O primeiro relato descrito da doença no Brasil foi de uma manifestação gastroentérica, com sinais compatíveis com a DM (CORRÊA, 1968). O BVDV tem distribuição mundial, e no Brasil diversos estudos sorológicos têm sido realizados, demonstrando a ampla distribuição no rebanho bovino da infecção do vírus. Os primeiros estudos sorológicos iniciaram na década de 70, no estado do Rio Grande do Sul (WIZIGMANN et al., 1971).

Diversos estudos tem mostrado a distribuição do BVDV em todo Brasil, como podemos observar na tabela 2.

Tabela 2 – Frequência de anticorpos contra o BVDV em bovinos no Brasil, 1987-2013

ANO	REGIÃO	AUTORES	DIAGNÓSTICO	TIPO DE EXPLORAÇÃO	FREQUÊNCIA EM ANIMAIS %	FREQUÊNCIA EM REBANHOS %
1987	Bahia	Ribeiro et al.	VN	-	14,64	-
1998	Rio Grande do Sul ¹	Canal et al.	ELISA	-	56	-
1999b	Minas Gerais	Richtzenhain et al.	ELISA	-	66,11	-
1999b	Paraná	Richtzenhain et al.	ELISA	-	67,42	-
1999b	Rio de Janeiro	Richtzenhain et al.	ELISA	-	70,88	-
1999b	Rio Grande do Sul	Richtzenhain et al.	ELISA	-	72,95	-
1999b	São Paulo	Richtzenhain et al.	ELISA	-	77,85	-
1999b	Mato Grosso do Sul	Richtzenhain et al.	ELISA	-	83,67	-
2001	Goiânia - Goiás	Guimarães et al.	VN	-	52,17	-
2004	Passo Fundo - Rio Grande do Sul	Poletto et al.	VN	Leiteira	-	67,85
2006	Paraíba	Thompson et al.	VN	-	22,20	88,90
2007	Rio Grande do Sul	Quincozes et al.	VN	-	66,32	82,35
2008	Rio Grande do Sul	Frandoloso et al.	VN	leiteira	-	57,70
2010	Goiás	Brito et al.	ELISA	-	64 ² /60,10 ³	88,30
2010	Região amazônica maranhense	Chaves et al.	ELISA	leiteira	61,50	95
2012	Maranhão	Chaves et al.	ELISA	leiteira	65,66	94,57
2013	Ilha de São Luís - Maranhão	Souza et al.	ELISA	leiteira	67,30	100
2013	Rio Grande do Sul	Almeida et al.	ELISA	Leiteira	-	48,80

1 – 19 rebanhos do Rio Grande do Sul e um da Argentina; 2 – Fêmeas acima de 24 meses; 3 – Fêmeas de 6 à 24 meses.

No estado da Paraíba Thompson et al. (2006), avaliaram o efeito da distribuição espacial hierárquica, nos níveis rebanho, município e ecorregião; e observaram que a soroprevalência para o BVDV variaram principalmente para o nível de rebanho, ou seja a modelagem hierárquica realizada demonstrou um efeito muito pequeno no nível município de município e ecorregião.

4.4 Vírus da língua azul

A língua azul (BT) é uma enfermidade viral transmitida por mosquitos do gênero *Culicoides* sp., e acomete todas as espécies de ruminantes domésticos e selvagens. O agente etiológico pertence ao gênero *Orbivirus* da família *Reoviridae*, com 24 sorotipos (WILSON et al., 2008). É uma doença de notificação compulsória à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), as perdas econômicas não decorrem apenas por perdas diretas nos rebanhos afetados, elas ainda estão relacionadas a restrições econômicas impostas por países importadores (OIE, 2002).

Os ruminantes são susceptíveis ao BTV, normalmente a infecção ocorre de forma inaparente, exceto nos ovinos, que são espécies que podem ser gravemente afetados, com queda na produção e podendo ocasionar elevados índices de mortalidade. Os bovinos em contrapartida, a infecção é caracterizada por uma viremia prolongada e por uma doença assintomática (LOBATO, 1999).

A maior parte do Brasil apresenta condições de temperatura e umidade que por sua vez favorecem a multiplicação e manutenção dos vetores, em especial do gênero *Culicoides* sp., o que torna a doença endêmica, além de prevalência alta de animais soropositivos (LOBATO, 1996). Várias espécies de *Culicoides* tem comprovada competência na transmissão do BTV (LOBATO, 1999).

As altas temperaturas e umidade são essenciais para o desenvolvimento das larvas de *Culicoides* bem como na eclosão das larvas. Os ovos são depositados em ambientes alagados e com alto teor de matéria orgânica (WITTMANN; BAYLIS, 2000).

O gênero *Culicoides*, conhecido no Brasil também como “maruim” é de grande importância veterinária, uma vez que o mesmo é responsável pela transmissão do BTV (MELLOR et al., 2000). Em trabalho realizado por Carvalho e Silva (2014), no nordeste do Maranhão, foram identificadas diversas espécies do gênero *Culicoides*, a espécie mais encontrada foi *C. insignis*, principalmente nas proximidades de currais. O *C. pusillus* que é considerado um vetor importante na transmissão do BTV na América Central e do Sul, também foi identificada em pequena quantidade próxima a currais; os resultados obtidos nesse trabalho de acordo com os autores sugerem que existe um grande risco de transmissão do BTV na região estudada.

Outras formas de transmissão do BTV incluem a transplacentária, já relatada nas espécies, bovina (DESMECHT et al., 2008; MENZIES et al., 2008; BACKX et al., 2009; DARPEL et al., 2009; STERNBERG LEWERIN et al., 2010; SANTMAN-BERENDS et al., 2010) e ovina (RICHARDSON et al., 1985; FLANAGAN; JOHNSON, 1995; SAEGERMAN et al., 2011); além dessa, a transmissão do BTV via colostro também já foi descrita (BACKX et al., 2009).

A viremia em animais infectados, principalmente em bovinos, é prolongada, porém não é persistente (BONNEAU et al., 2002; MELVILLE et al., 2004). A duração da mesma irá depender de quanto tempo que o vírus permanecerá ligado aos eritrócitos e também da meia vida do eritrócito (MACLACHLAN et al., 2009). A duração da mesma irá variar conforme a espécie acometida, 14 a 54 dias em ovinos, 19 a 54 dias em caprinos (BARZILAI; TADMOR, 1971; LUEDKE; ANAKWENZE, 1972; KOUMBATI ET AL., 1999) e em bovinos esta viremia pode durar até 100 dias (SELLERS; TAYLOR, 1980).

Os sinais clínicos da BT incluem anorexia, febre, lesões e crostas nas mucosas, narinas, lábios, língua, tetos, coroa dos cascos e interdígitos, sialorreia, ranger de dentes, conjuntivite, hipersensibilidade de pele, laminite e pododermatite (CLAVIJO et al., 2002; ELBERS et al., 2008).

Os bovinos são acometidos pelo BTV em áreas endêmicas e em algumas áreas epiendêmicas, porém o desenvolvimento da doença clínica seja raro. Os sinais clínicos quando vistos vão desde perdas reprodutivas, como morte embrionária, aborto, má formação fetal, esterilidade temporária, infertilidade em touros (OSBURN, 1994), natimortos e nascimento de animais fracos (LOBATO, 1999).

As técnicas sorológicas utilizadas no diagnóstico do BTV incluem, teste ELISA competitivo (KOUMBATI et al., 1999), fixação de complemento, inibição da hemaglutinação (OIE, 2009), além da técnica de imunodifusão em gel de agarose (AFSHAR et al., 1989).

A distribuição do BTV está localizada nas áreas tropicais e subtropicais do mundo (GIBBS; GREINNER, 1988). O Brasil encontra-se inserido na zona epidêmica para BTV, com condições climáticas adequadas para o desenvolvimento do vetor (GIBBS; GREINNER, 1994).

No Brasil, o BTV foi pela primeira vez descrita por Silva (1978), que identificaram ovinos e bovinos com presença de anticorpos fixadores de complemento no estado de São Paulo. Diversos estudos tem mostrado a distribuição do BTV em todo Brasil, como podemos observar na tabela 3.

Tabela 3 – Frequência de anticorpos contra o BTV em bovinos no Brasil, 2000-2012

ANO	REGIÃO	AUTORES	DIAGNÓSTICO	ESPÉCIE	FREQUÊNCIA EM ANIMAIS %	FREQUÊNCIA EM REBANHOS %
2000	Sertão da Paraíba	Melo et al.	IDGA	Bovina	4,38	-
2003	Minas Gerais	Konrad et al.	IDGA	Bovina	59,51	-
2006	Rio Grande do Sul ¹	Costa et al.	IDGA	Bovina e Ovina	0,60 ² /0,16 ³	1,60 ⁴ /0,74 ⁵
2009	Paraíba ⁶	Alves et al.	IDGA	Ovina	8,40	11,60
2009	Araçatuba - São Paulo	Nogueira et al.	IDGA	Ovina	65	-
2009a	Corumbá - Mato Grosso do Sul	Tomich et al.	IDGA	Bovina	51,30	-
2009b	Mato Grosso do Sul ⁷	Tomich et al.	IDGA	Bovina e Ovina	42 ² /10,90 ³	-
2011	Sertão de Pernambuco	Mota et al.	IDGA	Caprina e Ovina	3,90 ⁸ /4,30 ³	24,40 ⁹ /27,50 ⁵
2012	Distrito Federal	Dorneles et al.	IDGA	Ovina	52,37	100

1 – Região Sudoeste e Sudeste do estado; 2 – Espécie bovina; 3 – Espécie ovina; 4 – Rebanho bovino; 5 – Rebanho ovino; 6 – Mesorregião do Sertão e Borborema; 7 – Região do Pantanal; 8 – Espécie caprina; 9 – Rebanho caprino.

4.5 *Leptospira* spp.

A leptospirose é uma zoonose mundial ocasionada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*. As leptospirosas colonizam os túbulos renais proximais de vários mamíferos e são excretados na urina de forma intermitente dos animais portadores (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010). A leptospirose apresenta distribuição mundial, porém a sua ocorrência é maior em países de clima tropical e subtropical, e a mesma aumenta principalmente nos períodos de altos níveis pluviométricos, uma vez que a bactéria apresenta elevada sobrevivência em ambientes úmidos, o que implica em maior risco de exposição e infecção de animais susceptíveis bem como o próprio homem (OLIVEIRA et al., 2010).

As leptospirosas podem sobreviver semanas ou meses no ambiente, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (PLANK; DEAN, 2000), em situações de clima seco, infecções acidentais podem ocorrer próximas a águas represadas com alta concentração de animais. Em relação a regiões temperadas, a ocorrência está mais relacionada aos períodos de maior índice pluviométrico, ocasionando infecções sazonais (SZYFRES, 1976).

Leptospirosas pertencem a ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira* (FAINE et al., 1999), e apresenta espécies patogênicas e saprófitas, diferenciadas de acordo com a similaridade do DNA. Aproximadamente 250 sorovariedades já foram reconhecidas entre as espécies de *Leptospira* patogênicas. As sorovariedades antigenicamente relacionadas são agrupadas em sorogrupos dos quais 26 foram descritos como patogênicas (MURRAY et al., 2013).

A infecção por *Leptospira* spp. é dividida em dois grupos. O primeiro relacionado às amostras adaptadas e carregadas pelo próprio hospedeiro, geralmente ocasiona infecção subclínica, e é uma fonte importante de infecção para os seres humanos e outros animais (SUEPAUL et al., 2011), além de serem menos influenciados pelo meio ambiente (MARTINS et al., 2010). O segundo está relacionado às amostras causadoras de infecções acidentais, transmitidas por outros animais domésticos ou selvagens, e representam uma maior dependência de fatores ambientais o que pode favorecer a veiculação da bactéria através da urina dos reservatórios (ELLIS, 1994).

A transmissão da leptospirose ocorre de forma indireta, através do contato com água e solo contaminados e pode ocorrer também através do contato direto com animais infectados (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010). Os animais doentes ou portadores assintomáticos eliminam a bactéria na

urina, descargas cérvico-vaginais, fetos abortados e placenta, e desta forma mantêm a doença endêmica no rebanho (FAINE et al., 1999). Outros fatores que podem favorecer a disseminação de *Leptospira* spp. são a existência de outras sorovariedades na região, criação concomitante com outras espécies domésticas, bem como a presença de animais silvestres, além das condições ambientais e climáticas, e de manejo (ELLIS, 1984). Os animais que se recuperam da leptospirose podem se tornar portadores assintomáticos e desta forma eliminar o agente no ambiente, os animais portadores assintomáticos são os grandes responsáveis pela epidemiologia da doença (LEVETT, 2001).

A Leptospirose ocasiona em bovinos principalmente problemas reprodutivos, como por exemplo, infertilidade, aumento do número de serviços por concepção, aumento do intervalo entre partos, aborto, morte fetal, mumificação fetal, natimortos, nascimento de bezerras fracas, redução na produção leiteira, ocasionando grandes prejuízos econômicos (ELLIS, 1994; LANGONI et al., 1999; BENNET, 2003; ROHRBACH et al., 2005; GROOMS, 2006; PEREIRA et al., 2013). Pode ainda ocasionar febre, diarreia, anemia, icterícia e hemoglobinúria (ELLIS, 1994).

A transmissão da leptospirose para o homem tem como fonte de infecção um animal, a gravidade pode variar de acordo com a sorovariedade infectante. Pode ser semelhante a uma gripe leve podendo variar até uma infecção grave com insuficiência renal e hepática, insuficiência pulmonar e morte. Sua transmissão pode estar relacionada a uma doença ocupacional, como por exemplo em trabalhadores lotados na criação de gado leiteiro ou corte, ou produção de suínos e abatedouros); e a infecção mediada através do roedor (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

Pela quantidade de sinais clínicos o diagnóstico da leptospirose é difícil, e depende da detecção de anticorpos específicos pelo teste de aglutinação microscópica (MAT), hemaglutinação indireta (HAI) ou imunoenzimáticos como ELISA. A MAT é o teste mais empregado no diagnóstico sorológico; ele apresenta como vantagens ser específico para sorovariedades, porém não diferencia resposta à infecção da vacinação. A infecção pode ser considerada ativa com títulos ≥ 400 , na presença de sinais clínicos e histórico da infecção no rebanho, pode ser utilizado como parâmetro o aumento em quatro vezes no título de anticorpos em amostras pareadas (FAINE, 1999).

O controle da leptospirose bovina é baseado na identificação e tratamento dos animais soropositivos, quarentena para animais adquiridos, e imunização com vacinas que contenha as sorovariedades que circulam no rebanho da região (PEREIRA, et al., 2013; MUGHINI-GRAS, et al., 2013). A vacinação ainda pode atuar reduzindo a ocorrência dos sinais clínicos como o aborto (GROOMS, 2006; PEREIRA, et al., 2013).

No estado da Paraíba Thompson et al. (2006), avaliaram o efeito da distribuição espacial hierárquica, nos níveis rebanho, município e ecorregião; e observaram que a soroprevalência para *Leptospira interrogans* sorovariedade Hardjo variaram em todos os níveis, e relacionaram esse efeito devido a fatores ecológicos, como a umidade.

Em Cáceres, Mato Grosso do Sul, foi realizada uma análise estatística pelo método Bernoulli's, e observou-se que a leptospirose bovina não ocorre aleatoriamente nesta região. Foi observado também que a leptospirose bovina apresentou-se amplamente distribuída espacialmente nessa região, e foi identificado que a maior probabilidade de risco epidemiológico estava localizado nas áreas de maiores inundações (TOCANTINS et al., 2011).

Diversos estudos tem mostrado a distribuição da *Leptospira* spp. em todo Brasil, como podemos observar na tabela 4.

Tabela 4 – Frequência de anticorpos contra a *Leptospira* spp. em bovinos no Brasil, 1999-2014

ANO	REGIÃO	AUTORES	DIAGNÓSTICO	TIPO DE EXPLORAÇÃO	FREQUÊNCIA EM ANIMAIS %	FREQUÊNCIA EM REBANHOS %
1999	Londrina – Paraná	Rodrigues et al.	SAM	Leiteira	13,25	71,43
2000	São Paulo	Langoni et al.	SAM	-	45,56	-
2000	Microrregião de Goiânia - Goiás	Juliano et al.	SAM	Leiteira	81,90	-
2001	Uruará – Pará	Homem et al.	SAM	Leiteira	-	97
2001	21 estados do Brasil	Favero et al.	SAM	-	37,94	-
2006	Monte Negro – Rondônia	Aguiar et al.	SAM	-	53,90	95,30
2006	Paraíba	Thompson et al.	SAM ²	-	16	83,30
2007	Parnaíba – Piauí	Mineiro et al.	SAM	Leiteira	52,09	100
2007	Paraíba	Lage et al.	SAM	-	32,39	87,75
2008	São Paulo	Castro et al.	SAM	-	49,40	71,30
2009	Mato Grosso do Sul	Figueiredo et al.	SAM	-	98,80	96,50
2009	Bahia	Oliveira et al.	SAM	-	45,42	77,93
2010	Bahia	Oliveira et al.	SAM	-	-	77,90
2012	Centro-Sul do Paraná	Hashimoto et al.	SAM	-	35,94	66,06
2012	Maranhão	Silva et al.	SAM	-	35,94	64,81
2012	Rio Grande do Sul ¹	Herrmann et al.	SAM	-	38,75	83,10
2013	Pará	Chiebao et al.	SAM	-	65,49	98,80
2014	Sete Lagoas - Minas Gerais	Nicolino et al.	SAM	leiteira	20,70	80,70

1 – Mesorregião Sudeste e Sudoeste; 2 – *Leptospira interrogans* sorovariedade Hardjo.

5. Material e Métodos

5.1 Planejamento do estudo

5.1.1 Fonte dos dados

O material utilizado nesta pesquisa é proveniente de um banco de amostras coletadas pelo órgão de defesa do estado do Maranhão, a Agência de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED) em parceria com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), no ano de 2012, nos meses de abril a junho. O mesmo foi utilizado para um estudo da avaliação de circulação viral da febre aftosa e foi conduzido em toda a região de ampliação da zona livre com vacinação, constituída pelos Estados de Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Rio Grande do Norte, mais regiões nordeste e norte do Estado do Pará (BRASIL, 2013).

Em virtude da grande dimensão geográfica da região de estudo de ampliação de zona livre com vacinação para febre aftosa, e buscando melhorar a efetividade dos procedimentos para avaliação de circulação viral e aumentar a probabilidade de detecção do agente viral, a região foi dividida em cinco subpopulações amostrais, a mesma também foi definida com base no trânsito de bovinos e bubalinos entre os rebanhos, utilizando as bases de dados dos serviços veterinários estaduais referentes à emissão de guias de trânsito animal (GTA); cada subpopulação representa circuitos pecuários distintos no que diz respeito ao trânsito de bovinos e bubalinos entre rebanhos, com nível de independência avaliado em mais de 94%, ou seja, em cada subpopulação mais de 94% dos bovinos e bubalinos destinados a rebanhos que tiveram como origem e destino uma mesma subpopulação (BRASIL, 2013).

O estado do Maranhão foi considerado um circuito pecuário distinto em relação ao trânsito de bovinos e bubalinos entre rebanhos e, com base nisso, representou uma única subpopulação. A população alvo do estudo foi representada por toda população pecuária de animais suscetíveis à febre aftosa, constituída por bovinos ou bubalinos de 6 a 24 meses de idade (unidades elementares de amostragem) agrupados em UPA (unidade primária amostral), cada UPA representando um *cluster* (conglomerado), definido como rebanho, ou agrupamento de pequenos rebanhos com proximidade física e características semelhantes. Esta faixa etária considerada para constituição da população do estudo é a de maior suscetibilidade ao agente da febre aftosa em regiões com vacinação sistemática, considerando especialmente o menor número de vacinações recebidas. Essa faixa etária também representa a categoria de maior risco epidemiológico devido à condição de maior trânsito entre rebanhos, por razões de comércio (BRASIL, 2013).

O total de UPA bem como de suas unidades elementares de amostragem foram definidos utilizando-se o software FreeCalc, Versão 2, disponível na plataforma Survey Toolbox, disponibilizada pelo Animal Health Services – AusVet (<http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=FreeCalc2>) (SERGEANT, 2014), com um nível de confiança de 95%. A seleção das UPA foi realizado com base no cadastro mantido pelos serviços veterinários estaduais. As mesmas foram selecionadas em municípios de maior trânsito de animais suscetíveis a febre aftosa, que implicam no maior ingresso e comercialização animal (BRASIL, 2013).

