

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

JANA KELLY DOS SANTOS

**SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR ALFAHERPESVIRUS BOVINO 1
(BoAHV-1), VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV), VÍRUS DE
SCHMALLEMBERG (SBV) E *Leptospira* spp. EM BOVINOS NO ESTADO DE
ALAGOAS, BRASIL**

Recife, 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

JANA KELLY DOS SANTOS

**SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR ALPHAHERPESVIRUS BOVINO 1
(BoAHV-1), VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV), VÍRUS DE
SCHMALLEMBERG (SBV) E *Leptospira* spp. EM BOVINOS NO ESTADO DE
ALAGOAS, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior

Coorientadora: Prof^a Dra. Elizabeth Sampaio de Medeiros

Recife, 2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S237s Santos, Jana Kelly dos
SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR ALPHAHERPESVIRUS BOVINO 1 (BoAHV-1), VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV), VÍRUS DE SCHMALLEMBERG (SBV) E Leptospira spp. EM / Jana Kelly dos Santos. - 2023.
105 f.
- Orientador: Jose Wilton Pinheiro Junior.
Coorientadora: Elizabeth Sampaio de Medeiros.
Inclui referências.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2023.
1. aborto. 2. emergente. 3. latência. 4. sorologia. 5. vetor. I. Junior, Jose Wilton Pinheiro, orient. II. Medeiros, Elizabeth Sampaio de, coorient. III. Título

FOLHA DE APROVAÇÃO

Soroprevalência da infecção por alphaherpesvirus bovino 1 (BoAHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus De Schmallenberg (SBV) e *Leptospira* Spp. em bovinos no estado de Alagoas, Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutora em Biociência Animal, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central desta universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas as normas de ética científica.

Jana Kelly dos Santos

Data de aprovação ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior (Orientador)

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota (Membro Titular)

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Carvalho Maia (Membro Titular)

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof^a. Dr^a. Karla Patrícia Chaves da Silva (Membro Titular)

Universidade Federal de Alagoas – UFAL

Dr. Alonso Pereira Silva Filho (Membro Titular)

Universidade Federal de Alagoas – UFAL

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida e por sempre estar comigo;

À minha família, especialmente minha mãe Helena, meu esposo Artur, minha filha Analli e meu filho Jonas, pela compreensão e apoio incondicional, principalmente nos dias de luta;

Ao Instituto Federal de Alagoas, em especial o *Campus* Satuba e aos amigos do Departamento de Gestão em Agropecuária pela parceria e pelo incentivo;

A todos os professores da UFAL, UFRB e UFRPE que contribuíram para a minha formação;

À minha primeira orientadora/coorientadora Profa. Elizabeth Sampaio pelo cuidado e importante orientação inicial;

Ao meu orientador Prof. Wilton Junior, primeiramente pelo aceite no momento de migração de orientador, pela oportunidade, compreensão, paciência e pelo direcionamento sempre técnico em todo o processo;

À Profa. Karla Patrícia, pela inspiração e pela ajuda na viabilização da pesquisa;

Aos fiscais da Adeal Dra. Rosa e Dr. Luiz André pelo auxílio na obtenção das amostras;

À equipe do Laboratório de Viroses-UFRPE, em especial, ao residente Davi Soares e ao técnico em laboratório Dr. Sérgio pelo auxílio na realização dos testes diagnósticos;

À equipe do Laboratório de Bacterioses-UFRPE pelo ELISA e cELISA, em especial ao Prof. Rinaldo Mota e à doutoranda Nazaré Pinheiro pela ajuda;

À equipe do Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública – Unesp Botucatu, em especial ao Prof. Hélio Langoni, e às residentes Dayane e Carol pela parceria no teste diagnóstico SAM;

A todos os que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização desse sonho.

“Tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

(Ayrton Senna)

LISTA DE SIGLAS

ADEAL	Agência de Defesa Agropecuária de Alagoas
BoAHV-1	Alphaherpesvirus Bovino tipo-1
BTV-8	Vírus da Língua Azul sorotipo-8
BVDV	Vírus da Diarreia Viral Bovina
DIVA	Diferenciando animais infectados de animais vacinados
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DTN	Doença Tropical Negligenciada
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
IBR	Rinotraqueíte infecciosa bovina
ICTV	Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus
IPB	Balanopostite Pustular Infecciosa
IPV	Vulvovaginite Pustular Infecciosa
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OR	Razão de chances
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PI	Persistentemente infectado
RNA	Ácido ribonucléico
RT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase via Transcriptase reversa
SAM	Soroaglutinação Microscópica
SBV	Vírus de Schmallerberg
SN	Soroneutralização
WOAH	Organização Mundial de Saúde Animal

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa realizar um estudo de soroprevalência das infecções por Alphaherpesvirus Bovino 1 (BoAHV-1), Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), Vírus de Schmallerberg (SBV) e *Leptospira* spp. em bovinos criados no Estado de Alagoas, Brasil. Foram analisadas 460 amostras da soroteca de Agência de Defesa Agropecuária de Alagoas (ADEAL), procedentes de bovinos não vacinados de 100 propriedades distribuídas em 99 municípios alagoanos e nas três mesorregiões: Agreste, Leste e Sertão. O diagnóstico sorológico foi realizado com kits comerciais de Ensaio Imunoenzimático (ELISA) indireto para pesquisa de anticorpos anti-BoAHV-1, BVDV e ELISA indireto e competitivo para pesquisa de anticorpos anti-SBV e por meio do teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. Observou-se uma soroprevalência de 75% (345/460) para BoAHV-1, 53,3% (245/460) para BVDV, 36,5% (168/460) para *Leptospira* spp. Observou-se que 0,87% (4/460) das amostras apresentaram-se como suspeitas no ELISA indireto para SBV. Destas, apenas 0,02% (1/460) continuou como suspeita após a realização do ELISA competitivo. Nenhuma amostra foi positiva, o que sugere a não circulação viral nos rebanhos analisados. A variação da prevalência por propriedade em cada mesorregião foi de 85,1% (21/24) a 93,8% (46/49) para BoAHV-1; 70,3% (19/27) a 83,3% (20/24) para BVDV e 65,3% (32/49) a 83,3% (20/24) para *Leptospira* spp. Observou-se maior soropositividade para BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp., 61,0% (212/345) e 61,0% (148/245), 52,3% (88/188) respectivamente, nos animais procedentes da mesorregião Leste, com associação significativa para BoAHV-1 e BVDV ($p < 0,005$). A coinfeção de BoAHV-1 e BVDV esteve presente em 45% (206/460) das amostras analisadas, de BoAHV-1 e *Leptospira* spp. em 26,52% (122/460), BVDV e *Leptospira* spp. 20,22% (93/460), e BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. 16,96% (78/460). Os sorovares de *Leptospira* spp. mais prevalentes foram Tarassovi (19,56%; 90/460), Wolffii (15,87%; 73/460), Prajтино (15,22%; 70/460) e Bovis (13,26%; 61/460). Sugere-se a atuação integrada dos órgãos de defesa oficial com a implementação de um programa sanitário específico para as infecções por BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp., visando o monitoramento, a eliminação gradual dos animais positivos, implementação de um programa de vacinação e aplicação de medidas de biossegurança, para minimizar

os impactos econômicos e sanitários nos rebanhos do estado de Alagoas. O fortalecimento de estratégias regionais de vigilância e controle para patógenos emergentes são necessários. A realização constante de estudos epidemiológicos em ruminantes e de detecção do SBV em ruminantes e em vetores é importante para confirmar a circulação do agente e detectá-lo precocemente em caso de introdução no país, minimizando os impactos econômicos e sanitários.