Considerando os parâmetros epidemiológicos e estatísticos definidos para o estudo, bem como a correção do número de amostras em função da sensibilidade dos testes laboratoriais utilizados em série foi definido um total de 350 UPA, a constituição das UPA foram de, 89% por até um rebanho, 10% por dois rebanhos e 1% por três rebanhos, totalizando 394 rebanhos, sendo que cada rebanho selecionado deveria possuir no mínimo 30 bovinos de 6 a 24 meses, se um rebanho não atendia a exigência mínima de animais, se selecionavam outros rebanhos próximos com as mesmas características até atenderem a amostragem mínima (BRASIL, 2013).

Para o cálculo das unidades elementares, além do nível de confiança de 95% e a correção com base na sensibilidade calculada dos testes laboratoriais, para febre aftosa, utilizados em série, foram utilizadas prevalências mínimas esperadas de bovinos infectados de 10% em UPA com até 500 animais e de 5% em UPA com mais de 500 animais. O Maranhão apresentou um efetivo de 268.224 animais com idade entre 6 meses e 24 meses; a população de estudo, dos rebanhos selecionados, foram de 119.724 animais, obtendo uma amostragem de 10.828 animais, em cada UPA os animais foram selecionados de forma aleatória (BRASIL, 2013).

Durante a coleta das amostras nas propriedades foi aplicado um questionário pelos fiscais agropecuários estaduais da AGED (Anexo), e o mesmo foi disponibilizado em um banco de dados, alocados em planilhas do software Microsoft Excel®, apresentando as seguintes variáveis: tamanho de rebanho, presença de outras espécies domésticas (caprinos, ovinos, suínos e bubalinos), idade, tipo de exploração (carne, leite e misto).

O banco de soros após sua utilização foi mantido a – 20°C no laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão, o mesmo foi cedido a Escola de Veterinária da UFMG para realização deste trabalho.

5.1.2 Desenho experimental

Para a realização desta pesquisa foi realizado uma reamostragem do banco de amostras de bovinos do estado do Maranhão (população de estudo), utilizado no estudo de circulação viral da febre aftosa, para tanto a unidade amostral utilizada foram os rebanhos (Figura 1). Para isso, essa seleção foi realizada de forma aleatória simples e a estimativa do tamanho da reamostragem foi determinada pelo

grau de confiança do resultado, pelo nível de precisão desejado e pelo valor de prevalência esperado ou mais provável de acordo com Noorduizen et al. (1997), adotando 50% de prevalência de rebanhos positivos para os agentes, valor este adotado para maximizar o tamanho da amostra (variabilidade máxima), com um erro absoluto de 10% e grau de confiança de 95%, resultando em uma amostra de 96 rebanhos. A fórmula do cálculo é demonstrada a seguir:

$$n = \frac{Z^2 * P(1-P)}{d^2}$$

n: tamanho da amostra;

Z: valor de Z baseado no grau de confiança escolhido;

P: prevalência estimada;

d: precisão absoluta (ou erro absoluto) aceitável.

$$n = \frac{1,96^2 * 0,5(1-0,5)}{0,1^2} \rightarrow n = 96 \text{ rebanhos}$$

Ao iniciar a análise do banco de dados com os rebanhos selecionados observou-se que os rebanhos com explorações direcionadas para o tipo leite e misto, representavam 6% e 10% respectivamente do total amostrado no estudo de circulação viral da febre aftosa (BRASIL, 2013), desta forma, para que evitássemos um viés de análise com relação ao tipo de exploração, para o estado do Maranhão, foram excluídos rebanhos com exploração tipo leite e misto, com base nisso trabalhamos apenas com rebanhos de aptidão corte, resultando em 86 rebanhos (Figura 1).

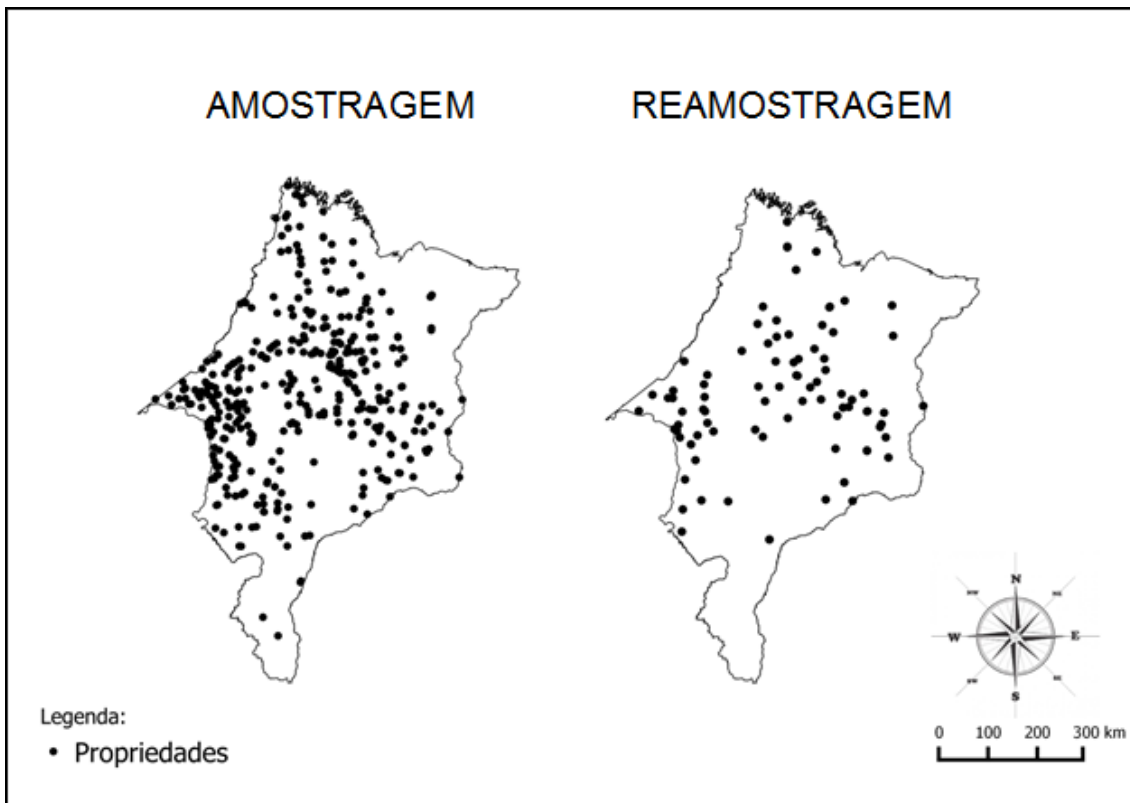


Figura 1 – Distribuição da população de estudo e reamostragem dos rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.

A amostragem intra-rebanho foi realizada para obter 95% de confiança de classificar o rebanho como positivo, assumindo que os testes utilizados nessa pesquisa possuem sensibilidade e especificidade respectivamente de 89,2% e 99,9% na vírus neutralização (VN) para o BoHV-1 (SMITH, 1990), 100% e 98,2% na VN para BVDV (COWLEY, et al., 2012), 95% e 99% na imunodifusão em agar gel (IDGA) (AFSHAR et al., 1989; VENDITTI, 2009) para o BTV e 82% e 97% na soroglutinação microscópica (SAM) para leptospirose (CUMBERLAND et al., 1999), com base nisso utilizamos todas as amostras disponíveis de cada rebanho selecionado para execução deste trabalho.

A população de estudo neste trabalho foi de animais entre 6 e 24 meses de idade. Os rebanhos de estudo não apresentam nenhuma informação à respeito de vacinações contra o BoHV-1, BVDV e leptospirose.

5.2 Sorologia e análise das Amostras

A identificação dos animais com anticorpos anti-BoHV-1 (OIE, 2010) e anti-BVDV (OIE, 2008) foi realizada pela técnica de VN Para o BoHV-1 e o BVDV os soros foram inativados a 56°C por 30 minutos, diluídos a 1:2 em meio essencial mínimo (MEM) (Gibco, USA) e homogeneizados até diluição final de 1:256. Para o BoHV-1 foi utilizada 100 TCID₅₀ da amostra viral IBR Colorado 1 e para o BVDV 100 TCID₅₀ da amostra BVD Singer, titulados anteriormente pelo método de Reed e Miench (1938). Foram utilizadas 50µl de suspensão de células de rim de bovino (MDBK) (ATCC, CCL-22), contendo 3x10⁵ células/ml.

O título de anticorpos foi expresso como a recíproca da maior diluição em que não foi observado efeito citopatogênico, o ponto de corte da reação positiva para o BoHV-1 foi o título 4 e para BVDV foi o

título 10, a titulação das amostras reagentes foi efetuada em uma série geométrica de diluições na razão dois, a leitura foi realizada em microscópio de campo invertido.

Para a detecção de anticorpos precipitantes contra o BTV, foi utilizada a técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), de acordo com Pearson e Jochim (1979). Foi utilizada agarose na concentração final de 0,9% diluída solução salina a 0,85%. Foram realizados orifícios no ágar com furador de sete furos de 3 mm de diâmetro com 2,4 mm de distância entre os poços. Foi utilizado como antígeno o concentrado do sobrenadante de culturas de células VERO infectadas com o sorotipo 4 do BTV (COSTA, 2000), produzido na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. A leitura do IDGA foi realizada através da luz indireta e fundo escuro, observando-se as linhas de precipitação, formadas entre o antígeno e o anticorpo. A identidade da linha formada com o soro controle positivo foi à base para leitura do teste.

A Microtécnica de soroglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos foi utilizada para a detecção dos anticorpos aglutinantes anti-leptospiras (COLE et al., 1973; GALTON et al., 1965). Na triagem, os soros foram testados com uma bateria de 12 sorovariedades: Australis, Autumnalis, Bataviae, Grippyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Hardjo (Hardjoprajitno), Wolffi e Shermani (Tabela 5). O ponto de corte da reação foi o título 100 e a titulação das amostras reagentes foi efetuada em uma série geométrica de diluições na razão dois. O título foi a recíproca da maior diluição do soro com 50% de *Leptospira* spp aglutinadas. A determinação da sorovariedade mais provável foi realizada de acordo com Vasconcellos et al. (1997). A análise dos resultados considerou como mais provável sorovariedade que apresentou maior título nos animais caracterizados como soropositivos. Na ocasião em que um animal apresentou reações com títulos idênticos para duas ou mais sorovariedades este foi considerado positivo apenas para *Leptospira* spp.

Tabela 5 - Sorovariedades de *Leptospira* spp. utilizadas como antígeno para técnica de soroglutinação microscópica

SOROGRUPOS	SOROVARIIDADES	ESPÉCIES	AMOSTRAS	ORIGEM
Australis	Australis	<i>L. interrogans</i>	Ballico	CDC – USA
Autumnalis	Autumnalis	<i>L. interrogans</i>	Akyiami	CDC – USA
Bataviae	Bataviae	<i>L. interrogans</i>	Van Tienem	CDC – USA
Grippyphosa	Grippyphosa	<i>L. interrogans</i>	Moskva – V	CDC – USA
Hebdomadis	Hebdomadis	<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	CDC – USA
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	<i>L. interrogans</i>	RGA	CDC – USA
Javanica	Javanica	<i>L. borgpetersenii</i>	Veldrat Bataviae – 46	CDC – USA
Panama	Panama	<i>L. noguchii</i>	CZ – 214	CDC – USA
Pomona	Pomona	<i>L. interrogans</i>	Pomona	CDC – USA
Serjoe	Hardjo (Hardjoprajitno)	<i>L. interrogans</i>	Hardjoprajitno	BgVV - Berlin Germany
Serjoe	Wolffi	<i>L. interrogans</i>	3705	BgVV - Berlin Germany
Shermani	Shermani	<i>L. santarosai</i>	1342 – K	CDC – USA

BgVV - Berlin Germany (German Institute for Consumer Health Protection and Veterinary Medicine)
 CDC - USA (Centers for Disease Control and Prevention)

5.3 Cálculo da prevalência para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp.

Todas as informações de cada rebanho bem como o número de animais e dados dos questionários foram inseridas em um banco de dados utilizando o software Microsoft Excel® (Washington, EUA). O rebanho foi considerado positivo na presença de pelo menos um animal soropositivo para os agentes em estudo.

A prevalência foi calculada utilizando o software STATA 12® (Texas, EUA) (STATA CORP, 2011), para o cálculo da prevalência com base no título de anticorpos, foi estratificado em três grupos,

amostras negativas, com títulos menores que 128 e com títulos maiores ou iguais à 128 para o BoHV-1 e amostras negativas, com títulos menores 160 e com títulos maiores ou iguais à 160 para o BVDV. A categorização dos títulos foi realizada com o objetivo de se sugerir uma infecção ativa para animais que apresentassem títulos superiores a 64 (JUNQUEIRA et al., 2006).

5.4 Frequência de anticorpos contra o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. em animais

As frequências de anticorpos para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. em animais foram calculadas com o software STATA 12[®]. Para essas análises foram consideradas apenas o número de animais reagentes e o número de animais amostrado nos rebanhos.

5.5 Análise de associação entre as variáveis coletadas com a infecção pelo BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp.

Para a análise de associação entre as variáveis com o resultado da sorologia para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. foram utilizadas as variáveis tamanho de rebanho, presença de outras espécies domésticas (caprinos, ovinos e suínos) e idade. Foram consideradas significativas as variáveis com $P < 0,05$ ao teste de qui-quadrado (χ^2) (ZAR, 1996) e também foi calculada a razão de chances (odds ratio). Para a análise dos dados foi utilizado o software estatístico STATA 12[®]. Para o cálculo do odds ratio, em tabelas 2x2, onde um grupo foi zero, o odds ratio foi calculada adicionando 0,5 para cada grupo (LAWSON et al., 2004), utilizando o pacote epitools (Epidemiology Tools) (ARAGON et al., 2012), analisados no programa R versão 3.2.2 (R CORE TEAM, 2015).

Outra análise utilizada foi a técnica estatística multivariada, para dados qualitativos, denominada Análise de Correspondência Múltipla – ACM. Ela foi utilizada para avaliar a associação entre as infecções por BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. com as variáveis tamanho de rebanho e presença ou ausência de outras espécies domésticas (caprinos, ovinos e suínos). A ACM é uma forma única de descrever dados ordinais e categóricos, pois permite a visualização de associação entre as variáveis. Foram gerados gráficos bidimensionais a partir de matrizes contendo as variáveis mencionadas anteriormente. As análises foram ajustadas para corrigir a matriz de Burt utilizando o método de Joint (GREENACRE, 2006). Nas análises foi utilizado o software estatístico STATA 12[®].

5.6 Estudo da distribuição espacial dos rebanhos positivos para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp.

Para o estudo de distribuição espacial foram construídos mapas temáticos com a distribuição dos rebanhos positivos para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. na área de estudo. As coordenadas geográficas (latitude e longitude) foram obtidas pelos fiscais estaduais da AGED, através de aparelhos GPS (Global Position System), durante coleta de amostras para o exame sorológico da febre aftosa (estudo da avaliação de circulação viral da febre aftosa) (BRASIL, 2013). Para a confecção dos mapas foi utilizado o software QGIS[®], versão 2.8.1 (QGIS DEVELOPMENT TEAM, 2015). Foi realizada a conversão dos dados para a projeção de coordenadas no sistema *South American Datum 69* (SAD 69). Desta forma foi realizada a observação dos padrões de distribuição espacial dos rebanhos positivos para os agentes de estudo, visualizados em forma de mapas.

A identificação de agrupamentos de rebanhos positivos foi realizada pela função K de Ripley. Supondo n_1 o número de casos observados na área de estudo R e uma amostra aleatória na região R de n_2 controles da população sob risco, têm-se $n = n_1 + n_2$ eventos. Se não houver agrupamento de casos em relação aos controles isto implica que casos são uma amostra aleatória de padrões de casos e controles. A hipótese que se quer testar é a identificação aleatória de casos e controles. A definição da função K temos que ela é invariante para reduções e desse modo segue-se que $K_{11}(h) = k_{22}(h) = K_{12}(h)$.

Desta forma, a identificação do afastamento da identificação aleatória é verificada pela diferença entre as estimativas destas funções. Se casos são eventos do tipo 1 e controles eventos do tipo 2, pode-se

utilizar um gráfico de $K_{11}(h) - K_{22}(h)$ como função de h (distância) para verificar o afastamento da pressuposição de identificação aleatória. Neste caso os picos representam agrupamento de casos independente do agrupamento espacial de controles. Os limites superior e inferior desta curva, utilizados para verificar a significância dos picos, são estimados a partir de valores K_{11} e K_{22} calculados em repetidas simulações utilizando $n_1 + n_2$ localizações fixas porém identificando aleatoriamente como casos n_1 localidades (BAILEY; GATRELL, 1995). As análises da função K de Ripley para a verificação da formação de agrupamentos de rebanhos positivos foram realizadas utilizando o pacote *splancs* (Spatial and Space-Time Point Pattern Analysis) (BIVAND et al., 2015), analisados no programa R versão 3.2.2 (R CORE TEAM, 2015).

6. Resultados e Discussão

6.1 Herpesvírus Bovino 1 (BoHV-1), Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), Vírus da Língua Azul (BTV) e *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos de corte

Os animais do presente estudo foram animais jovens, entre 6 e 24 meses de idade, oriundos de rebanhos de alto trânsito animal. Os resultados da sorologia contra os agentes de estudo foram apresentados em forma de prevalência para rebanhos, e em forma de frequência para os animais, tendo em vista que no último caso não foi possível realizar a ponderação dos dados, em virtude da falta de informações relacionados ao número de bovinos de corte presentes no estado do Maranhão.

6.1.1 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência de animais infectados pelo BoHV-1

Dos 86 rebanhos analisados, 67 foram positivos para o BoHV-1, o que resultou em uma prevalência de 77,91% (95% IC: 68,96 - 86,85). Resultados semelhantes foram observados em bovinos de corte na região Sul do Brasil (Vidor et al., 1995, Dias et al., 2013), onde se encontrou prevalência de rebanhos de até 71,30%. Diversos têm sido os resultados encontrados em estudos realizados no país, com prevalências ou frequências em rebanhos variando de 54,50% à 100% (Tabela 1).

Os resultados do presente trabalho são inferiores aos encontrados na região Amazônica do estado do Maranhão (BEZERRA et al., 2012a) e no estado do Maranhão (BEZERRA et al., 2012b), com rebanhos leiteiros e não vacinados contra o BoHV-1, onde 100% dos rebanhos apresentaram pelo menos um animal positivo na técnica de ELISA indireto. Freitas et al. (2014) realizaram uma pesquisa em bovinos de corte no Maranhão, não vacinados contra o BoHV-1, e 100% dos rebanhos apresentaram pelo menos um animal positivo na técnica de ELISA indireto. Para uma comparação mais adequada seria necessário conhecer o intervalo de confiança dos estudos anteriores para observação de sobreposições entre intervalos de confiança. Os trabalhos anteriores estudaram populações compostas por animais jovens e adultos, enquanto que neste estudo a população alvo foram de animais até 24 meses.

Das 2.455 amostras de soro bovino analisadas para a presença de anticorpos contra o BoHV - 1 foram soropositivas 753 (30,67%, 95% IC: 28,85 - 32,50). Este resultado já indica uma alta frequência da soropositividade, o que demonstra a necessidade da adoção de medidas preventivas voltadas para animais com até 24 meses. Outros estudos realizados no país encontraram frequências de animais soropositivos entre 18,89% à 86,08% de animais soropositivos para o BoHV-1 (Tabela 1).

Em bovinos de corte, no estado de Minas Gerais, foi encontrada frequência de 18,89% de animais soropositivos para o BoHV-1 em animais cria/recrta e 60,93% para animais de recrta. Nesse mesmo trabalho os rebanhos de cria/recrta com idade de 7 à 18 meses apresentaram frequência de 19,51% e os com idade de 19 à 30 meses frequência de 23,91%. Já em rebanhos de cria, foram encontradas frequências de animais soropositivos para BoHV-1 de 29,41% para animais de 7 à 18 meses e de 66,67% para animais de 19 à 30 meses (MELO et al., 2002). As diferenças entre os estudos do Maranhão com o de Minas Gerais devem estar relacionados com manejo e diferenças regionais.

Em bovinos leiteiros, já foram realizados trabalhos com na região Amazônica Maranhense e no estado do Maranhão, onde se encontrou, respectivamente, frequência de 69,25% (BEZERRA et al., 2012a) e 71,30% (BEZERRA et al., 2012b) de animais soropositivos para o BoHV-1. No mesmo estado foi realizado outro estudo com bovinos de corte, na microrregião de Imperatriz, e na mesma foi encontrada frequência de 63,23% de animais soropositivos para o BoHV-1, nesse mesmo trabalho a faixa etária entre 12 e 36 meses apresentou uma frequência de 42,92% de animais soropositivos para o BoHV-1 (FREITAS et al., 2014). Todos esses estudos trabalharam principalmente com um percentual maior de animais adultos; e difere do resultado do presente trabalho que demonstra que esses animais começam a se infectar com o BoHV-1 ainda muito jovens.

O BoHV-1 encontra-se amplamente distribuído nos rebanhos do Brasil, sendo que na maioria dos estudos são observadas altas prevalências nos rebanhos. Em estudo realizado na microrregião de Imperatriz no mesmo estado, com bovinos de corte, foi observado que a maioria dos produtores não tinha conhecimento sobre o BoHV-1 e a doença por ele causada; os mesmos possuíam informações em sua maioria principalmente sobre as enfermidades inseridas nos programas oficiais de controle ou erradicação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), como febre aftosa, brucelose, tuberculose e raiva; além de algumas clostridioses (FREITAS et al., 2014).

Estudos realizados com bovinos leiteiros e de corte no mesmo estado, sem vacinação contra o BoHV-1, tem demonstrado uma alta frequência de animais soropositivos (BEZERRA et al., 2012a; BEZERRA et al., 2012b; FREITAS et al., 2014). Vale ressaltar que, no presente trabalho, os animais estudados foram animais jovens de até 24 meses de idade, e que esses animais possuiriam menor tempo de exposição ao vírus (MELO et al., 2002; BARBOSA et al., 2005; THOMPSON et al., 2006).

A distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BoHV-1 pode ser observada na Figura 2. Nessa figura é possível observar que a maioria dos rebanhos apresentam poucos animais soropositivos para o BoHV-1.

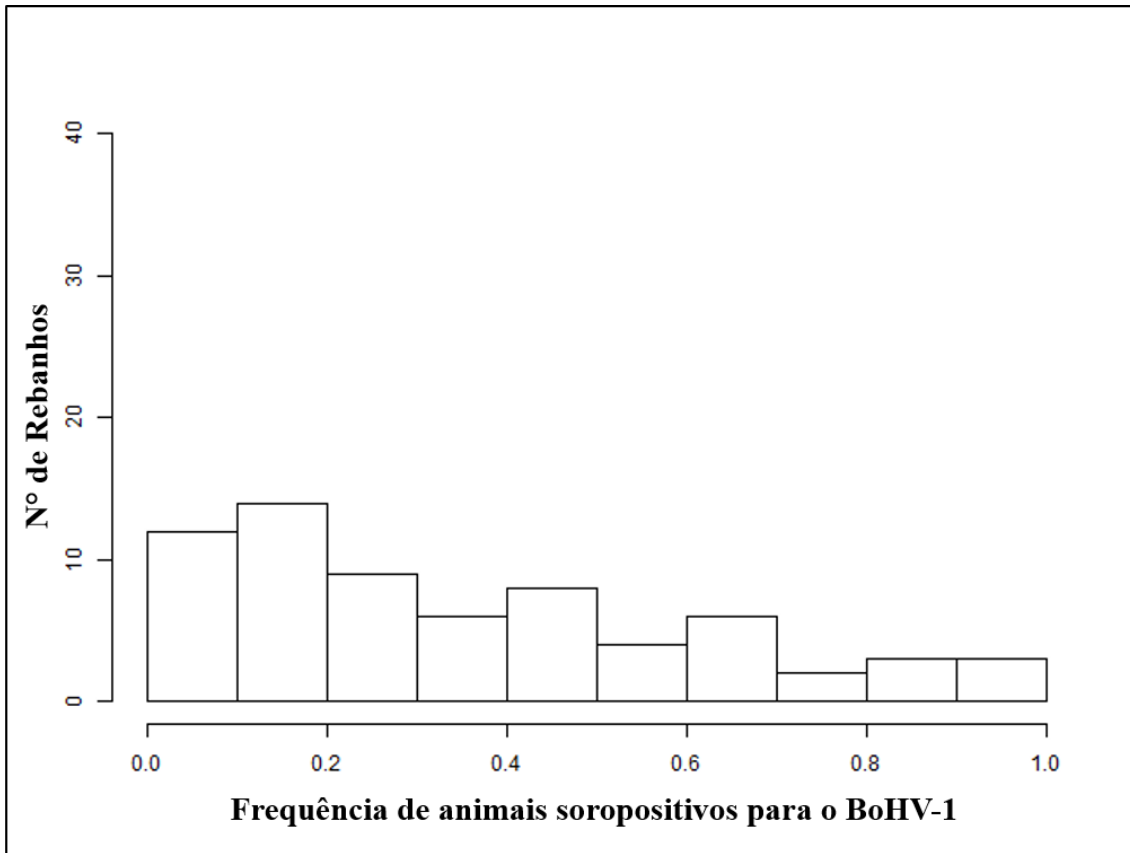


Figura 2 – Distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BoHV-1, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.

6.1.2 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência de animais infectados pelo BVDV

Dos 86 rebanhos analisados, 66 apresentaram animais soropositivos para o BVDV, o que resultou em prevalência de 76,74% (IC95%: 67,63 - 85,85). No Brasil, diversos estudos tem sido realizados com o objetivo de se identificar a prevalência ou frequência do BVDV em rebanhos, com percentuais de rebanhos com animais infectados variando de 48,8% à 100% (Tabela 2).

Em pesquisas realizadas com rebanhos leiteiros não vacinados contra o BVDV, foram encontrados rebanhos positivos para o BVDV em 95% da região Amazônica Maranhense (CHAVES et al., 2010), 94,57% no estado do Maranhão (CHAVES et al., 2012) e 100% na Ilha de São Luís, Maranhão (SOUZA et al, 2013). Esses estudos apresentam frequências superiores aos encontrados no presente trabalho, embora não tenhamos o intervalo de confiança para inferir melhor sobre as diferenças.

Para BVDV foram analisadas 2.431 amostras de soros bovinos, sendo que 877 foram soropositivas (36,08%, 95% IC: 34,17 - 37,99). A alta frequência encontrada em animais até 24 meses, demonstra que medidas preventivas relacionadas ao BVDV devem ser implementadas antes da idade reprodutiva. No Brasil outros estudos têm mostrado frequências de animais soropositivos para o BVDV variando de 22,20% à 67,30% (Tabela 2). No estado do Goiás, animais de seis à 24 meses de idade apresentaram frequência de 60,10% de soropositividade para o BVDV (BRITO et al., 2010), essa diferença pode estar relacionada a diferenças regionais e de manejo.

Alguns estudos já foram realizados no estado do Maranhão para a detecção de animais soropositivos para BVDV. Porém a maior parte dos animais eram formado por animais acima de 36

meses de idade. Em estudos realizados, na região Amazônica Maranhense, na Ilha de São Luís, e no estado do Maranhão, com bovinos de leite, foram encontradas frequência de 61,50% (CHAVES et al., 2010); 67,30% (SOUZA et al., 2013) e 65,66% de animais soropositivos para o BVDV (CHAVES et al., 2012).

Muitos estudos têm demonstrado a prevalência de BVDV nos rebanhos brasileiros. As variações existentes entre alguns estudos podem estar relacionadas a diversos fatores, dentre os quais podemos citar: tipo de desenho experimental adotado, bem como delineamento amostral, uma vez que alguns estudos apresentam amostragem por conveniência ou apenas para detecção de animais soropositivos, bem como o tipo de teste diagnóstico empregado, tipo de exploração alvo do estudo, além do fator idade, já que animais mais jovens apresentam um tempo menor de exposição ao vírus BVDV (THOMPSON et al., 2006). Estudos realizados no Maranhão com bovinos leiteiros não vacinados contra o BVDV tem demonstrado a alta frequência deste agente nos rebanhos (CHAVES et al., 2010; CHAVES et al., 2012; SOUZA et al., 2013).

A distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BVDV pode ser observada na Figura 3. Na figura é possível observar que a maioria dos rebanhos apresentam até 50% de frequência de animais soropositivos para BVDV, 41 rebanhos dos 66 positivos para BVDV, apresentaram frequência de animais soropositivos de 3 à 50%.

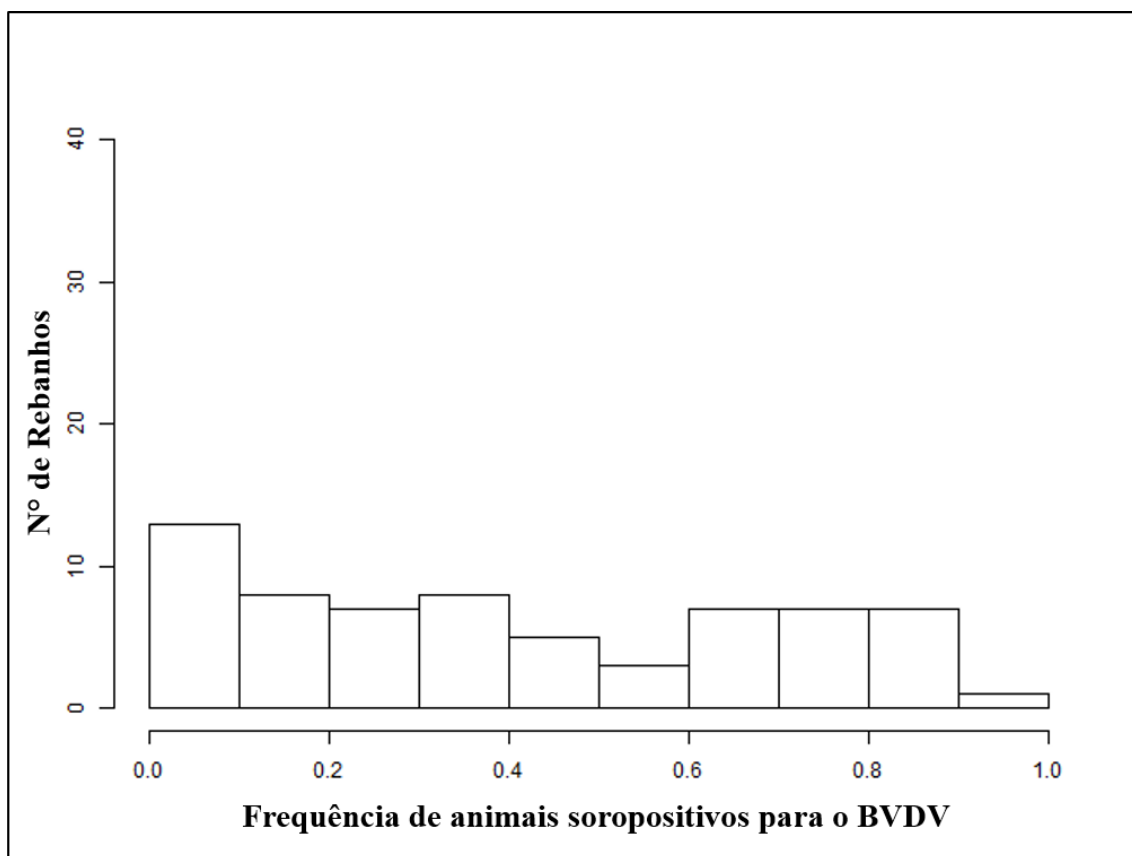


Figura 3 – Distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BVDV, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.

6.1.3 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência de animais infectados pelo BTV

Todos os 86 rebanhos estudados apresentaram animais soropositivos para o BTV, obtendo uma prevalência de 100% (95% IC: 95,7 - 100). Este é o primeiro trabalho de prevalência realizado para o estado do Maranhão relacionado a infecção pelo BTV. Corroboram com estes achados, os encontrados por Dorneles et al. (2012), trabalhando com ovinos do Distrito Federal, encontraram 100% dos rebanhos com animais infectados.

Em trabalho realizado na região Sudoeste e Sudeste do Rio Grande do Sul, avaliando bovinos e ovinos, foi encontrada frequência de animais soropositivos para BTV e rebanhos com animais infectados de 1,60% e 0,74% respectivamente (COSTA et al., 2006). No estado da Paraíba, em rebanhos ovinos, foi encontrada prevalência de animais soropositivos de 11,60% (ALVES et al., 2009) e no sertão de Pernambuco, em rebanhos caprinos e ovinos, 24,40% e 27,50% de soroprevalência (MOTA et al., 2011) (Tabela 3). Estes resultados diferem dos encontrados pelo presente trabalho, em virtude das diferenças climáticas, como por exemplo o inverno rigoroso encontrado no Rio Grande do Sul e a seca prolongada na Paraíba, que são condições que não favorecem a manutenção do vetor transmissor do BTV.

No presente estudo foram analisadas para a presença de anticorpos anti-BTV, 2.451 amostras de soros bovinos, sendo positivas 2.231 (91,02%, 95% IC: 89,89 - 92,16). No Brasil, diversos estudos avaliando a presença de animais soropositivos para o BTV foram realizados em ovinos, caprinos e bovinos, com frequências variando de 0,16% à 59,51% (Tabela 3).

O BTV está presente principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (GIBBS; GREINNER, 1988), e o Brasil apresenta condições climáticas bastante favoráveis para o desenvolvimento e manutenção do vetor transmissor do vírus da língua azul (GIBBS; GREINNER, 1994), *Culicoides* sp., que já foi capturado e identificado na região Nordeste do estado do Maranhão, confirmando a sua presença durante todo o ano (CARVALHO; SILVA, 2014).

Carvalho e Silva (2014) afirmaram que para a eclosão dos ovos, além do desenvolvimento das larvas de *Culicoides* sp, são necessárias altas temperaturas e umidade; características essas encontradas no estado do Maranhão; com médias anuais, de umidade relativa do ar variando de 70 a 82%, temperatura 22 a 27°C e precipitação pluviométrica 800 a 2800 mm; e um clima variando desde sub-úmido seco, sub-úmido e úmido (IMESC, 2008).

Algumas diferenças nas prevalências encontradas entre os estudos de soroprevalência podem estar relacionadas a diferenças climáticas, como invernos rigorosos ou mesmo períodos de seca prolongada; outras diferenças podem estar relacionados ao tipo de desenho experimental adotado, bem como delineamento amostral, além da diferença entre espécies de alguns estudos.

A distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BTV pode ser observada na Figura 4. Na figura é possível observar que a menor frequência de animais soropositivos para o BTV nos rebanhos é de 60%, atingindo até 100% de animais soropositivos. Esses resultados podem ser reflexo das condições climáticas ideais, como temperatura, umidade e pluviosidade presentes no estado do Maranhão, no qual favorecem a manutenção do *Culicoides* sp., assim favorecendo a manutenção e disseminação do agente viral nos rebanhos maranhenses.

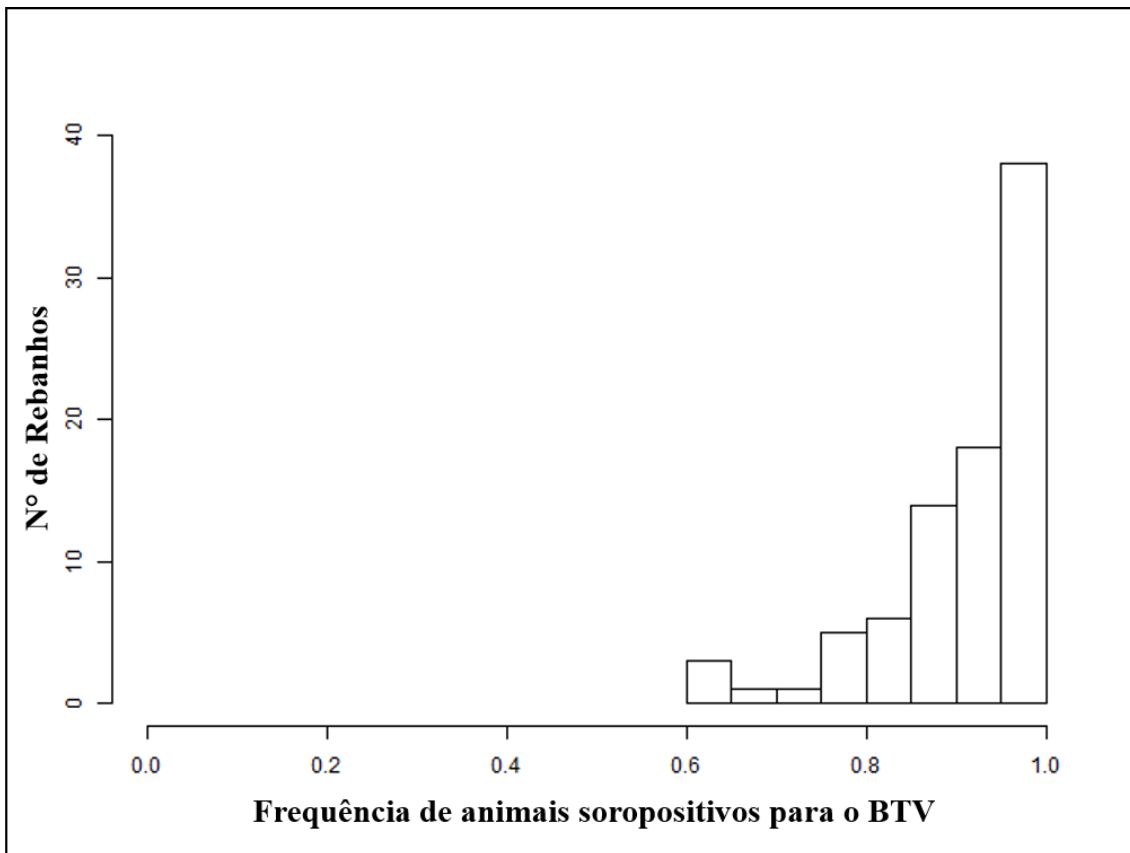


Figura 4 – Distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para o BTV, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.

6.1.4 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência de animais infectados por *Leptospira* spp.

Nos 86 rebanhos analisados, 77 apresentaram pelo menos um animal soropositivo para *Leptospira* spp., com prevalência de 89,53% (95% IC: 82,93 - 96-14%). Este estudo segue os vários estudos realizados no Brasil, que tem demonstrado a alta prevalência ou frequência de animais soropositivos para *Leptospira* spp, variando de 64,81% à 100% dos rebanhos (Tabela 4).

No estado do Maranhão trabalhando com fêmeas com idade maior ou igual a 24 meses foi encontrado prevalência inferior à do estudo, com 64,81% (SILVA et al., 2012). Nos diversos trabalhos realizados pelo Brasil têm demonstrado uma alta prevalência nos rebanhos positivos para *Leptospira* spp. Freitas et al. (2014) realizaram um trabalho com bovinos de corte, na microrregião de Imperatriz, estado do Maranhão, e ressaltaram o fato dos produtores em sua maioria conhecerem apenas as enfermidades preconizadas pelo MAPA.

Para *Leptospira* spp. foram analisadas 2.430 amostras de soros bovinos, sendo 760 foram soropositivas (31,40%, 95% IC: 29,55 - 33,26). O diagnóstico de animais soropositivos para *Leptospira* spp. no Brasil têm sido identificados ao longo do território nacional, com frequências de 13,25% à 98,80% (Tabela 4).

Os resultados do presente trabalho estão próximos aos encontrados por Favero et al. (2001), que realizaram estudo em 21 estados do Brasil e encontraram frequência de 37,94% de animais soropositivos. Lage et al. (2007), no estado da Paraíba encontraram frequência de 32,39% de animais soropositivos e Silva et al. (2012), no estado Maranhão, encontraram frequência de 35,94% de animais soropositivos.