Palavras-chave: aborto; emergente; latência; sorologia; vetor

ABSTRACT

The objective of this research was to conduct a study of the seroprevalence of coexistence by Bovine Alpha herpesvirus 1 (BoAHV-1), Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV), Schmallenberg Virus (SBV) and *Leptospira* spp. in cattle raised in the State of Alagoas, Brazil. A total of 460 samples from the Agricultural Defense Agency of Alagoas (ADEAL) were observed, procedures of unvaccinated cattle from 100 properties distributed in 99 municipalities in Alagoas and in the three mesoregions: Agreste, Leste and Sertão. The serological diagnosis was performed with commercial indirect Immunoenzymatic Assay (ELISA) kits for researching anti-BoAHV-1, BVDV media and indirect and competitive ELISA for researching anti-SBV media and by means of the Microscopic Agglutination Test (SAM) for anti-*Leptospira* spp. suffering research. There was a seroprevalence of 75% (345/460) for BoAHV-1, 53.3% (245/460) for BVDV, 36.5% (168/460) for *Leptospira* spp. It was observed that 0.87% (4/460) of the samples were suspicious in the indirect ELISA for BLS. Of these, only 0.02% (1/460) remain suspected after completion of the competitive ELISA. No sample was positive, which suggests that there was no viral circulation in the analyzed herds. The variation in prevalence by property in each mesoregion ranged from 85.1% (21/24) to 93.8% (46/49) for BoAHV-1; 70.3% (19/27) to 83.3% (20/24) for BVDV and 65.3% (32/49) to 83.3% (20/24) for *Leptospira* spp. There was a higher seropositivity for BoAHV-1, BVDV and *Leptospira* spp., 61.0% (212/345) and 61.0% (148/245), 52.3% (88/188) respectively, in animals from from the East mesoregion, with a significant association for BoAHV-1 and BVDV ($p < 0.005$). Co-infection of BoAHV-1 and BVDV was present in 45% (206/460) of samples of samples, BoAHV-1 and *Leptospira* spp. in 26.52% (122/460), BVDV and *Leptospira* spp. 20.22% (93/460), and BoAHV-1, BVDV and *Leptospira* spp. 16.96% (78/460). The serovars of *Leptospira* spp. most prevalent were Tarassovi (19.56%; 90/460), Wolffi (15.87%; 73/460), Prajino (15.22%; 70/460) and Bovis (13.26%; 61/460) . Suggest the integrated action of the official defense agencies with the implementation of a specific health program for infections by BoAHV-1, BVDV and *Leptospira* spp., aiming at monitoring, the gradual elimination of positive animals, implementation of a vaccination program and application of biosecurity measures, to minimize psychological and health impacts on herds in the state of Alagoas.

Strengthening regional surveillance and control strategies for emerging pathogens is needed. The constant performance of epidemiological studies in ruminants and detection of SBV in ruminants and vectors is important to confirm the circulation of the agent and detect it early in case of introduction in the country, minimizing health and sanitary impacts.

Key-words: abortion; emergente; latency; sorology; diarrhea; vector

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 ALPHAHERPESVIRUS BOVINO 1 – BoAHV-1	16
2.1.1 Importância	16
2.1.2 Agente etiológico	17
2.1.3 Epidemiologia	18
2.1.4 Patogenia e sinais clínicos	20
2.1.5 Diagnóstico	23
2.1.6 Prevenção e controle	25
2.2 VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA - BVDV	26
2.2.1 Importância	26
2.2.2 Agente etiológico	27
2.2.3 Epidemiologia	29
2.2.4 Patogenia e sinais clínicos	31
2.2.5 Diagnóstico	33
2.2.6 Prevenção e controle	35
2.3 VÍRUS DE SCHMALLEMBERG - SBV	37
2.3.1 Importância	37
2.3.2 Agente etiológico	38
2.3.3 Epidemiologia	39
2.3.4 Patogenia e sinais clínicos	42
2.3.5 Diagnóstico	44
2.3.6 Prevenção e controle	45
2.4 <i>Leptospira</i> spp.	46
2.4.1 Importância	46
2.4.2 Agente etiológico	47
2.4.3 Epidemiologia	48
2.4.4 Patogenia e sinais clínicos	51
2.4.5 Diagnóstico	52
2.4.6 Prevenção e controle	54
3 OBJETIVOS	56

3.1 GERAL	56
3.2 ESPECÍFICOS	56
REFERÊNCIAS	57
ARTIGO 1	77
ARTIGO 2	98
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	105

1. INTRODUÇÃO

A rinotraqueíte infecciosa bovina, a diarreia viral bovina e a leptospirose são doenças que fazem parte da lista de doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal – WOAAH, diferente da infecção pelo vírus de Schmallerberg (WOAH, 2022), que não consta na lista da WOAAH, assim como na lista de doenças que requerem notificação mensal de qualquer caso confirmado do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2013; WOAAH, 2022).

Alphaherpesvirus Bovino tipo 1 (BoAHV-1), vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e *Leptospira* spp. estão dentre os principais agentes causadores de distúrbios reprodutivos em bovinos em todo o mundo (LANCHEROS-BUITRAGO et al., 2022).