Os resultados aqui encontrados discordam dos observados na microrregião de Goiânia, estado do Goiás, com frequência de 81,90% de animais soropositivos, em rebanhos leiteiros (JULIANO et al., 2000) e também dos encontrados no estado do Mato Grosso Sul, com 98,80% de animais soropositivos, indicando alta prevalência da infecção por *Leptospira* spp. (FIGUEIREDO et al., 2009). As diferenças encontradas entre os estudos realizados no Brasil pode estar relacionado ao tipo de desenho experimental, uma vez que, alguns estudos foram realizados com fêmeas em idade reprodutiva; no presente estudo o alvo foram animais de até 24 meses idade, o que pode estar influenciando na prevalência encontrada.

De acordo com Alonso Andicoberry et al. (2001b), a infecção dos animais jovens pode representar um maior risco do aumento da morbidade da infecção no rebanho, já que tem sido sugerido que a leptospirose está relacionada à idade do animal, e a mesma ocorrendo principalmente em bezerros, os mesmos afirmam que normalmente vacas acima de 36 meses não são leptospirúricas; porém Chideroli et al. (2016) identificaram *Leptospira borgpetersenii* sorovariedade Hardjo Hardjobovis, na urina de vacas leiteiras. Outras diferenças, podem estar relacionadas a diferenças regionais, climáticas, uma vez que a transmissão apresenta associação com o aumento dos níveis pluviométricos (OLIVEIRA, et al., 2010); além das diferenças de manejo e sistema de criação dos animais.

A distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para *Leptospira* spp. pode ser observada na Figura 5. Na figura é possível observar que poucos rebanhos apresentaram frequência superior a 60% de animais soropositivos para *Leptospira* spp. Dos 77 rebanhos positivos para *Leptospira* spp., 58 apresentaram frequência de 4% à 50%.

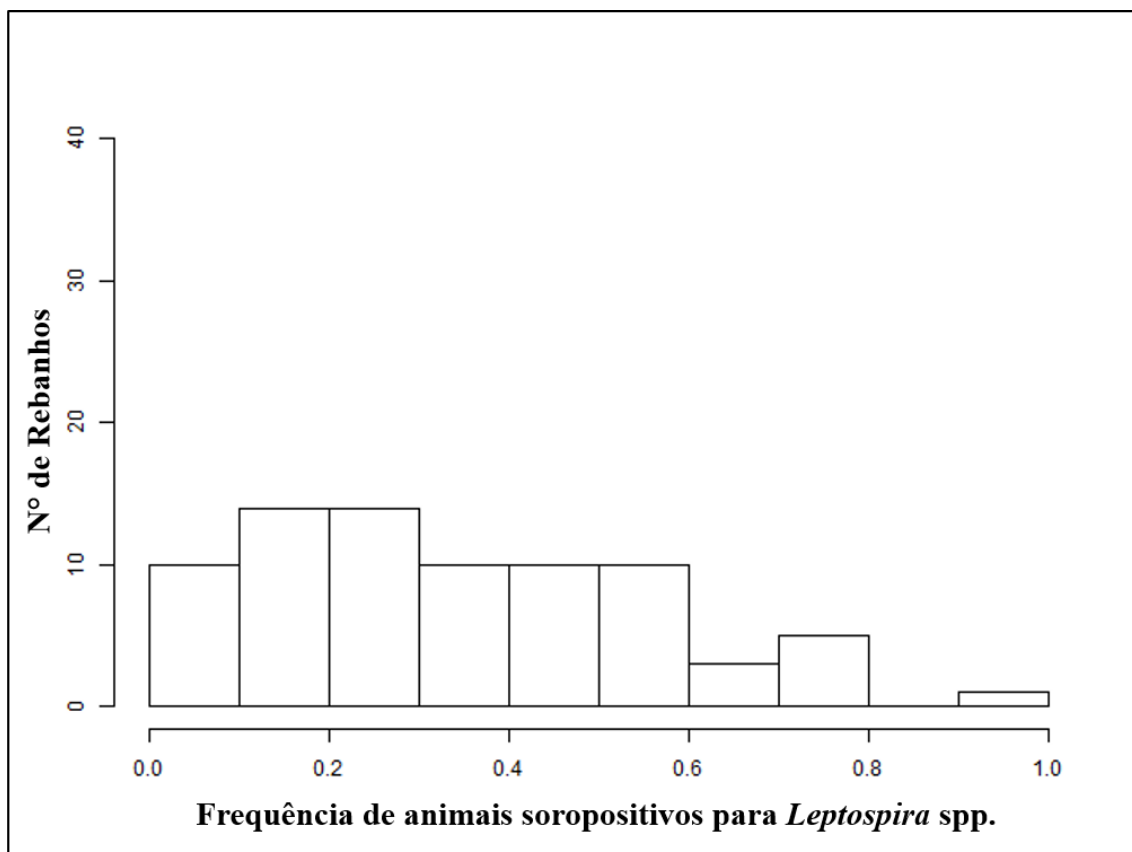


Figura 5 – Distribuição dos rebanhos em relação à frequência de animais soropositivos para *Leptospira* spp., em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.

6.1.4.1 Prevalência de rebanhos bovinos de corte e frequência nos animais infectados por sorovariedades de *Leptospira* spp.

Nos 86 rebanhos estudados, a sorovariedade mais prevalente nos rebanhos foi Wolffii com 65 rebanhos com pelo menos um animal positivo para esta sorovariedade, com uma prevalência de 75,58% (95% IC: 66,32-84,85); seguidos por Hebdomadis em 38 rebanhos (44,19%, 95% IC: 33,48-54,90), Australis em 26 rebanhos (30,23%, 95% IC: 20,33-40,14), Grippytyphosa em 23 rebanhos (26,74%, 95% IC: 17,20-36,29), Pomona em 22 rebanhos (25,58%, 95% IC: 16,17-34,99), Shermani 19 rebanhos (22,09%, 95% IC: 13,15-31,04), Hardjo (Hardjoprajitno) em 16 rebanhos (18,60%, 95% IC: 10,21-26,30), Panama em dois rebanhos (2,33%, 95% IC: -0,9-5,58), Bataviae em dois rebanhos (2,33%, 95% IC: -0,9-5,58), Autumnalis em um rebanho (1,16%, 95% IC: -1,15-3,47) e Icterohaemorrhagiae em um rebanho (1,16%, 95% IC: -1,15-3,47); a sorovariedade Javanica não foi identificada nos rebanhos estudados.

Diversos estudos realizados no Brasil tem demonstrado a sorovariedade Hardjo como de maior prevalência nos rebanhos bovinos. Em estudo realizado em Uruará, estado do Pará as sorovariedades mais encontradas nos rebanhos foram Hardjo e Bratislava com 61,2% e 9% respectivamente (HOMEM et al., 2001). Em Parnaíba, no estado do Piauí, a sorovariedade de maior prevalência foi Hardjo com 39,5% dos rebanhos, seguido por Wolffii e Hebdomadis (MINEIRO et al., 2007). No estado de São Paulo a sorovariedade mais prevalente foi Hardjo com 55,18% dos rebanhos positivos para *Leptospira* spp. (CASTRO et al., 2008). No estado da Bahia a sorovariedade de maior prevalência nos rebanhos foi Hardjo (Hardjoprajitno) com 34,49%, seguidos por Shermani com 8,17% e Wolffii com 5,39% (OLIVEIRA et al., 2009). Na região Centro-Sul do Paraná, a sorovariedade de maior prevalência nos rebanhos foi Hardjo com 54,70%, seguidos por Grippytyphosa e Shermani com 7,74% e 7,18% respectivamente (HASHIMOTO et al., 2012). No estado do Pará a sorovariedade de maior prevalência nos rebanhos foi Hardjo com 89%, seguidos por Wolffii e Gryppytyphosa com 85% e 58% respectivamente (CHIEBAO et al., 2013).

No Maranhão, em estudo realizado com fêmeas com idade maior ou igual a 24 meses, as sorovariedades mais prevalentes nos rebanhos foi Hardjo e/ou Wolffii com 38,18% (SILVA et al., 2012). Nesse mesmo estudo é possível observar a apresentação dos dados de Hardjo e Wolffii apresentados juntos na prevalência de rebanhos, com animais soropositivos; o que já levantaria a possibilidade de uma condição epidemiológica distinta em relação aos demais trabalhos realizados pelo país, que já aponta apenas Hardjo como de maior prevalência.

Nos animais, a sorovariedade de maior prevalência também foi Wolffii com 400 animais sororreagentes e prevalência de 16,53% (95% IC: 15,05-18,01), seguidas por Hebdomadis em 68 animais (2,81%, 95% IC: 2,15-3,47), Grippytyphosa em 54 animais (2,23%, 95% IC: 1,64-2,82), Shermani em 42 animais (1,74%, 95% IC: 1,21-2,26), Pomona em 38 animais (1,57%, 95% IC: 1,07-2,07), Australis em 36 animais (1,49%, 95% IC: 1-1,97), Hardjo (Hardjoprajitno) em 31 animais (1,28%, 95% IC: 0,83-1,73), Panama em três animais (0,12%, 95% IC: -0,01-0,26), Bataviae em dois animais (0,08%, 95% IC: -0,03-0,20), Autumnalis em um animal (0,04%, 95% IC: -0,03-0,12), Icterohaemorrhagiae em um animal (0,04%, 95% IC: -0,03-0,12) e em 85 animais (3,51%, 95% IC: 2,78-4,25) não foi possível determinar a sorovariedade; a sorovariedade Javanica não foi detectada nos animais estudados.

No estado do Paraná, município de Londrina, avaliando bovinos de leite, as sorovariedades mais frequentes nos animais foram Icterohaemorrhagiae (3,83%), Pomona (2,79%) e Bataviae (2,23%) (RODRIGUES et al., 1999). Nas mesorregiões do Sudeste e Sudoeste do estado do Rio Grande do Sul, as sorovariedades mais frequentes nos bovinos foram Hardjo com 29,12%, Hebdomadis com 2,21% e Wolffii com 1,54% (HERRMANN et al., 2012).

No estado de São Paulo, dos 45,56% dos bovinos soropositivos para *Leptospira* spp. 70,59% foram diagnosticados com infecção por Wolffii; 67,57% por Hardjo e 27,90% por Pyrogenes (LANGONI

et al., 2000). No mesmo estado, dos 49,40% soropositivos para *Leptospira* spp., 46% foram reagentes para a sorovariedade Hardjo (CASTRO et al., 2008).

Na microrregião de Goiânia, estado do Goiás, estudando rebanho leiteiro, dos 81,90% de animais soropositivos para *Leptospira* spp., as sorovariedades mais frequentes foram Wolffi com 36,10%; Icterohaemorrhagiae com 20,50% e Hardjo com 5,20% (JULIANO et al., 2000). No estado do Mato Grosso do Sul, 65,6% dos animais soropositivos para *Leptospira* spp. foram diagnosticados com anticorpos anti-Hardjo, seguidos por 12,3% com anticorpos anti-Wolffi e 5,8% com anticorpos anti-Icterohaemorrhagiae (FIGUEIREDO et al., 2007).

Em Monte Negro, estado de Rondônia, as sorovariedades de maior frequência nos animais foram Hardjo com 14,5%, Wolffi com 12,3% e Shermani com 10,8% (AGUIAR et al., 2006). Em Parnaíba, estado do Piauí, estudando bovinos de leite, dos 52,02% soropositivos para *Leptospira* spp., as sorovariedades mais frequentes foram Hardjo com 39,5% e Wolffi com 26,7% (MINEIRO et al., 2007). No estado da Paraíba, as sorovariedades mais frequentes nos animais foram Hardjo com 16,05%, Hardjo (Norma) com 15,62% e Szwajizak com 2,77% (LAGE et al., 2007). No estado da Bahia, as sorovariedades mais presentes nos animais foram Hardjo (Hardjoprajitno) com 14,95%, Shermani com 4,94% e Wolffi com 3,57% (OLIVEIRA et al., 2009).

No estado do Pará, dos 65,49% soropositivos para *Leptospira* spp., 63,58 foram Hardjo, 10,41% para Grippotyphosa e 3,53% para Wolffi (CHIEBAO et al., 2013). Em Sete Lagoas, estado de Minas Gerais, dos 20,70% de animais soropositivos para *Leptospira* spp., 19,4% foram soropositivos para Hardjo (Hardjoprajitno) (NICOLINO et al., 2014).

A grande maioria dos estudos apontam a sorovariedade Hardjo como mais prevalente no Brasil (HOMEM et al., 2001; MINEIRO et al., 2007; CASTRO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; HASHIMOTO et al., 2012; SILVA et al., 2012; CHIEBAO et al., 2013), porém também é possível observar que em muitos trabalhos a sorovariedade Wolffi está sempre entre as mais prevalentes (MINEIRO et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; SILVA et al., 2012; CHIEBAO).

Em estudo realizado em 21 estados do Brasil, entre o percentual de animais soropositivos, foi relatado uma frequência variando de 33,3% à 100% para a sorovariedade Hardjo. Nesse mesmo estudo, o estado do Maranhão apresentou uma frequência de 58,2% de animais soropositivos para *Leptospira* spp. e as sorovariedades mais frequentes foram Hardjo (42,3%) e Wolffi (33%) (FAVERO et al., 2001). As diferenças entre os estudos podem estar relacionadas a amostragem e desenho experimental; Favero et al. (2001) avaliaram apenas 371 bovinos no estado do Maranhão, distribuídos em nove municípios.

No estado do Maranhão, avaliando bovinos em idade reprodutiva, dos 35,94% dos animais soropositivos para *Leptospira* spp., 24,32% foram para Hardjo, 22% para Wolffi e Patoc com 12,42% (SILVA et al., 2012). A sorovariedade Hardjo foi a mais prevalente nos animais, embora a sorovariedade Wolffi tenha apresentado prevalência bastante próxima a Hardjo, discordando dos resultados do presente trabalho que teve como mais prevalente a Wolffi. É importante ressaltar que os resultados para as sorovariedades Wolffi e Hardjo em rebanhos no estudo de Silva et al. (2012) foram apresentados juntos, com uma prevalência de 38,18% para as duas sorovariedades, o que já demonstrava a possibilidade de uma condição epidemiológica nova para a sorovariedade Wolffi, em relação a outros estudos realizados no Brasil.

Outros fatores que podem estar influenciando talvez nessa diferença pode estar na época de coleta das amostras dos animais; no primeiro trabalho realizado, as coletas foram realizadas entre setembro de 2007 e março de 2009, período que abrange tanto período de chuvas como período seco; já no presente trabalho as coletas foram realizadas nos meses de abril a junho de 2012, período em ocorrem a redução das chuvas no estado. A sorovariedade Hardjo apresenta maior prevalência no período das

chuvas e Wolffi no período seco, embora possam estar presentes nos dois períodos (MINEIRO et al., 2007).

A literatura ainda relata que reações cruzadas entre a sorovariedade Wolffi e sorovariedade Hardjo podem ocorrer, pois as elas são integrantes do mesmo sorogrupo, Serjoe, e compartilham determinantes antigênicos (FAINE, 1982), a prevalência deste sorogrupo no presente estudo foi de 76,74% (66 rebanhos) de rebanhos positivos, e a frequência de 17,81% (431 animais) de animais soropositivos. Porém algumas amostras que estavam sendo soropositivas para Wolffi tiveram a soroprecipitação microscópica repetida com controle positivo para Wolffi, e após a repetição houve a confirmação para Wolffi, baseada na detecção da sorovariedade mais provável, através da observação do título mais alto. Para a melhor compreensão e confirmação de tal fenômeno epidemiológico, seria necessário a tentativa do isolamento da sorovariedade Wolffi nos rebanhos de estudo.

6.2 Prevalência de rebanhos bovinos de corte, infectados pelo BoHV-1 e BVDV com base no título de anticorpos

Dos 86 rebanhos analisados, 16 apresentaram pelo menos um animal com títulos maior ou igual à 128 para o BoHV-1, obtendo uma prevalência 18,60%. Para o BVDV, 33 apresentaram pelo menos um animal com títulos maior ou igual à 160, obtendo uma prevalência 38,37%.

Junqueira et al. (2006) avaliaram um rebanhos no município de Nantes, estado de São Paulo, e observaram que 11% dos animais apresentaram títulos para o BoHV-1 maior ou igual a 128, sugerindo que se tratava de uma infecção recente e ativa; ainda de acordo com eles, a presença de infecção ativa no rebanho com animais soronegativos, propicia-se a primo-infecção, podendo ocasionar problemas como abortos, queda na taxa de nascimentos e aumento do número de doses de sêmen por bezerro nascido. Para BVDV o percentual de animais com título igual ou superior a 128 foi de 11,6%; sugerindo também que se tratava de uma infecção ativa, além da provável presença animais persistentemente infectados no rebanho.

No presente trabalho podemos sugerir a existência de infecção ativa nos rebanhos de estudo, pela prevalência de títulos igual ou superior a 128 para BoHV-1 e BVDV encontrada. É importante ressaltar que normalmente a resposta vacinal contra esses agentes induz uma resposta de títulos mais baixos (SILVA et al., 2007a; SILVA et al., 2007b) e que a faixa etária deste estudo, são compostas por animais jovens, até 24 meses, e que pela idade foram menos expostos à esses agentes (MELO et al., 2002; BARBOSA et al., 2005; THOMPSON et al., 2006). Outro ponto importante e identificado em outro estudo realizado na microrregião de Imperatriz, estado do Maranhão, em rebanhos bovinos de corte não vacinados, é a falta de informações e conhecimentos sobre alguns agentes, como o BoHV-1, que desta forma reduz a possibilidade de medidas profiláticas como a vacinação (FREITAS et al., 2014).

6.3 Análises de associação entre variáveis associadas à infecção

6.3.1 Presença de outras espécies domésticas

Na variável presença ou ausência de outras espécies domésticas, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, no estado do Maranhão, associadas à infecção para o BoHV-1, verificou-se que nenhuma das espécies domésticas (caprinos, ovinos e suínos) apresentou associação com o resultado da sorologia ($p > 0,05$) (Tabela 6). Esta variável apresentou o mesmo comportamento para o BVDV (Tabela 7) e para *Leptospira* spp. (Tabela 8).

A criação de bovinos em contato com outras espécies, mesmo que não exerçam papel importante na epidemiologia de doenças como BoHV-1 e BVDV, podem atuar como transmissores mecânicos quando se deslocam de uma localidade para outra, como dentro da própria propriedade ou entre propriedades (VAN SCHAİK et al., 2001). A leptospirose é uma doença que pode ocorrer em bovinos, ovinos, caprinos e suínos (ELLIS, 1994).

Freitas et al. (2014) em estudo realizado na microrregião de Imperatriz, no Maranhão, encontraram associação entre a sorologia positiva para o BoHV-1 com a existência da criação de caprinos e/ou ovinos à nível animal. Bezerra et al (2012a) em estudos na região Amazônica Maranhense, assim como Bezerra et al (2012b) no estado do Maranhão, também não encontraram associação entre a criação de caprinos e/ou ovinos com a sorologia positiva para o BoHV-1 à nível animal.

Em relação a BVDV, Chaves et al. (2012) estudaram rebanho leiteiro no estado do Maranhão, não encontraram associação entre a ocorrência de animais soropositivos para o BVDV com a criação de caprinos e/ou ovinos, resultados semelhantes ao encontrados no presente estudo. Mas, Quincozes et al. (2007), no Rio Grande do Sul, encontraram associação entre o contato de ovinos com bovinos e sorologia positiva para BVDV. Esta associação é plausível, uma vez que ovinos são susceptíveis à infecção pelo BVDV (CELEDÓN et al., 2001; PESCADOR et al., 2004).

Silva et al. (2012) no estado no Maranhão e Hashimoto et al. (2012) na região Centro-Sul do Paraná, encontraram associação entre a sorologia positiva para *Leptospira* spp com a criação associada entre bovinos e caprinos e/ou ovinos à nível de rebanho.

Tabela 6 – Prevalência de rebanhos positivos para o BoHV-1, em função da presença ou ausência de outras espécies domésticas, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Espécies	Estrato	BoHV-1				Valor de p
		Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos		
		Nº	%	Nº	%	
Caprinos ¹	Não	16	22,86	54	77,14	0,721
	Sim	3	18,75	13	81,25	
Ovinos ²	Não	14	22,95	47	77,05	0,765
	Sim	5	20,00	20	80,00	
Suínos ³	Não	15	23,44	49	76,56	0,608
	Sim	4	18,18	18	81,82	

Teste de qui-quadrado, significativo para $p < 0,05$. 1= $(\chi^2=0,1276)$; 2= $(\chi^2=0,0897)$; 3= $(\chi^2=0,608)$. χ^2 =qui-quadrado.

As diferenças entre os estudos podem estar relacionados ao número amostral. Um dos fatores que podem explicar a ausência da associação entre a positividade dos rebanhos, para os agentes de estudo, com a presença ou ausência de outras espécies domésticas, pode estar relacionado a alta prevalência encontrada para o BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. nos rebanhos, ou seja, os rebanhos que não possuíam caprinos, ovinos e suínos, assim como os que possuíam, apresentaram uma alta prevalência para os agentes de estudo, não apresentando diferenças entre os rebanhos.

Tabela 7 – Prevalência de rebanhos positivos para o BVDV, em função da presença ou ausência de outras espécies domésticas, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Espécies	Estrato	BVDV				Valor de p
		Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos		
		Nº	%	Nº	%	
Caprinos ¹	Não	17	24,29	53	75,71	0,636
	Sim	3	18,75	13	81,25	
Ovinos ²	Não	17	27,87	44	72,13	0,114
	Sim	3	12,00	22	88,00	
Suínos ³	Não	13	20,31	51	79,69	0,270
	Sim	7	31,82	15	68,18	

Teste de qui-quadrado, significativo para $p < 0,05$. 1= $(\chi^2=0,2236)$; 2= $(\chi^2=2,5020)$; 3= $(\chi^2=1,2144)$. χ^2 =qui-quadrado.

Tabela 8 – Prevalência de rebanhos positivos para *Leptospira* spp., em função da presença ou ausência de outras espécies domésticas, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Espécies	Estrato	<i>Leptospira</i> spp.				Valor de p
		Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos		
		Nº	%	Nº	%	
Caprinos ¹	Não	7	10,00	63	90,00	0,768
	Sim	2	12,50	14	87,50	
Ovinos ²	Não	8	13,11	53	86,36	0,210
	Sim	1	4,00	24	96,00	
Suínos ³	Não	6	9,38	58	90,63	0,573
	Sim	3	13,64	19	86,36	

Teste de qui-quadrado, significativo para $p < 0,05$. 1= $(\chi^2=0,0869)$; 2= $(\chi^2=1,5723)$; 3= $(\chi^2=0,3173)$. χ^2 =qui-quadrado.

Para o BTV não foi realizado a análise, em virtude do mesmo ter apresentado uma prevalência de 100% nos rebanhos.

6.3.2 Tamanho de rebanho

Para a análise univariada, a variável tamanho de rebanho foi categorizada em quartis e analisada como variável categórica. Outros agrupamentos de tamanho de rebanho foram realizados, e analisados em função da infecção para o BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. porém em nenhum deles foi encontrado diferenças significativas ($p > 0,05$). Para o BTV não foi realizado a análise, em virtude do mesmo ter apresentado uma prevalência de 100% nos rebanhos.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$), o tamanho do rebanho não influenciou a prevalência da infecção pelo BoHV-1 nos rebanhos (Tabela 9) e nem de acordo com os títulos de anticorpos contra o BoHV-1 (Tabela 10).

Tabela 9 – Prevalência de rebanhos positivos para o BoHV-1, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	BoHV-1			
	Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos	
	Nº	%	Nº	%
≤ 42 animais	8	36,36	14	63,64
> 42 e ≤ 173 animais	4	19,05	17	80,95
> 173 e ≤ 300 animais	4	18,18	18	81,82
> 300 animais	3	14,29	18	85,71
Total	19	22,09	67	77,91

$\chi^2=3,6554$, $p=0,310$, $gl=3$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Em estudo realizado no Oeste do Paraná, Dias et al. (2008), observaram maior prevalência da infecção por BoHV-1 para rebanhos com número igual ou superior a 13 fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses na regressão logística; porém Dias et al. (2013) no estado do Paraná, avaliando a mesma variável não encontrou associação. Rebanhos maiores, ou de alta densidade de animais, podem estar associados ao aumento da probabilidade de infecção pelo BoHV-1 (MILLER, 1991; McDERMOTT et al., 1997). As diferenças entre os estudos podem estar relacionados a amostragem e idade dos animais.

Tabela 10 – Prevalência de rebanhos positivos para o BoHV-1, de acordo com os títulos de anticorpos, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	Rebanhos Positivos (BoHV-1)			
	Título menor que 128		Título maior ou igual à 128	
	Nº	%	Nº	%
até 42 animais	9	40,91	5	22,73
> 42 até 173 animais	15	71,43	2	9,52
> 173 até 300 animais	13	59,09	5	22,73
> 300 animais	14	66,67	4	19,05
Total	51	59,30	16	18,60

$\chi^2=6,1508$, $p=0,407$, $gl=3$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Houve diferença significativa ($p<0,05$), rebanhos com maior número de animais há maior chance ocorrer infecção para o BVDV (Tabela 11) e maior chance de apresentarem títulos de anticorpos maior ou igual à 128, contra o BVDV (Tabela 12). Podemos observar que existe uma diferença significativa ($p<0,05$) para rebanhos com mais de 300 animais, na prevalência da positividade dos rebanhos, diferenciando dos demais agrupamentos (Tabela 11). A mesma tendência pode-se observar nos animais com título maior ou igual a 128, com uma maior prevalência nos rebanhos maiores (maior que 300 animais) (Tabela 12).

Tabela 11 – Prevalência de rebanhos positivos para o BVDV, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	BVDV				odds ratio
	Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos		
	Nº	%	Nº	%	
até 42 animais	9	40,91	13	59,09 ^a	Categoria base
> 42 até 173 animais	6	28,57	15	71,43 ^a	1,73
> 173 até 300 animais	4	18,18	18	81,82 ^a	3,12
> 300 animais	1	4,76	20	95,24 ^b	13,85
Total	20	23,26	66	76,74	-

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre cada faixa etária (qui-quadrado; $p < 0,05$). IC = 95%. $\chi^2 = 8,5157$, $p = 0,036$, $gl = 3$. $\chi^2 =$ qui-quadrado, $gl =$ grau de liberdade.

Tabela 12 – Prevalência de rebanhos positivos para o BVDV, de acordo com os títulos de anticorpos, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	Rebanhos Positivos (BVDV)				odds ratio
	Título menor que 160		Título maior ou igual à 160		
	Nº	%	Nº	%	
até 42 animais	9	40,91	4	18,18 ^a	Categoria base
> 42 até 173 animais	6	28,57	9	42,86 ^a	3,38
> 173 até 300 animais	11	50,00	7	31,82 ^a	1,43
> 300 animais	7	33,33	13	61,69 ^b	4,18
Total	33	38,37	33	38,37	-

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre cada faixa etária (qui-quadrado; $p < 0,05$). IC = 95%. $\chi^2 = 13,7363$, $p = 0,033$, $gl = 3$. $\chi^2 =$ qui-quadrado, $gl =$ grau de liberdade.

Almeida et al. (2013) encontram uma relação entre a sorologia positiva para o BVDV com o aumento contínuo do rebanho. O tamanho de rebanho é considerado uma variável complexa, pois a mesma necessita ser avaliada com demais outras variáveis, como densidade de animais, densidade de rebanhos, além do contato entre diferentes rebanhos (HOUE et al., 2005).

Houve diferença significativa ($p < 0,05$), rebanhos com maior número de animais há maior chance ocorrer infecção por *Leptospira* spp. Podemos observar que existe uma menor prevalência da positividade dos rebanhos com efetivo até 42 animais, diferenciando dos demais agrupamentos (Tabela 13). Para análise da associação do tamanho de rebanho com a infecção de *Leptospira* por determinada sorovariedade foram escolhidas as que apresentaram prevalência mais representativa nos rebanhos de estudo.

Nas soroviedades, Wolffii (Tabela 14) e Australis (Tabela 15) podemos observar a mesma tendência, de uma prevalência maior para rebanhos com mais de 42 animais. Para a sorovariedade Hebdomadis não houve diferenças significativas em relação ao tamanho de rebanhos ($p > 0,05$). Para o sorogrupo Serjoe (Wolffii + Hardjo), houve diferenças significativas ($p < 0,05$), onde rebanhos com mais de 173 animais apresentam uma maior prevalência para este sorogrupo (Tabela 16).

Tabela 13 – Prevalência de rebanhos positivos para *Leptospira* spp., em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	<i>Leptospira</i> spp.				odds ratio
	Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos		
	N°	%	N°	%	
até 42 animais	8	36,36	14	63,64 ^a	Categoria base
> 42 até 173 animais	1	4,76	20	95,24 ^b	11,43
> 173 até 300 animais	0	0,00	22	100,00 ^b	11,73*
> 300 animais	0	0,00	21	100,00 ^b	11,20*
Total	20	23,26	66	76,74	-

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre cada faixa etária (qui-quadrado; $p < 0,05$). IC = 95%. *Com ajuste de 0,5 (LAWSON et al., 2004). $\chi^2 = 21,5034$, $p = 0,000$, $gl = 3$. $\chi^2 =$ qui-quadrado, $gl =$ grau de liberdade.

Tabela 14 – Prevalência de rebanhos positivos para *Leptospira* sorovariedade Wolffii, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	<i>Leptospira</i> sorovariedade Wolffii				odds ratio
	Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos		
	N°	%	N°	%	
até 42 animais	12	54,55	10	45,45 ^a	Categoria base
> 42 até 173 animais	6	28,57	15	71,43 ^{bc}	3
> 173 até 300 animais	2	9,09	20	90,91 ^b	12
> 300 animais	1	4,76	20	95,24 ^{bd}	24
Total	21	24,42	65	75,58	-

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre cada faixa etária (qui-quadrado; $p < 0,05$). IC = 95%. $\chi^2 = 18,2124$, $p = 0,000$, $gl = 3$. $\chi^2 =$ qui-quadrado, $gl =$ grau de liberdade.

Tabela 15 – Prevalência de rebanhos positivos para *Leptospira* sorovariedade Hebdomadis, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	<i>Leptospira</i> sorovariedade Hebdomadis			
	Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos	
	N°	%	N°	%
até 42 animais	16	72,73	6	27,27
> 42 até 173 animais	11	52,38	10	47,62
> 173 até 300 animais	11	50,00	11	50,00
> 300 animais	10	47,62	11	52,38
Total	48	55,81	38	44,19

$\chi^2 = 3,5256$, $p = 0,307$, $gl = 3$. $\chi^2 =$ qui-quadrado, $gl =$ grau de liberdade.

Tabela 16 – Prevalência de rebanhos positivos para *Leptospira* sorovariedade Australis, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	<i>Leptospira</i> sorovariedade Australis				odds ratio
	Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos		
	Nº	%	Nº	%	
até 42 animais	22	100,00	0	0,00 ^a	Categoria base
> 42 até 173 animais	12	57,14	9	42,86 ^b	15,23*
> 173 até 300 animais	16	72,73	6	27,27 ^b	7,76*
> 300 animais	10	47,62	11	52,38 ^b	22,00*
Total	60	69,77	26	30,33	-

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre cada faixa etária (qui-quadrado; $p < 0,05$). IC = 95%. *Com ajuste de 0,5 (LAWSON et al., 2004). $\chi^2 = 16,0955$, $p = 0,001$, $gl = 3$. $\chi^2 =$ qui-quadrado, $gl =$ grau de liberdade.

Tabela 17 – Prevalência de rebanhos positivos para *Leptospira* sorogrupo Serjoe, em função do tamanho de rebanho, estratificado em quatro grupos, de acordo com a sorologia, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	<i>Leptospira</i> sorogrupo Serjoe				odds ratio
	Rebanhos Negativos		Rebanhos Positivos		
	Nº	%	Nº	%	
até 42 animais	12	54,55	10	45,45 ^a	Categoria base
> 42 até 173 animais	6	28,57	15	71,43 ^a	3
> 173 até 300 animais	1	4,55	21	95,45 ^b	25,2
> 300 animais	1	4,76	20	95,24 ^b	24
Total	20	23,26	66	76,74	-

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa entre cada faixa etária (qui-quadrado; $p < 0,05$). IC = 95%. $\chi^2 = 20,7405$, $p = 0,000$, $gl = 3$. $\chi^2 =$ qui-quadrado, $gl =$ grau de liberdade.

Silva et al. (2012), no estado do Maranhão, observaram uma maior prevalência da infecção por *Leptospira* spp em rebanhos com mais de 32 fêmeas, e idade igual ou superior a 24 meses. De acordo com os mesmos autores, rebanhos maiores apresentam maior probabilidade de transmissão do agente para animais susceptíveis. Hashimoto et al. (2012) na região Centro-Sul do Paraná, identificaram maior prevalência da infecção por *Leptospira* spp. e para a sorovariedade Hardjo, nas fêmeas em idade reprodutiva, que tivessem em rebanhos com mais de 43 bovinos.

O tamanho de rebanho pode influenciar na manutenção da *Leptospira* spp. (ALONSO ANDICOBERRY et al., 2001a); porém, a prevalência dependerá principalmente, da existência de animais portadores, que possam estar eliminando o microrganismo na urina, da contaminação do ambiente com leptospirosas vivas, da sobrevivência delas no ambiente, além do contado destas com os animais susceptíveis a infecção (NIANG et al., 1994).

Em outro estudo realizado no estado do Maranhão, encontraram uma maior prevalência da infecção por *Brucella abortus*, para rebanhos com mais de 54 fêmeas (BORBA et al., 2013), este dado reforça ainda mais que a presença de rebanhos mais numerosos são fatores de riscos para a disseminação de várias enfermidades.

6.3.3 Idade

Na análise univariada, por faixa etária em bovinos de corte, de alto trânsito animal, no estado do Maranhão, pode-se observar que os animais com idade maior de 12 meses até 24 meses foram os que apresentaram a maior proporção de animais soropositivos para o BoHV-1, com um percentual de 43,25%, a razão de chances demonstra que os animais se infectam na sua grande maioria com a idade maior que 12 meses até os 24 meses (Tabela 18). O mesmo pode ser observado com base no título de anticorpos para o BoHV-1, no qual os animais com mais de 12 meses até 24 meses apresentaram uma maior frequência de animais com títulos maior ou igual a 128, no qual pode-se afirmar que a maioria dos animais estão se infectando na faixa etária maior que 12 meses até 24 meses (Tabela 19).

Tabela 18 – Frequência de animais soropositivos para o BoHV-1, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	BoHV-1			
	Animais Soronegativos		Animais Soropositivos	
	Nº	%	Nº	%
≥ 6 até 12 meses	941	84,47	173	15,53
> 12 até 24 meses	761	56,75	580	43,25
Total	1702	69,33	753	30,67

$\chi^2=219,9126$, $p=0,000$, odds ratio=4,15, $gl=1$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Tabela 19 – Frequência de animais soropositivos para o BoHV-1, de acordo com os títulos de anticorpos, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	Animais Soropositivos (BoHV-1)			
	Título menor que 128		Título maior ou igual à 128	
	Nº	%	Nº	%
≥ 6 até 12 meses	167	14,99	5	0,45
> 12 até 24 meses	553	22,53	27	1,10
Total	1702	69,33	753	30,67

$\chi^2=222,2115$, $p=0,000$, odds ratio=1,63, $gl=1$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Em relação ao BVDV pode-se observar que os animais com idade maior de 12 meses até 24 meses foram os que apresentaram a maior proporção de animais soropositivos, com um percentual de 57,66% (Tabela 20). O mesmo pode ser observado com base no título de anticorpos para o BVDV, no qual pode-se afirmar que a maioria dos animais estão se infectando na faixa etária maior que 12 meses até 24 meses; a frequência de 5,15% dos animais com idade maior ou igual a 6 meses até 12 meses, com títulos maiores ou igual a 160, pode estar relacionado com a provável presença de animais persistentemente infectados no rebanho (Tabela 21). Para o BTV pode-se observar que não houve diferenças significativas entre as faixas etárias avaliadas ($p>0,05$) (Tabela 22).

Tabela 20 – Frequência de animais soropositivos para o BVDV, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	BVDV			
	Animais Soronegativos		Animais Soropositivos	
	Nº	%	Nº	%
≥ 6 até 12 meses	790	71,43	316	28,57
> 12 até 24 meses	764	57,66	561	42,34
Total	1702	69,33	753	30,67

$\chi^2=49,5518$, $p=0,000$, odds ratio=1,84, $gl=1$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Tabela 21 – Frequência de animais soropositivos para o BVDV, de acordo com os títulos de anticorpos, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	Animais Soropositivos (BVDV)			
	Título menor que 160		Título maior ou igual à 160	
	Nº	%	Nº	%
≥ 6 até 12 meses	292	26,40	57	5,15
> 12 até 24 meses	506	38,19	106	8,00
Total	798	32,83	163	6,71

$\chi^2=54,1460$, $p=0,000$, odds ratio=1,07, $gl=1$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Tabela 22 – Frequência de animais soropositivos para o BTV, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	BTV			
	Animais Soronegativos		Animais Soropositivos	
	Nº	%	Nº	%
≥ 6 até 12 meses	94	8,45	1019	91,55
> 12 até 24 meses	126	9,42	1212	90,58
Total	220	8,98	2231	91,02

$\chi^2=0,7017$, $p=0,402$, $gl=1$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Já para *Leptospira* spp. pode-se observar que os animais com idade maior de 12 meses até 24 meses foram os que apresentaram a maior proporção de animais soropositivos, com um percentual de 37,97% (Tabela 23). O mesmo pode ser observado para a sorovariedade Wolffii (Tabela 24) e sorogrupo Serjoe (Wolffii + Hardjo) (Tabela 25), onde os animais com idade maior de 12 meses até 24 meses apresentaram uma maior frequência de animais soropositivos. As demais sorovariedades não foram avaliadas por terem apresentado menor frequência nos animais.

Tabela 23 – Frequência de animais soropositivos para *Leptospira* spp., em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	<i>Leptospira</i> spp.			
	Animais Soronegativos		Animais Soropositivos	
	Nº	%	Nº	%
≥ 6 até 12 meses	840	76,50	258	23,50
> 12 até 24 meses	820	62,03	502	37,97
Total	1660	68,60	760	31,40

$\chi^2=58,3438$, $p=0,0000$, odds ratio=1,99, $gl=1$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Tabela 24 – Frequência de animais soropositivos para *Leptospira* sorovariedade Wolffi, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	<i>Leptospira</i> sorovariedade Wolffi			
	Animais Soronegativos		Animais Soropositivos	
	N°	%	N°	%
≥ 6 até 12 meses	961	87,52	137	12,48
> 12 até 24 meses	1059	80,11	263	19,89
Total	2020	83,47	400	16,53

$\chi^2=23,9155$, $p=0,0000$, odds ratio=1,74, $gl=1$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Tabela 25 – Frequência de animais soropositivos para *Leptospira* sorogrupo Serjoe, em função da idade, em rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012

Bovinos até 24 meses	<i>Leptospira</i> sorogrupo Serjoe			
	Animais Soronegativos		Animais Soropositivos	
	N°	%	N°	%
≥ 6 até 12 meses	948	86,34	150	13,66
> 12 até 24 meses	1041	78,74	281	21,26
Total	1989	82,19	431	17,81

$\chi^2=23,6337$, $p=0,0000$, odds ratio=1,71, $gl=1$. χ^2 =qui-quadrado, gl =grau de liberdade.

Os animais mais velhos apresentam um maior tempo de exposição ao BoHV-1, e em virtude disso apresentam maior chance de serem soropositivos (MELO et al., 2002; BARBOSA et al., 2005; THOMPSON et al., 2006). Bezerra et al. (2012a) na região Amazônica Maranhense e Bezerra et al. (2012b) no estado do Maranhão, trabalhando com rebanhos leiteiros, observaram uma maior frequência de animais soropositivos para o BoHV-1 nos animais com mais de 36 meses de idade; Freitas et al. (2014) na microrregião de Imperatriz, no Maranhão, trabalhando com bovinos de corte, puderam observar a mesma característica.

No Rio Grande do Sul, estudando bovinos, não houve associação entre a soropositividade para o BVDV com a faixa etária (QUINCOZES et al., 2007). Brito et al. (2010) no estado do Goiás, avaliaram além de animais em idade reprodutiva, animais com idade entre 6 e 24 meses, e puderam observar uma maior frequência na faixa etária entre 12 e 24 meses, sendo esta significativa. A frequência da soropositividade para o BVDV aumentam conforme a idade (THOMPSON et al., 2006).