BoAHV-1 pertence à subfamília *Alphaherpesvirinae*, gênero *Varicellovirus* (ICTV, 2019a). Estudos utilizando enzimas de restrição e sequenciamento genômico possibilitaram a divisão do BoAHV-1 em três subtipos, BoAHV-1.1, BoAHV-1.2a e BoAHV-1.2b (COSTA et al., 2017). Diversos estudos sorológicos e de isolamento deste vírus já foram realizados no Brasil (HOLZ et al., 2009; LIMA et al., 2011; BEZERRA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2015b; SILVA et al., 2015).

A infecção por BoAHV-1 pode prejudicar a viabilidade econômica de uma produção (BEZERRA et al., 2012, SOUZA et al., 2018), pois pode resultar nos bovinos uma variabilidade de sinais clínicos associados à enfermidade respiratória (Rinotraqueíte Infecciosa Bovina - IBR), além de conjuntivite, vulvovaginite pustular infecciosa (IPV), balanopostite pustular infecciosa (IPB), absorção embrionária, abortamento, infertilidade temporária, nascimento de animais fracos e infecção multissistêmica fatal dos neonatos (DUARTE; SANTANA, 2018). Destaca-se que a eficiência reprodutiva é o fator que mais impacta a produtividade e a lucratividade de um rebanho (MELO, 2014).

Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) é um *Pestivirus* da família *Flaviviridae* (BECHER; THIEL, 2011). Sabe-se que a infecção por BVDV tem um impacto financeiro significativo, devido à diversidade de sinais clínicos, tais como: lesões orais, ulcerações e erosões no aparelho digestivo, abortos, malformações

congênitas e mortalidade neonatal, cios repetidos, infertilidade ou diminuição da produção de leite (NORONHA; CAMPOS; SARDI, 2003).

Em países livres da febre aftosa, BVDV é considerado o agente viral que mais causa impacto na cadeia produtiva da bovinocultura (FINO et al., 2012). Assim, os programas de controle e erradicação estão se tornando cada vez mais comuns em grande parte do mundo produtor de bovino (LANYON et al., 2014), visto que os custos das atividades nacionais de controle e erradicação do BVDV são inferiores aos prejuízos causados pela sua presença no rebanho (PINIOR et al., 2017).

No Brasil, diversos relatos sorológicos têm demonstrado a ocorrência da infecção em bovinos desde o final dos anos 60 (FLORES, 2005; CHAVES et al., 2012).

O Vírus Schmallerberg (SBV) é um vírus emergente pertencente ao gênero *Orthobunyavirus* e à família *Peribunyaviridae* (ICTV, 2019b), que é transmitido na fazenda por artrópodes principalmente por espécies de mosquitos do gênero *Culicoides* (JIMÉNEZ-RUIZ et al., 2019).

No Brasil não há relato do SBV e não existem estimativas de estudos sobre custos no país caso fosse introduzido, mas a perda média calculada após a infecção pelo SBV na fazenda é estimada em €1.338, entretanto em explorações agrícolas individuais essas perdas podem ser mais elevadas, maior que €8.333 (WÜTHRICH et al., 2016).

Apesar das infecções por Alfarherpesvirus Bovino, Vírus da Diarreia Viral Bovina e por *Leptospira* spp. estarem disseminadas nos rebanhos bovinos brasileiros e necessitarem de medidas de controle mais específicas para minimizar os prejuízos econômicos e sanitários, não existe no país um programa oficial de prevenção controle direcionado para estes patógenos. Considerando ainda que nenhum caso da infecção pelo vírus Schmallerberg foi relatado no Brasil, destaca-se a importância de estudos que visem o monitoramento soropidemiológico e a vigilância dessa enfermidade para detecção precoce em caso de introdução.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ALPHAHERPESVIRUS BOVINO 1 (BoAHV-1)

2.1.1. Importância

A primeira descrição da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) foi na Alemanha durante o século XIX e no Brasil foi registrada inicialmente no estado da Bahia em 1962, sendo BoAHV-1 isolado pela primeira vez em 1978, a partir de pústulas vaginais de vacas (COSTA et al., 2017).

O impacto econômico da infecção por BoAHV-1 tem sido associado à doença respiratória (rinotraqueíte infecciosa bovina, IBR), do trato genital (vulvovaginite/balanopostite pustular infecciosa, IPV/IBP) e está relacionado com o comprometimento no crescimento de animais, na produção leiteira, morte embrionária e fetal, reduzida eficiência reprodutiva de fêmeas e touros, e às restrições ao comércio internacional de animais vivos e seus produtos como sêmen, embriões e produtos de biotecnologia (OKUDA et al., 2006; SILVA et al., 2007).