Tomich et al. (2009a), em Corumbá, Mato Grosso do Sul, em rebanhos leiteiros, e Tomich et al. (2009b), no estado do Mato Grosso do Sul, em rebanhos de corte, observaram associação entre a infecção pelo BTV com o aumento da idade. O tempo de exposição do animal ao agente do BTV aumenta a probabilidade de detectar animais soropositivos (WARD et al., 1994).

A frequência da soropositividade para *Leptospira* spp. aumentam conforme a idade (ALONSO ANDICOBERRY et al, 2001b; THOMPSON et al., 2006). Tomich et al. (2009a), também observaram esta mesma característica, em virtude do maior tempo de exposição ao agente da *Leptospira* spp.

6.3.4 Análise de Correspondência Múltipla - ACM

Para a criação do modelo de ACM foram selecionados as variáveis de rebanhos positivos e negativos para BoHV-1, BVDV e *Leptospira* ssp, e foi adicionado a variável tamanho de rebanho uma vez que na análise univariada, houve associação do tamanho de rebanho com a ocorrência de BVDV e

Leptospira spp ($p < 0,05$). A inércia total acumulada para as três dimensões foram de 99,99% (51,79% para primeira dimensão, 26,98% para segunda dimensão e 21,22% para a terceira dimensão) (Figura 6).

De acordo com a ACM, no presente estudo, existe uma associação entre a ocorrência de rebanhos positivos para o BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. (Pontos sobrepostos na Figura 6, 1º quadrante do gráfico); e a ocorrência dos mesmos tem estreita relação com rebanhos com mais de 300 animais, que são os maiores rebanhos, e representa o 4º quartil da variável tamanho de rebanho. É possível afirmar também, pela ACM que a ocorrência de rebanhos negativos para o BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp., possuem uma forte relação com rebanhos com até 42 animais, que são os menores rebanhos, representado pelo 1º quartil da variável tamanho de rebanho (Figura 6).

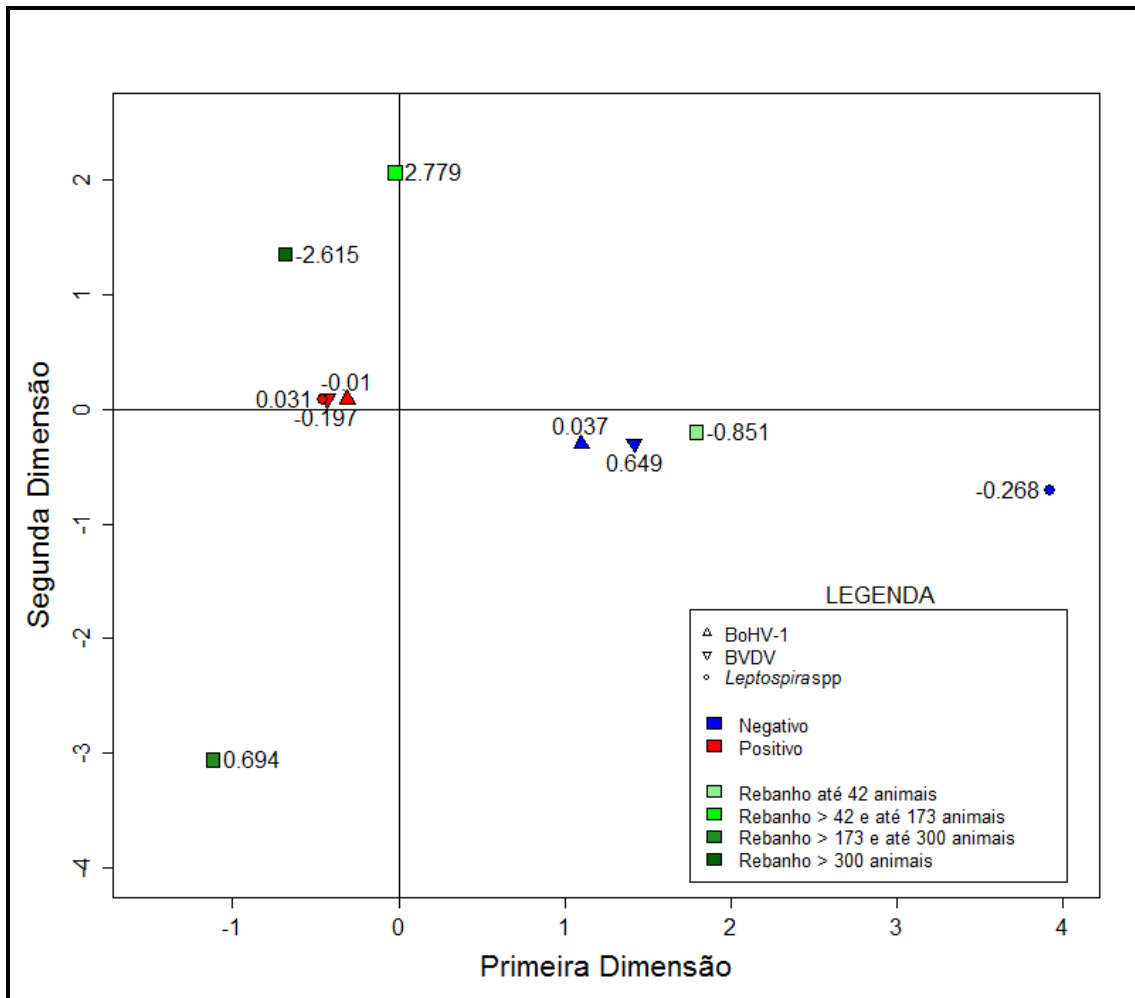


Figura 6 – Gráfico resultante da análise correspondência múltipla (ACM), contendo distribuições das variáveis relacionadas a rebanhos positivos e negativos para o BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp.; e tamanho de rebanho, em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.

O BVDV apresenta com um dos sinais clínicos a ocorrência da imunossupressão, ocasionada por alterações funcionais de linfócitos e neutrófilos (BOLIN, 1990); este sinal pode causar predisposições ao animal tornando-o susceptível a outros agentes (HOLLAND et al., 1993) como BoHV-1 e *Leptospira* spp. Vale ressaltar que o manejo sanitário para a prevenção da infecção por esses agentes apresentam pontos semelhantes, inclusive existe no mercado vacina com combinação de proteção para esses agentes; é provável que a falha na prevenção de algum desses agentes implique na predisposição para o BoHV-1, BVDV ou *Leptospira* spp. Com relação ao tamanho de rebanho, diversos estudos tem demonstrado que o

maior número de animais favorece a disseminação dos agentes nos rebanhos (DIAS et al., 2008; SILVA et al., 2012; ALMEIDA et al., 2013).

6.4 Distribuição espacial dos rebanhos positivos para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp.

Na distribuição espacial dos rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, no estado do Maranhão, é possível observar na Figura 7, que o número de rebanhos positivos na sorologia para o BoHV-1, BVDV, BTV, *Leptospira* spp. e sorovarietade Wolffi apresentam alta prevalência.

Em saúde animal, o conhecimento dos conceitos de tempo e espaço, a aplicação de métodos de análises, têm possibilitado o entendimento da história natural e dinâmica de transmissão de doenças infecciosas, tendo em vista que a disseminação de doenças necessita do contato direto ou indireto entre o agente infeccioso e a população animal suscetível, com base nisso, a proximidade espacial deve ser considerada como um fator importantíssimo na infecção de animais e rebanhos; além de permitir um melhor entendimento sobre sua casualidade e sobre os efeitos da adoção de possíveis medidas de intervenção (PFEIFFER et al., 2008).

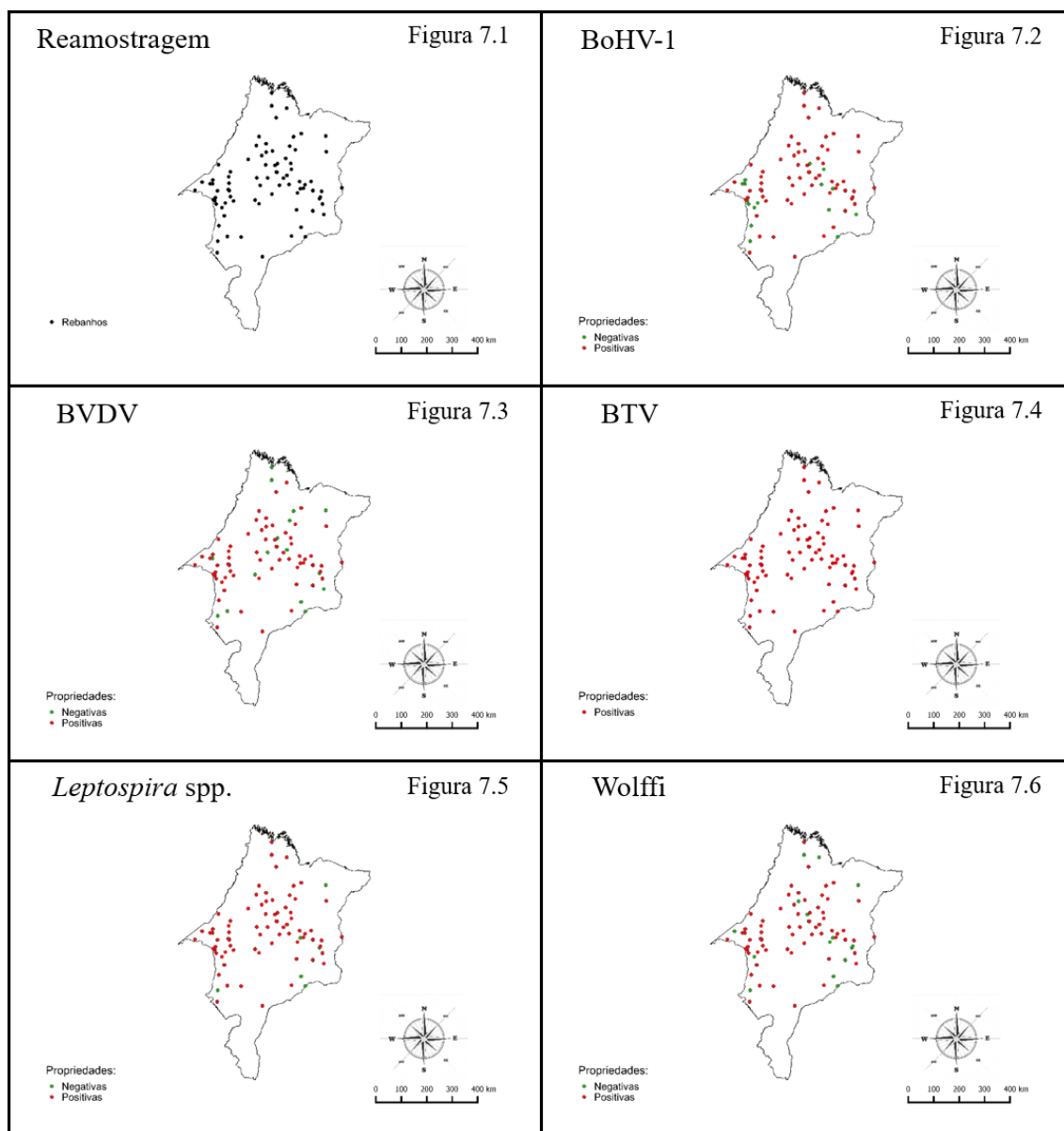


Figura 7 – Distribuição espacial dos rebanhos de estudo (Figura 7.1), rebanhos positivos e negativos para o BoHV-1 (Figura 7.2), BVDV (Figura 7.3), BTV (Figura 7.4), *Leptospira* spp. (Figura 7.5) e sorovarietade Wolffi (Figura 7.6), em bovinos de corte, de alto trânsito animal, Maranhão, 2012.

A análise da função K de Ripley gerou um gráfico, onde as linhas pontilhadas formaram um envelope. Os gráficos da Figura 8, demonstram que não há evidências de aglomerados de rebanhos, pois a linha pontilhada não ultrapassa de forma completa, os limites superior e inferior do envelope, ou seja apresenta uma distribuição espacial aleatória, não houve significância para rebanhos positivos para infecção pelo BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp. (Figura 8), sorovarietades de *Leptospira* e o sorogrupo Serjoe, em relação a formação de agrupamento de rebanhos positivos.

Os resultados da análise espacial demonstram que os rebanhos bovinos, com animais soropositivos para o BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp. encontram-se espalhados de forma homogênea, nos rebanhos de alto trânsito animal, do estado do Maranhão.

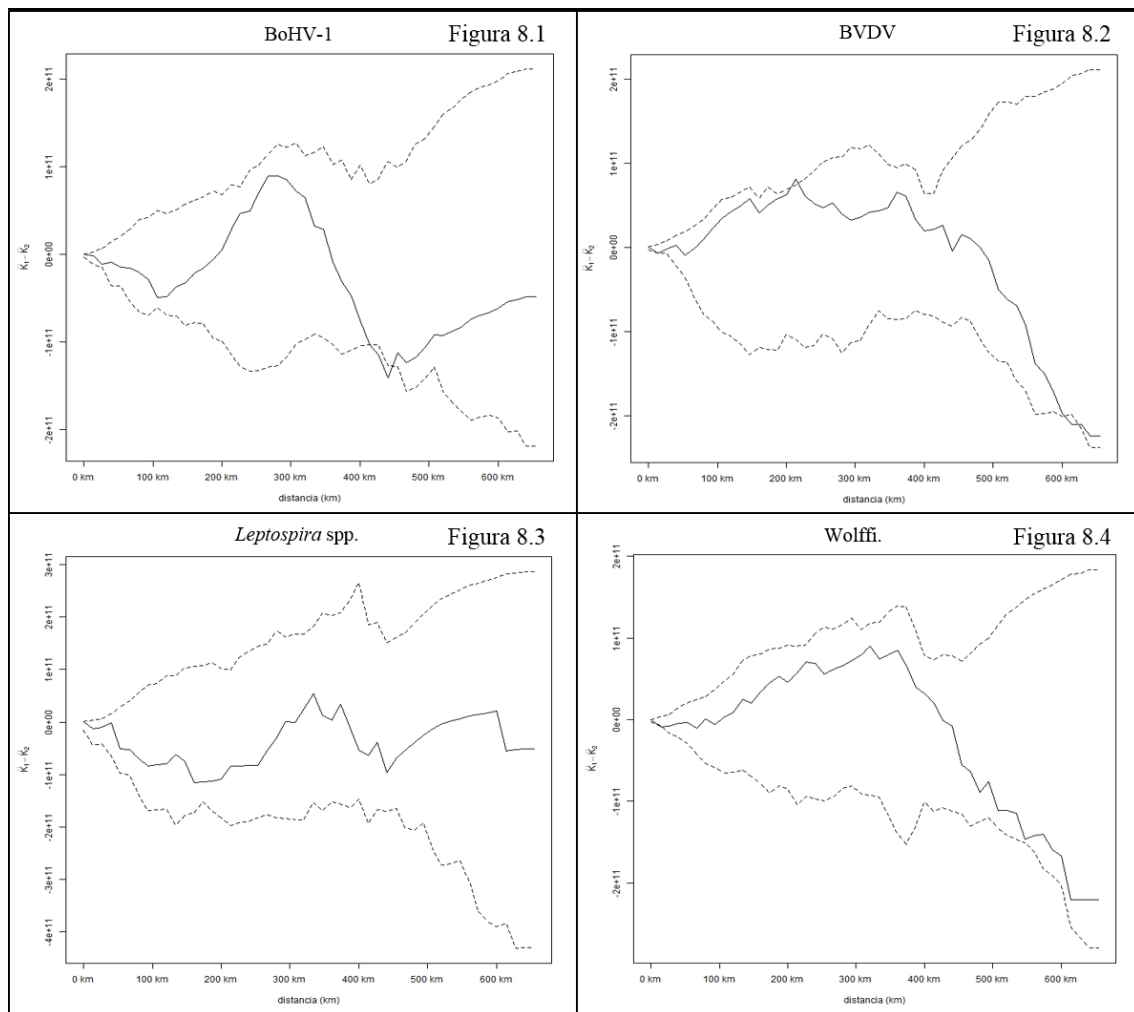


Figura 8 – Diferença entre os valores da função K de Ripley para rebanhos positivos e negativos para o BoHV-1 (Figura 8.1), BVDV (Figura 8.2), *Leptospira* spp. (Figura 8.3) e sorovarietade Wolffi (Figura 8.4) em função da distância em quilômetros.

No estado da Paraíba Thompson et al. (2006), avaliaram o efeito da distribuição espacial hierárquica, nos níveis de rebanho, município e ecorregião, para a ocorrência da infecção por BoHV-1, BVDV e *Leptospira interrogans* sorovarietade Hardjo; e observaram que a soroprevalência para o BoHV-1 variou muito pouco entre os níveis hierárquico, apresentando efeito muito pequeno; para o BVDV houve uma maior variação entre os rebanhos; já para *Leptospira interrogans* sorovarietade Hardjo variaram em todos os níveis, e relacionaram esse efeito devido a fatores ecológicos, como a umidade. Tocantins et al. (2011), em Cáceres, Mato Grosso do Sul, observaram que a leptospirose bovina não ocorreu aleatoriamente na região, e observaram um maior risco epidemiológico de transmissão da doença em áreas de maiores inundações. As diferenças entre os estudos podem estar mais relacionadas as diferenças regionais e ambientais entre as áreas de estudo.

7. Conclusões

Com base nos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que a infecção nos rebanhos bovinos de corte, de alto trânsito animal, no estado do Maranhão;

- ❖ O BoHV-1, BVBV, VLA e *Leptospira* spp. apresentam alta prevalência e ampla distribuição espacial.
- ❖ A presença de rebanhos com títulos igual ou acima de 128 e 160 para o BoHV-1 e BVDV, respectivamente, implica na manutenção desses dois agentes nos rebanhos.
- ❖ A frequência em animais, para BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. é alta, enquanto que para o BTV é altíssima.
- ❖ A sorovariedade de maior prevalência nos rebanhos e de maior frequências nos animais foi a Wolffi.
- ❖ Houve associação entre o tamanho de rebanho com a positividade dos rebanhos para o BVDV bem como para rebanhos com títulos maior ou igual a 160 do mesmo agente; o mesmo ocorreu para *Leptospira* spp., as sorovariedades Wolffi, Australis e o sorogrupo Serjoe.
- ❖ Houve associação da faixa etária de animais com idade maior que 12 meses e até 24 meses, com a soropositividade para o BoHV-1 e BVDV e para animais com títulos iguais ou superiores a 128 para o BoHV-1 e com títulos iguais ou superiores à 160 para o BVDV, assim como também para soropositividade para *Leptospira* spp., para a sorovariedade Wolffi e para o sorogrupo Serjoe.
- ❖ A análise de correspondência múltipla mostrou associação entre a ocorrência das infecções por BoHV-1, BVDV e *Leptospira* spp nos rebanhos, associados também a rebanhos com mais de 300 animais.
- ❖ Não houve formação de aglomerados de rebanhos positivos, nos rebanhos de estudo.

8. Considerações Finais

Os resultados encontrados para o BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. no estado do Maranhão, demonstra a necessidade da elaboração de medidas profiláticas por parte dos órgãos competentes.

A ocorrência da infecção ativa para o BoHV-1 e BVDV em animais jovens, demonstra que os cuidados relacionados a medidas profiláticas devem ocorrer já nesta fase e não apenas na idade reprodutiva.

O resultado encontrado para a sorovarietade Wolffi no estado do Maranhão, demonstra a necessidade de um estudo mais amplo e aprofundado com o intuito de se isolar esta sorovarietade, bem como a busca posterior, das possíveis explicações para esta condição epidemiológica distinta, quando comparada a outras regiões do país.

9. Referências Bibliográficas

- ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. (3-4), p. 287-296, 2010.
- AFFONSO, I. B.; AMORIL, J. G.; ALEXANDRINO, B.; BUZINARO, M. G.; MEDEIROS, A. S. R.; SAMARA, S. I. Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) nas dez regiões de planejamento do Estado de Goiás, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 4, p. 892-898, out./dez. 2010.
- AFSHAR, A.; THOMAS, F.C.; WRIGHT, P.F.; SHAPIRO, J.L.; ANDERSON, J. Comparison of competitive ELISA, indirect ELISA and standard AGID tests for detecting blue-tongue virus antibodies in cattle and sheep. **The Veterinary Record**, v.124, n.6, p.136-41, 1989.
- AGUIAR, D. M.; GENNARI, S. M.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; VASCONCELLOS, S. A.; RODRIGUES, A. A. R.; MORAES, Z. M.; CAMARGO, L. M. A. Seroprevalence of *Leptospira* spp in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 102-104, 2006.
- ALICE, J.F. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), no Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v.38, n.4, p. 919-920, 1978.
- ALMEIDA, L.L.; MIRANDA, I.C.S.; HEIN, H.E.; SANTIAGO NETO, W.; COSTA, E.F.; MARKS, F.S.; RODENBUSCH, C.R; CANAL, C.W.; CORBELLINI, L.G. Herd-level risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds from Southern Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.95, n.3, p 901-907, 2013.
- ALONSO ANDICOBERRY, C.; GARCIA PENA, F. J.; PEREIRA BUENO, J.; COSTAS, E.; ORTEGA MORA, L. M. Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 52, n. 2, p. 109-117, 2001a.
- ALONSO ANDICOBERRY, C.; GARCIA PENA, F. J.; COSTAS, E.; ORTEGA MORA, L. M. Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina (Revisión). **Investigación Agraria. Producción y Sanidad Animales**, v. 16, n. 2, p. 205-225, 2001b.
- ALVES, F.A.L.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; SILVA, W.W.; SILVA, M.L.C.R.; LOBATO, Z.I.P.; CLEMENTINO, I.J. Soroprevalência e fatores de risco para a língua azul em carneiros das mesorregiões do Sertão e da Borborema, semi-árido do Estado da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.484-489, 2009.
- ARAGON, T. J.; FAY, M. P.; WOLLSCHLAEGER, D. 2012. **epitools: Epidemiology Tools**. R package version 0.5-7. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/epitools/index.html>> Acesso em: 3 setembro de 2015.
- BACKX, A.; HEUTINK, R.; VAN ROOIJ, E.; VAN RIJN, P. Transplacental and oral transmission of wild-type bluetongue virus serotype 8 in cattle after experimental infection. **Veterinary Microbiology**, v.138, n.3-4, p.235-243, 2009.
- BAILEY, T. C.; GATRELL, A. C. **Interactive spatial data analysis**. Harlow: Prentice Hall, 1995. 413 p.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. **Veterinary Clinics of North America**, v. 11, n. 3, p. 425-445, 1995.

BARBOSA, A. C. V. C.; BRITO, W. M. E. D.; ALFAIA, B. T. Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) no estado de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1368-1373, 2005.

BARZILAI, E.; TADMOR, A. Multiplication of bluetongue virus in goats following experimental infection. **Refuah Veterinarith**, v.23, p.11–20, 1971.

BAUERMANN, F.V.; RIDPATH, J.F. HoBi-like viruses – the typical ‘atypical bovine pestivirus’. **Animal Health Research Reviews**, v.16, n.1, p.64-69, 2015.

BAXTER, S. I.; POW, I.; BRIDGEN, A.; REID, H. W. PCR detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. **Archives of Virology**, v. 132, p. 145-159, 1993.

BENNETT, R. The ‘Direct Costs’ of Livestock Disease: The Development of a System of Models for the Analysis of 30 Endemic Livestock Diseases in Great Britain. **Journal of Agricultural Economics**, v.54, n. 1, p.55-71, 2003.

BEZERRA, D. C.; CHAVES, N. P.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros da região amazônica maranhense. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.1, p.107-111, 2012a.

BEZERRA, D. C.; CHAVES, N. P.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Prevalência e fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.19, n.3, p.158-162, set./dez. 2012b.

BIVAND, R.; ROWLINGSON, B.; DIGGLE, P.; PETRIS, G.; EGLIN, S. 2015. **splancs: Spatial and Space-Time Point Pattern Analysis**. R package version 2.01-37. Disponível em: < <https://cran.r-project.org/web/packages/splancs/index.html>> Acesso em: 3 setembro de 2015.

BOLIN, S. R. The current understanding about the pathogenesis and clinical forms of BVD. **Veterinary Medicine**, v.85, n.10, p.1124-1132, 1990.

BONNEAU, K. R.; DEMAULA, C. D.; MULLENS, B. A.; MACLACHLAN, N. J. Duration of viremia infectious to *Culicoides sonorensis* in bluetongue virus-infected cattle and sheep. **Veterinary Microbiology**, v.88, n.2 115–125, 2002.

BORBA, M. R. Caracterização epidemiológica da brucelose bovina no estado do Maranhão. São Paulo, 2012. 81f. **Tese** (Pós-graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses). Universidade de São Paulo, USP, 2012.

BORBA, M. R.; STEVENSON, M. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; TELLES, E. O.; SANTANA, S. S.; FERREIRA, J. C. A.; LÔBO, J. R.; FIGUEIREDO, V. C. F.; DIAS, R. A. Prevalence and risk-mapping of bovine brucellosis in Maranhão State, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 110, n. 2, p. 169-176, 2013.

BRASIL, DEPARTAMENTO DE DEFESA ANIMAL. 2013. Projeto de ampliação da zona livre de febre aftosa com vacinação – 2013. Anexo: Estudo soropidemiológico, baseado em risco, para avaliar circulação viral na área proposta para ampliação da zona livre de febre aftosa. Relatório final. Brasília, Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Ago 2013.

- BRITO, W. M. E. D.; ALFAIA, B. T.; CAIXETA, S. P. M. B.; RIBEIRO, A. C. C.; MIRANDA, T. M. T.; BARBOSA, A. C. V. C.; BARTHASSON, D. L.; LINHARES, D. C.; FARIA, B. O. Prevalência da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no estado do Goiás, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.39, n.1, p.7-19, 2010.
- BROWNLIE, J. The pathogenesis of bovine viral diarrhoea virus infections. **Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties**, v.9, n.1, p.43-59, 1990.
- CALDERON, S. J. J.; CORREA, S. V. M.; CORREA, S. J. C.; ISLAS, A. A. Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 57, p. 199-208, 2003.
- CANAL, C. W.; STRASSER, M.; HERTIG, C.; MASUDA, A.; PETERHANS, E. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. **Veterinary Microbiology**, v.63, n.2-4, p.85-97, 1998.
- CARVALHO, L. P. C.; SILVA, F. S. Seasonal abundance of livestock-associated *Culicoides* species in northeastern Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v.28, p. 228-231.
- CASTRO, V.; AZEVEDO, S. S.; GOTTI, T. B.; BATISTA, C. S. A.; GENTILI, J.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G. O.; VASCONCELLOS, S. A.; GENOVEZ, M. E. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 1, p. 3-11, 2008.
- CELEDÓN, M.; SANDOVAL, A.; DROGUETT, J.; CALFIO, R.; PIZARRO, J.; NAVARRO, C. Pesquisa de anticorpos seroneutralizantes para pestivirus y herpesvirus em ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos de Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v.33, n.2, p.165-172, 2001.
- CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região amazônica maranhense, Brasil. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p.1448-1451, 2010.
- CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em bovinos leiteiros não vacinados no estado do MARANHÃO. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.4, p. 495-502, 2012.
- CHIDEROLI, R. T.; PEREIRA, U. P.; GONÇALVES, D. D.; NAKAMURA, A. Y.; ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F.; FREITAS, J. C. Isolation and molecular characterization of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo strain Hardjobovis in the urine of naturally infected cattle in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.15, n.1, 2016.
- CHIEBAO, D. P.; VALADAS, S. Y. O. B.; MINERVINO, A. H. H.; CASTRO, V.; ROMALDINI, A. H. C. N.; CALHAU, A. S.; DE SOUZA, R. A. B.; GENNARI, S. M.; KEID, L. B.; SOARES, R. M. Variables associated with infections of cattle by *Brucella abortus*., *Leptospira* spp. and *Neospora* spp. in Amazon region in Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 62, n. 5, p. 30-36, 2013.
- CLAVIJO, A.; SEPULVEDA, L.; RIVA, J.; PESSOA-SILVA, M.; TAILOR-RUTHES, A.; LOPEZ, J.W. Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America. **The Veterinary Record**, n.151, p.301-302, 2002.
- COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PULSSELY, A. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. **Applied Microbiology**, v.25, n.6, p.976-980, 1973.

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

CORREA, W. V.; NETO, L. Z.; BARROS, H. M. Nota clínico-patológica de uma enfermidade das mucosas em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.35, n.4, p.141-151, 1968.

COSTA, J. R. R. **Língua azul: produção e padronização de antígeno para prova de imunodifusão em gel de ágar e prevalência nas mesorregiões sudoeste e sudeste do estado do Rio Grande do Sul**. 2000. 87f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais.

COSTA, J. R. R.; LOBATO, Z. I. P.; HERRMANN, G. P.; LEITE, R. C.; HADDAD, J. P. A. Prevalência de anticorpos contra o vírus da língua azul em bovinos e ovinos do sudoeste e sudeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.2, p.273-275, 2006.

COWLEY, D. J. B.; CLEGG, T. A.; DOHERTY, M. L.; MORE, S. J. Bovine viral diarrhoea virus seroprevalence and vaccination usage in dairy and beef herds in the Republic of Ireland. **Irish Veterinary Journal**, v.65, n.1, p.1-16, 2012.

CUMBERLAND, P.; EVERARD, C. O. R.; LEVETT, P. N. Assessment of the efficacy of an IgM-ELISA and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 61, n. 5, p. 731-734, 1999.

DARPEL, K. E.; BATTEN, C. A.; VERONESI, E.; WILLIAMSON, S.; ANDERSON, P.; DENNISON, M.; CLIFFORD, S.; SMITH, C.; PHILIPS, L.; BIDEWELL, C.; BACHANEK-BANKOWSKA, K.; SANDERS, A.; BIN-TARIF, A.; WILSON, A. J.; GUBBINS, S.; MERTENS, P. P. C.; OURA, C. A.; MELLOR, P. S. Transplacental transmission of bluetongue virus 8 in cattle, UK. **Emerging Infectious Diseases**, v.15, n.12, p.2025–2028, 2009.

DESMECHT, D.; VANDEN BERGH, R.; SARTELET, A.; LECLERC, M.; MIGNOT, C.; MISSE, F.; SUDRAUD, C.; BERTHEMIN, S.; JOLLY, S.; MOUSSET, B.; LINDEN, A.; COIGNOUL, F.; CASSART, D. Evidence for transplacental transmission of the current wild-type strain of bluetongue virus serotype 8 in cattle. **The Veterinary Record**, v.163, n.2, p.50–52, 2008.

DIAS, F. C.; SAMARA, S. I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.40, n.3, p.161-168, 2003.

DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; MÉDICI, K. C.; FREITAS, J. C.; NETO, J. S. F.; MULLER, E. E. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 161-168, 2008.

DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; FERREIRA-NETO, J. S.; GONÇALVES, V. S. P.; MULLER, E. E. Seroprevalence and Risk Factors of Bovine Herpesvirus 1 Infection in Cattle Herds in the State of Paraná, Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.60, n.1, p.39-47, 2013.

DORNELES, E. M. S.; MORCATTI, F. C.; GUIMARÃES, A. S.; LOBATO, Z. I. P.; LAGE, A. P.; GONÇALVES, V. S. P.; GOUVEIA, A. M. G.; HEINEMANN, M. B. Prevalence of bluetongue virus antibodies in sheep from Distrito Federal, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.4, p.1521-1524, 2012.

DUBOVI, E. J. Genetic diversity and BVDV virus. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.15, n.3, p.155-165, 1992.

- EDWARDS, S. The diagnosis of bovine virus diarrhoea-mucosal disease in cattle. **Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties**, v.9, n.1, p.115-130, 1990.
- ELBERS, A. R. W.; BACKX, A.; EKKER, H. M.; VAN DER SPEK, A. N.; VAN RIJN, P. A. Performance of clinical signs to detect bluetongue virus serotype 8 outbreaks in cattle and sheep during the 2006-epidemic in the Netherlands. **Veterinary Microbiology**, v.129, p.156-162, 2008.
- ELLIS, W. A. 1984. Bovine leptospirosis in the tropics: Prevalence, pathogenesis and control. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 2, n. (1-4), p. 411-421, 1984.
- ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**. v. 10, n. 3, p. 463-478, 1994.
- ENGELS, M.; ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. **Veterinary Microbiology**, v. 53, n. 1-2, p. 3-15, 1996.
- FAINE, S. (Ed). **Guidelines for the control of leptospirosis**. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 1982. 171p.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2nd ed. Medical Science, Melbourne, Australia, 1999, 272p.
- FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. (Eds.). Virus Taxonomy, **VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. London: Elsevier/Academic Press. 2005.
- FAVERO, M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Leptospire bovina – Variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 29-35, 2001.
- FENNER, F. **Veterinary Virology**. 1st ed. Londres: Academic Press, 1987. p. 445, 1987.
- FIGUEIREDO, A. O.; PELLEGRIN, A. O.; GONÇALVES, V. S. P.; FREITAS, E. B.; MONTEIRO, L. A. R. C.; OLIVEIRA, J. M.; OSÓRIO, A. L. A. R. Prevalência e fatores de risco para a leptospire em bovinos de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 375-381, 2009.
- FLANAGAN, M. M.; JOHNSON, S. J. The effects of vaccination of Merino ewes with an attenuated Australian bluetongue virus serotype 23 at different stages of gestation. **Australian Veterinary Journal**, v.72, n.12, p.455-457, 1995.
- FLORES, E. F. Divulgação técnica: Vírus da diarreia viral bovina (BVDV). **Biológico**, v.65, n.1-2, p.3-9, 2003.
- FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P. M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. A infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no Brasil – histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, p.125-134, 2005.
- FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; SPAGNOLO, J.; KUSE, N.; FIORI, C.; SCORTEGAGNA, T.; BARCELLOS, L. J. G.; KREUTZ, L. C. Prevalência de leucose enzoótica bovina, diarreia viral bovina, rinotraqueíte infecciosa e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região Nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.4, p.1102-1106, 2008.

- FRAY, M. D.; PATON, D. J.; ALENIUS, S. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. **Animal Reproduction Science**, v. 60, n. 61, p. 615-627, 2000.
- FREDRIKSEN, B.; SANDVIK, T.; LOKEN, T.; ODEGAARD, S. A. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. **Veterinary Record**, London, v.144, p.111-114, 1999.
- FREITAS, E. J. P.; LOPES, C. E. R.; MOURA FILHO, J. M.; SÁ, J. S.; SANTOS, H. P., PEREIRA, H. M. Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1301-1310, maio/jun. 2014.
- GALVÃO, C. L.; DORIA, J. D.; ALICE, F. J. Anticorpos neutralizantes para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos, em bovinos do Brasil. **Boletim do Instituto Biológico da Bahia**, v. 6, n. 1, p. 15-25, 1962/1963.
- GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of microtechnique to the agglutination test leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v.13, 81-85, 1965.
- GIBBS, E. P. J.; GREINNER, E. C. Bluetongue and epizootic hemorrhagic disease In: The Arbovirus Epidemiology and Ecology. Flórida: T.P. Mpnath Ed, CRC Press Inc, v.3, p. 39-70, 1988.
- GIBBS, E. P. J.; GREINER, E. C. The epidemiology of bluetongue. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.17, p.207-220, 1994.
- GIBBS, E. P. J.; RWEYEMANN, M. M. Bovine herpesviruses. Part I. Bovine herpesvirus 1. **Veterinary Bulletin**, v. 47, n. 5, 1977.
- GREENACRE, M. J.; BLASIUS, J. **Correspondence Analyses and Related Methods**. Boca Raton, FL: Chaman & Hall, 2006.
- GROOMS, D. L. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. **Theriogenology**, v. 66, n. 3, p. 624-628, 2006.
- GUIMARÃES, P. L. S. N.; CHAVES, N. S. T.; SILVA, L. A. F.; ACYPRESTE, C. S. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina em bovinos, em regime de criação semi-extensivo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 2, n. 1, p. 35-40, 2001.
- HASHIMOTO, V. Y.; DIAS, J. A.; SPOHR, K. A. H.; SILVA, M. C. P.; ANDRADE, M. G. B.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 99-105, 2012.
- HERRMANN, G. P.; RODRIGUES, R. O.; MACHADO, G.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C. Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n.1, p. 131-138, 2012.
- HOLLAND, R. E.; BEZEK, D. M.; SPRECHER, D. J.; PATTERSON, J. S.; STEFICEK, B. A.; TRAPP, A. L. Investigation of an epizootic of bovine viral diarrhoea virus infection in calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 11, p. 1849-1854, 1993.
- HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; MORAES, Z. M.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Estudo epidemiológico bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 2, p. 173-180, 2001.

- HORZINEK, M. C. Pestivirus-taxonomic perspectives. **Archives of Virology** (Suppl.) v.3, p.1-5, 1991
- HOSMER, J. R.; D. W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York: John Wiley & Sons, 1989. 307 p.
- HOUÉ, H. BVD risk assessment. In: Bovine viral diarrhoea virus diagnosis, management, and control, ed. GOYAL, S.M.; RIPATH, J. F. Blackwell Publishing, Oxford, UK, 2005. p. 35–64.
- IMESC. Instituto Maranhense de Estudos Socioeconômicos e Cartográficos**. Perfil do Maranhão 2006/2007. São Luís, v.1, p.1-194, 2008.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE**, 2012. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=24&i=P>>. Acesso em: 18 junho de 2014.
- JULIANO, R. S.; CHAVES, N. S. T.; SANTOS, C. A.; RAMOS, L. S.; SANTOS, H. Q.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; CORRÊA FILHO, R. A. C. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na Microrregião de Goiânia - GO. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 857-862, 2000.
- JUNQUEIRA, J. R. C.; DE FREITAS, J. C. ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com o BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.3, p.571-480, 2006.
- KLEINBAUM, D. G.; SULLIVAN, K. M.; BARKER, N. D. **A pocket guide to epidemiology**. New York: Springer, 2007. 253 p.
- KONRAD, P. A.; RODRIGUES, R. O.; CHAGAS, A. C. P.; PAZ, G. F.; LEITE, R. C. Anticorpos contra o vírus da Língua Azul em bovinos leiteiros de Minas Gerais e associações com problemas reprodutivos. **Revista da FZVA**, v.10, n.1, p. 117-125, Uruguaiana, 2003.
- KOUMBATI, M.; MANGANA, O.; NOMIKOU, K.; MELLOR, P.S.; PAPADOPOULOS, O. Duration of bluetongue viremia and serological responses in experimentally infected European breeds of sheep and goats. **Veterinary Microbiology**, v.64, n.4, p.277–285, 1999.
- KRAMPS, J. A.; MAANEN, C. V.; WETERING, G. V.; 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. **Veterinary Microbiology**, v. 64, n. 2-3, p. 135-144, 1999.
- LAGE, A. P.; LEITE, R. M. H.; THOMPSON, J. A.; BANDEIRA, D. A.; HERRMANN, G. P.; MOREIRA, E. C.; GONÇALVES, V. S. P. Serology for *Leptospira* sp. In cattle of the state of Paraíba, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p. 185-190, 2007.
- LANGONI, H., DE SOUZA, L. C.; DA SILVA, A. V.; LUVIZOTTO, M. C.; PAES, A. C. LUCHEIS, S. B. Incidence of leptospiral abortion in Brazilian dairy cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 40, n.(3-4), p. 271–275, 1999.
- LANGONI, H.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; CABRAL, K. G.; DA SILVA, A. V. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, n. 1, p. 37-41, 2000.