Estudos econômicos sobre os custos diretos da IBR para a indústria agrícola do Reino Unido foram estimados em até £4 milhões/ano com diminuição de produção de leite de 2,6 kg/dia e de renda de £200/vaca soropositiva (STATHAM; RANDALL; ARCHER, 2015). O custo médio da infecção por BoAHV-1 foi estimado em US\$379 por vaca infectada, considerando a probabilidade de aborto (CAN; ATASEVEN; YALÇIN, 2016). Foram estimados 258.779 abortos decorrentes da infecção por BoAHV-1 e um impacto econômico na pecuária de US\$ 48.402.244,00 (SILVA et al., 2019). Uma redução de 250 litros na produção de leite por vaca múltipara por ano foi identificada em rebanhos positivos para BoAHV-1 (SAYERS, 2017).

BoAHV-1 é um dos principais responsáveis pelo complexo da doença respiratória dos bovinos, conhecida como febre do transporte, especialmente em bovinos estressados, em conjunto com o vírus da diarreia viral bovina (BVDV), parainfluenza 3 e vírus sincicial respiratório bovino, um dos principais responsáveis de morbidade e mortalidade, especialmente em sistemas de confinamento e pode predispor os bovinos infectados à pneumonia secundária (SAYERS, 2017), causada

por *Mannheimia haemolytica* ou *Pasteurella multocida* (MACLACHLAN; DUBOVI, 2017).

Dentre os patógenos infecciosos primários na epidemia do complexo respiratório na China estão BoAHV-1 e BVDV, com a taxa de positividade do BoAHV-1 nos pulmões sendo a mais alta, em 34,38% (ZHOU et al., 2023).

As perdas podem ser contínuas em rebanhos leiteiros, devido às reduções no desempenho relacionadas à produção de leite e menores efeitos sobre a fertilidade e mortalidade do rebanho (SAYER, 2017).

2.1.2. Agente etiológico

Bovine Alphaherpesvirus 1 e *Bovine Alphaherpesvirus 5* (BoAHV-1 e BoAHV-5, respectivamente) são vírus geneticamente e antigenicamente relacionados e pertencentes ao gênero *Varicellovirus*, Subfamília *Alphaherpesvirinae*, Herpesviridae, Ordem *Herpesvirales*, Classe *Herviviricetes*, Filo *Peploviricota*, Reino *Heunggongvirae*, Domínio *Duplodnaviria* (FERREIRA et al., 2018; ICTV, 2019a).

BoAHV-1 é um vírus que possui envelope e como genoma uma molécula de DNA de fita dupla linear, os vírions medem entre 120 e 140nm (FLORES, 2013). O genoma do BoAHV-1 codifica 33 proteínas estruturais, com 13 provavelmente associadas ao envelope, das quais dez possuem potencial para codificar glicoproteínas (DAGALP et al., 2020).

BoAHV-1 é instável no meio ambiente, inativado em até 10 dias a 37°C, instáveis em pH ácido e estável a 4°C por meses, mas apresenta inativação aos desinfetantes de fenólicos 1%, hipoclorito de sódio 2%, hidróxido de sódio 0,5%, amônia quaternária 1%, compostos iodados 10% e solução de formalina 5% (PITUCO, 2009).

Estudos realizados com enzimas de restrição e sequenciamento genômico possibilitaram a divisão do BoAHV-1 em três subtipos: BoAHV-1.1; BoAHV-1.2a e BoAHV-1.2b (COSTA et al., 2017). Os subtipos diferem nos epítomos da glicoproteína C (gC), que podem alterar a fixação viral e a virulência (DAGALP et al., 2020). O subtipo BoAHV-1.1 é mais virulento que BoAHV-1.2 (VIU et al., 2014).

BoAHV-1 típico, atualmente classificado como o subtipo BoAHV1.1, está associado às doenças respiratórias e genitais e abortos, o subtipo 1.2a às doenças respiratórias e abortos, enquanto BoAHV1.2b às doenças genitais, especificamente vulvovaginite pustulosa infecciosa em novilhas/vacas e balanopostite infecciosa em touros (SPILKI; FRANCO; ROEHE, 2012; FULTON et al., 2015). No entanto, Fulton et al. (2015) isolaram dois subtipos de BoAHV-1 de infecções genitais e respiratórias de ocorrência natural em bovinos demonstrando que o tropismo de BoAHV-1.1 e BoAHV-1.2b para as vias respiratórias e o sistema genital não é absoluto. O subtipo 2b é considerado de patogenicidade reduzida (BATISTA et al., 2010). BoAHV1.1 e BoAHV1.2a são altamente prevalentes no Brasil (SPILKI; FRANCO; ROEHE, 2012).