- LAWSON, R. Small sample confidence intervals for the Odds Ratio. **Communications in Statistics - Simulation and Computation**, v. 33, n. 4, p. 1095-1113, 2004.
- LEMAIRE, M.; PASTORET, P. P.; THIRY, E. Le contrôle de l'infection par Le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. **Annales de Médecine Vétérinaire**, v. 138, n. 3, p. 167-180, 1994.
- LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 296-326, 2001.
- LISS, B.; FREY, H. R.; KITTSTEINER, H.; BAUMANN, F.; NEUMANN, N. Beobachtungen und Untersuchungen über die "Mucosal Disease" des Rindes. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Hannover, v.81, p.477-500, 1974.
- LINDBERG, A. L. E. Bovine viral Diarrhoea virus infections and its control. A review. **Veterinary Quarterly**, v.25, n.1, p.1-16, 2003.
- LOBATO, Z. I. P. Vírus de língua azul: construção de recombinantes em vírus vaccinia e resposta imune. 1996. 200f. **Tese (Doutorado)**- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LOBATO, Z. I. P. Língua Azul: a doença nos bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.4, p.515-523, 1999.
- LOVATO, L. T.; WEIBLEIN, R.; TOBIAS, F. L.; MORAES M. P. Herpesvírus Bovino tipo 1 (BHV-1): inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, p. 425-430, 1995.
- LUEDKE, A. J.; ANAKWENZE, E. I. Bluetongue virus in goats. **American Journal of Veterinary Research**, v.33, n.9, p.1739-1745, 1972.
- MACLACHLAN, N. J.; DREW, C. P.; DARPEL, K. E.; WORWA, G. The Pathology and Pathogenesis of Bluetongue. **Journal of Comparative Pathology**, v.141, p.1-16, 2009.
- MARTINS, G. A.; MARTINS FILHO, R.; LIMA, F. A. M.; LÔBO, R. N. B. Influência de Fatores Genéticos e de Meio sobre o Crescimento de Bovinos da Raça Nelore no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 103-107, 2000.
- MARTINS, G.; PENNA, B.; LILENBAUM, W. Maintenance of Leptospira infection in cattle under tropical conditions. **The Veterinary Record**, v. 167, n. 16, p. 629-630, 2010.
- McCLURKIN, A. W.; CORIA, M. F.; CUTLIP, R. C. Reproductive performance of apparently healthy cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.174, n.10, p.1116-1119, 1979.
- McDERMOTT, J. J.; KADOHIRA, M.; O'CALLAGHAN, C. H.; SHOUKRI, M. M. A comparison of different models for assessing variations in the seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis by farm, area and district in Kenya. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 32, n. (3-4), p. 219-234, 1997.
- MELLOR, P. S.; BOORMAN, J.; BAYLIS, M. Culicoides Biting Midges: their role as arbovirus vectors. **Annual Review of Entomology**, v.45, p.307-340, 2000.
- MELO, C. B.; OLIVEIRA, A. M.; AZEVEDO, E. O.; LOBATO, Z. I. P.; LEITE, R. C. Anticorpos contra o vírus da Língua Azul em bovinos do sertão da Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n.1, Belo Horizonte, 2000.

- MELO, C. B.; LOBATO, Z. I. P.; CAMARGOS, M. F.; SOUZA, G. N.; MARTINS, N. R. S.; LEITE, R. C. Distribuição de anticorpos para o herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.6, p.575-580, 2002.
- MELVILLE, L. F.; HUNT, N. T.; DAVIS, S. S.; WEIR, R. P. Bluetongue virus does not persist in naturally infected cattle. **Veterinaria Italiana**, v.40, n.4, p.502-507, 2004.
- MENZIES, F. D.; MCCULLOUGH, S. J.; MCKEOWN, I. M.; FORSTER, J. L.; JESS, S.; BATTEN, C.; MURCHIE, A. K.; GLOSTER, J.; FALLOWS, J. G.; PELGRIM, W.; MELLOR, P. S.; OURA, C. A. L. Evidence for transplacental and contact transmission of bluetongue virus in cattle. **Veterinary Record**, v.163, n.7, p.203-209, 2008.
- METZLER, A. E.; SCHUDEL, A. A.; ENGELS, M. Bovine herpesvirus type 1: molecular and antigenic characteristics of variant viruses isolated from calves with neurological disease. **Archives of Virology**, v. 87, p. 205-217, 1986.
- MILLER, J. M. The effects of IBR virus infections on reproductive function of cattle. **Veterinary Medicine**, v. 86, n. 1, p.790-794, 1991.
- MINEIRO, A. L. B. B.; BEZERRA, E. E. A.; VASCONCELLOS, S. A.; COSTA, F. A. L.; MACEDO, N. A. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1103-1109, 2007.
- MOTA, I. O.; CASTRO, R. S.; ALENCAR, S. P.; LOBATO, Z. I. P.; LIMA FILHO, C. D. F.; ARAÚJO SILVA, T. L.; DUTRA, A. C. T.; NASCIMENTO, S. A. Anticorpos contra vírus do grupo da língua azul em caprinos e ovinos do sertão de Pernambuco e inferências sobre sua epidemiologia em regiões semiáridas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.6, p.1595-1598, 2011.
- MUELLER, S. B. K.; IKUNO, A. A.; CAMPOS, M. T. G. R.; RIBEIRO, L. O. C. Isolamento e identificação do vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos de um rim de feto de bovino (IPV/IBR). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 45, n. 3, p. 187-190, 1978.
- MUGHINI-GRAS, L.; BONFANTI, L.; NATALE, A.; COMIN, A.; FERRONATO, A.; LA GRECA, E.; PATREGNANI, T.; LUCCHESI, L.; MARANGON, S. Application of an integrated outbreak management plan for the control of leptospirosis in dairy cattle herds. **Epidemiology and Infection**, v. 142, n. 6, p. 1172-1181, 2013.
- MURRAY, G. L.; LO, M.; BULACH, D. M.; SRIKRAM, A.; SEEMANN, T.; N. S. QUINSEY, N. S.; SERMSWAN, R. W.; ALLEN, A.; ADLER, B. Evaluation of 238 antigens of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo for protection against kidney colonization. **Vaccine**, v. 31, n. 3, p. 495-499, 2013.
- NIANG, M.; WILL, L. A.; KANE, M.; DIALLO, A. A.; HUSSAIN, M. Seroprevalence of leptospiral antibodies among dairy cattle kept in communal corrals in periurban areas of Bamako, Mali, West Africa. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 18, n. 4, p. 259-265, 1994.
- NICOLINO, R. R.; LOPES, L. B.; RODRIGUES, R. O.; TEIXEIRA, J. F. B.; HADDAD, J. P. A. Prevalence and spatial analysis of antileptospiral agglutinins in dairy cattle – Microregion of Sete Lagoas, Minas Gerais, 2009/2010. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 3, p. 648-654, 2014.
- NOGUEIRA, A. H. C.; PITUCO, E. M.; STEFANO, E.; CURCI, V. C. L. M.; CARDOSO, T. C. Detecção de anticorpos contra o vírus da língua azul em ovinos na região de Araçatuba, São Paulo, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.4, p.1271-1276, 2009.

NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C. M.; GRAAT, E. A. M. 1997. Application of quantitative methods in veterinary epidemiology. **Wageningen Press**, Wageningen. 445p

OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Bluetongue. Língua Azul. 2002. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/maladies/fiches/a_A090.htm> Acesso em: 10 junho de 2014.

OIE. WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2008. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.08_BVD.pdf> Acesso em: 18 junho de 2014.

OIE. WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2009. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.01.03_BLUETNGUE.pdf> Acesso em: 18 junho de 2014.

OIE. WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2010. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.13_IBR_IPV.pdf> Acesso em: 18 junho de 2014.

OLIVEIRA, F. C. S.; AZEVEDO, S. S.; PINHEIRO, S. R.; BATISTA, C. S. A.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G. O.; GONÇALES, A. P.; VASCONCELLOS, S. A. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 398-402, 2010.

OLIVEIRA, F. C. S.; AZEVEDO, S. S.; PINHEIRO, S. R.; VIEGAS, S. A. R. A.; BATISTA, C. S. A.; COELHO, C. P.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G. O.; GONÇALES, A. P.; ALMEIDA, C. A. S.; VASCONCELLOS, S. A. Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado da Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 539-546, 2009.

OSBURN, B. I. Bluetongue virus. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 10, n.3, p. 547-560, 1994.

PEARSON, J.; JOCHIM, M. Protocol for the immunodiffusion test for bluetongue. **Veterinary Diagnostic Laboratory**, v.22, p.463-471, 1979.

PFEIFFER, D. GIS and spatial in Analysis in animal health. In: DURR, P.; GATRELL, A. (Ed.). **GIS and Spatial Analysis in Veterinary Science**. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2008. p. 119-144.

PELLEGRIN, A. O.; GUIMARÃES, P. H. S.; SERENO, J. R. B.; FIGUEIREDO J. P.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C. Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. **Comunicado Técnico 22, Embrapa Pantanal**, Corumbá, p.1-9, 1999.

PEREIRA, M. H., COOKE, R. F.; ALFIERI, A. A.; J. L. VASCONCELOS, J. L. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to AI. **Animal Reproduction Science**, v. 137, n. (3-4), p. 156-162, 2013.

PESCADOR, C. A.; CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; GONÇALVES, R. K.; CRUZ, C. E. F. Neurological disorder associated with pestivirus infection in sheep in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, p. 935-938, 2004.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. **Microbes and Infection**, Paris. v. 2, n. 1, p. 1265-1276, 2000.

POLETTI, R.; KREUTZ, L. C.; GONZALES, J. C.; BARCELLOS, L. J. G. Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 595-598, 2004.

QGIS DEVELOPMENT TEAM. 2015. **QGIS Geographic Information System**. Open Source Geospatial Foundation Project. Disponível em: <<http://qgis.osgeo.org/en/site/>> Acesso em: 5 julho de 2015.

QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; VIDOR, T.; BROD, C. S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.

R CORE TEAM. 2015. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>> Acesso em: 3 setembro de 2015.

REED, L. J.; MUENCH, H. A simple method of estimating 50 per cent end point. **American Journal of Hygiene**, v. 27, p. 493-497, 1938.

REVELL, S. G.; CHASEY, D.; DREW, T. W.; EDWARDS, S. Some observations on the semen of bulls persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Record**, London, v.123, p.122-125, 1988.

RIBEIRO, M.B.; GALVÃO, C.L.; COSTA, A.R.; RODRIGUES, F.M.; SUZART, J.C.C. Infecções pelo vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina / vulvovaginite pustular infecciosa, diarreia viral bovina e parainfluenza 3 detectadas por meio de avaliação sorológica no Estado da Bahia. Salvador: **EPABA**, 1987 (Boletim n.11).

RICHARDSON, C. C.; TAYLOR, W. W. P.; TERLECKI, S. S.; GIBBS, E. E. P. Observations on transplacental infection with bluetongue virus in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v.46, n.9, p.1912-1922, 1985.

RICHTZENHAIN, L.J.; BARBARINI, O.; UMEHARA, O.; DE GRACIA, A.S.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B.; FERREIRA, F. Rinotraqueíte infecciosa bovina: levantamento sorológico nos estados de Minas Geras, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v.66, n.1, p.83-88, 1999a.

RICHTZENHAIN, L.J.; BARBARINI, O.; UMEHARA, O.; DE GRACIA, A.S.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B.; FERREIRA, F.; SOARES, R.M. Diarreia viral bovina: levantamento sorológico nos estados de Minas Geras, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v.66, n.1, p.107-111, 1999b.

RIDPATH, J. F.; BOLIN, S. R.; DUBOVI, E. J. Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes. **Virology**, v. 205, n. 1, p. 66-74, 1994.

ROCHA, M. A.; GOUVEIA, A. M. G., LOBATO, Z. I. P.; LEITE, R. C. Pesquisa de anticorpos para IBR em amostragem de demanda no estado de Minas Gerais, 1990-1999. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.645-647, 2001.

- RODRIGUES, C. G.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C. Leptospirose bovina: Sorologia na bacia leiteira da região de Londrina, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, p. 309-314, 1999.
- ROHRBACH, B. W.; WARD, D. A.; HENDRIX, D. V.; CAWRSE-FOSS, M.; MOYERS, T. D. Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 3, p. 171-179, 2005.
- SAEGERMAN, C.; BOLKAERTS, B.; BARICALLA, C.; RAES, M.; WIGGERS, L.; DE LEEUW, I.; VANDENBUSSCHE, F.; ZIMMER, J. Y.; HAUBRUGE, E.; CASSART, D. The impact of naturally-occurring, trans-placental bluetongue virus serotype 8 infection on reproductive performance in sheep. **Veterinary Journal**, v.187, n.1, p.72-80, 2011.
- SANTMAN-BERENDS, I. M. G. A.; VAN WUIJCKHUISE, L.; VELLEMA, P.; VAN RIJN, P. A. Vertical transmission of bluetongue virus serotype 8 in Dutch dairy herds in 2007. **Veterinary Microbiology**, v.141, n.1-2, p.31-35, 2010.
- SANTOS, M. R.; FERREIRA, H. C. C.; SANTOS, M. A.; SARAIVA, G. L.; TAFURI, N. F.; SANTOS, G. M.; TOBIAS, F. L.; MOREIRA, M. A. S.; ALMEIDA, M. R.; SILVA JÚNIOR, A. Antibodies against bovine herpesvirus 1 in dairy herds in the state of Espírito Santo, Brasil. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 280-283, 2014.
- SELLERS, R. F.; TAYLOR, W. P. Epidemiology of bluetongue and the import and export of livestock, semen and embryos. **Bulletin of Office international des Epizooties**, v.92, p.587-592, 1980.
- SERGEANT, E. S. G. **Epitools epidemiological calculators**. AusVet Animal Health Services and Australian Biosecurity Cooperative Research Centre for Emerging Infectious Disease, 2014. Disponível em: < <http://epitools.ausvet.com.au> > Acesso em: 3 setembro de 2014.
- SILVA, F. J.; CONCEIÇÃO, W. L. F.; FAGLIARE, J. J.; GIRIO, R. J. S.; DIAS, R. A.; BORBA, M. R.; MATHIAS, L. A. Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 303-312, 2012.
- SILVA, L. F.; DIEHL, D. G.; CILENTO, M. C.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Cobaias como modelo para teste de vacinas inativadas contra o herpesvírus bovino tipo 1 e o vírus da diarréia viral bovina. **Ciência Rural**, v.37, n.4, p.1060-1065, 2007a.
- SILVA, L. F.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Imunogenicidade de vacinas comerciais inativadas contra o herpesvírus bovino tipo 1. **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1471-1474, 2007b.
- SMITH, D. R. **Veterinary clinical epidemiology: A problem oriented approach**. Buenos Aires-Argentina: University of Illinois E.U.A., 1990.
- SOUSA, V. E.; BEZERRA, D. C.; CHAVES, N. P.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. 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**, v.35, n.1, p. 21-25, 2013.
- STATA CORP. 2011. **Stata: Release 12**. Statistical Software. College Station, TX: StataCorp LP.
- STERNBERG LEWERIN, S.; HALLGREN, G.; MIEZIEWSKA, K.; TREIBERG, BERNDTSSON, L. T.; CHIRICO, J.; ELVANDER, M. Infection with bluetongue virus serotype 8 in Sweden in 2008. **The Veterinary Record**, v.167, n.5, p.165-170, 2010.

- STRAUB, O. C. BHV-1 Infectious: Relevance and spread in Europe. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.14, n.2, p.175-186, 1991.
- SUEPAUL, S. M.; CARRINGTON, C. V.; CAMPBELL, M.; BORDE, G.; A. ADESIYUN, A. A. Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. **Tropical Animal Health and Production**, v. 43, n. 2, p. 367-375, 2011.
- SZYFRES, B. Leptospirosis an animal and public health problem in Latin America and the Caribbean Area. **Bulletin of the Panamerican Health Organization**, Washington, v. 10, n. 2, p. 110-125, 1976.
- TAKIUCHI, E.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Herpesvírus bovino tipo 1: Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnostico. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n.2, p. 203-209, jul./dez. 2001.
- THOMPSON, J. A.; LEITE, R. M. H.; GONÇALVES, V. S.; LEITE, R. C.; BANDEIRA, D. A.; HERRMANN, G. P.; MOREIRA, E. C.; PRADO, P. E.; LOBATO, Z. I.; DE BRITO, C. P., LAGE, A. P. Spatial hierarchical variances and age covariance for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.76, p.290-301, 2006.
- TOCANTINS, S.; SILVA, N.; NEVES, R. J.; CRUZ, C. B. M.; COCHEV, J. S. Spatial analysis of prevalence of anti-leptospira agglutinins and epidemiologic risk in cattle in the Pantanal of Cáceres-MT, Brazil. **Geografia**, v. 36, p. 21-33, 2011.
- TOMICH, R. G. P.; SERRA, C. V.; BOMFIM, M. R. Q.; CAMPOS, F. S.; LOBATO, Z. I. P.; PELLEGRIN, A. O.; PELLEGRIN, L. A.; BARBOSA-STANCIOLI, E. F. Sorodiagnóstico de doenças da reprodução em rebanhos de bovinos leiteiros de assentamentos rurais de Corumbá, MS. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p. 986-991, 2009a.
- TOMICH, R. G. P.; NOGUEIRA, M. F.; LACERDA, A. C. R.; CAMPOS, F. S.; TOMAS, W. M.; HERRERA, H. M.; LIMA-BORGES, P. A.; PELLEGRIN, A. O.; LOBATO, Z. I. P.; SILVA, R. A. M. S.; PELLEGRIN, L. A.; BARBOSA-STANCIOLI, E. F. Sorologia para o vírus da língua azul em bovinos de corte, ovinos e veados campeiros no Pantanal sul-mato-grossense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.5, p.1222-1226, 2009b.
- VAN ENGELENBURG, F. A. C.; MAES, R. K.; VAN OIRSCHOT, J. T.; RIJSEWIJK, F. A. M. Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction of bovine herpesvirus type 1 in bovine semen. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, p. 3129-3135, 1993.
- VAN OIRSCHOT, J. T. The BHV-1- Situation in Europe. In Simpósio Internacional sobre herpesvírus bovino (tipo 1 e 5) e vírus da diarréia viral bovina (BVDV). **Anais...Santa Maria, Santa Maria. RS.** p.69-72, 1998.
- VAN SCHAIK, G.; SCHUKKEN, Y. H.; NIELEN, M.; DIJKHUIZEN, A. A.; BENEDICTUS, G. Risk factors for introduction of BHV1 into BHV1 free dutch dairy farms: a case control study. **Veterinary Quarterly**, London, v. 23, n. 2, p. 71-76, 2001.
- VASCONCELLOS, S. A.; BARBINI JR, O.; UMEHARA, O.; MORAIS, Z. M.; CORTEZ, A., PINHEIRO, S. R.; FERREIRA, F.; FÁVERO, A. C. M.; FERREIRA NETO, J. S. *Leptospira* Bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul. Período de janeiro a abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.64, n.2, p.7-15, 1997.

- VENDITTI, L. L. R. Infecção pelo vírus da língua azul em ovinos e bovinos na região Sudeste do Brasil. São Paulo, 2009. 77f. **Dissertação** (Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio). Instituto Biológico, USP, 2009.
- VIDOR, T.; HALFEN, D. C.; LEITE, T. E.; COSWIG, L. T. Herpes Bovino tipo 1 (BHV-1) I. Sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, p. 421-424, 1995.
- VIEIRA, S.; BRITO, W. M. E. D.; SOUZA, W. J.; ALFAIA, B. T.; LINHARES, D. C. L. Anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (BoHV-1) em bovinos do estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 4, n. 2, p. 131-137, jul./dez. 2003.
- VOGEL, F. S. F.; SCHERER, C. F. C.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; LIMA, M.; KUNRATH, C. F. Resposta sorológica e avaliação de proteção fetal em ovelhas prenhes vacinadas contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, p.831-838, 2001.
- WARD, M. P.; CARPENTER, T. E.; OSBURN, B. I. Host factors affecting seroprevalence of bluetongue virus infections of cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.55, n.7, p. 916-920, 1994.
- WEINSTOCK, D.; BHUDEVI, B.; ANTHONY, E. C. Single-tube single-reverse transcriptase PCR assay for detection of bovine viral diarrhoea virus in pooled bovine serum. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, p.343-346, 2001.
- WILSON, A.; DARPEL, K.; MELLOR, P. S. Where does bluetongue virus sleep in the winter? **PLOS Biology**, v.6, n.08, p.1612-1617, 2008.
- WITTMANN, E. T.; BAYLIS, M. Climate change: effects on Culicoides – transmitted viruses and implication for UK. **Veterinary Journal**, v.160, p.107-117, 2000.
- WIZIGMANN, G.; VIDOR, T.; RICCI, Z. M. T. Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus PI-3, IBR e diarreia a vírus-enfermidade das mucosas no Estado do Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, v.1, p.52-58, 1971.
- WYLER, R.; ENGELS, M.; SCHWYZR, M. Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV-1). In: WITTMANN, G. Herpesvirus diseases of cattle, horses and pigs. Boston: **Kluwer Academic Publishers**, p. 1-72, 1989.
- ZAR, J. H. Bioestatistical analysis. 3rd.ed. **Prentice Hall**, New Jersey, 1996.