Todos os subtipos são antigenicamente semelhantes, mas BoAHV-1.1 e 1.2 podem ser diferenciados por análise antigênica ou molecular da glicoproteína C (DAGALP et al., 2020). Os subtipos não induzem uma resposta de anticorpos neutralizantes discriminativos que poderia ser usada como um tipo ou marcador específico de subtipo, além disso, o animal pode estar infectado com mais de um subtipo de vírus (HOLZ et al., 2010).

2.1.3. Epidemiologia

BoAHV-1 está distribuído mundialmente com exceção dos países livres (DIAS et al., 2008; WOA, 2018a). Ao longo dos anos vários países ou regiões europeias o erradicaram, como por exemplo: Áustria (1999); República Checa (2020); Dinamarca (1991); Finlândia (1994); Alemanha (2017); duas províncias/regiões autónomas em Itália (BOLZANO 2000; VALLE D'AOSTA, 2015); Channel Island Jersey do Reino Unido (2012); Noruega (1994); Suécia (1998) e Suíça (1993). Os estados membros da União Europeia (UE) são considerados oficialmente livres de BoAHV-1 sob a legislação da UE (diretiva 1964/432/EEC) (WALDECK et al., 2021).

Diversos estudos sorológicos e de isolamento foram realizados no Brasil, demonstrando níveis de prevalência variáveis, conforme observado na Tabela 1.

Tabela 1. Soroprevalência para a infecção por BoAHV-1 considerando estudos realizados na última década em estados brasileiros, distribuídos por ordem crescente de prevalência.

Prevalência	Estado	Teste	Autores
50,0%	MG	SN	Zanatto et al. (2019)
50,0%	MS	SN	Zanatto et al. (2019)
52,8%	PE	SN	Silva et al. (2019)
59,0%	PR	ELISA	Dias et al. (2013)
60,0%	GO	SN	Zanatto et al. (2019)
68,7%	SP	SN	Zanatto et al. (2019)
69,25%	MA	ELISA	Bezerra et al. (2012)
79,5%	PE	SN	Silva et al. (2015)
87,4%	PB	SN	Fernandes et al. (2019)

Convenções: RS=Rio Grande do Sul; MG=Minas Gerais; MS=Mato Grosso do Sul; PE= Pernambuco; PR=Paraná; GO=Goiás; ES=Espírito Santo; SP=São Paulo; MA=Maranhão; PE=Pernambuco; PB=Paraíba; AM=Amazonas; RO=Rondônia, PA=Pará SN=soroneutralização; ELISA=ensaio imunoenzimático

No estado de Alagoas há um estudo da infecção por BoAHV-1 com 37% (17/46) de positividade, no ano de 2011, procedente de vacas com histórico de aborto (LIMA et al., 2011).

A morbidade em populações suscetíveis se aproxima de 100% (MACLACHLAN; DUBOVI, 2017). Naturalmente, ocorre a infecção em bovinos e a transmissão entre espécies não é considerada importante (DIAS et al., 2008).

A infecção primária muitas vezes coincide com o transporte e a introdução em um confinamento de animais jovens, oriundos de rebanhos suscetíveis e de diversas origens. A adaptação às condições de confinamento e mudanças na dieta alimentar contribuem para um ambiente estressante que pode potencializar o surgimento dos sinais clínicos (MACLACHLAN; DUBOVI, 2017).

A via de transmissão horizontal direta é a mais importante, mas pode ocorrer a via vertical (transplacentária) e a transmissão indireta, principalmente por aerossóis ou fômites (DEL FAVA; PITUCO; D' ANGELINO, 2002).

O vírus pode ser eliminado pelas secreções respiratórias, oculares e genitais (muco prepucial, muco vaginal) e sêmen de animais infectados (DEL FAVA; PITUCO; D' ANGELINO, 2002). No sêmen bovino pode permanecer por cerca de

quatro semanas e infectar fêmeas por meio da monta natural ou inseminação artificial (SOUZA et al., 2018).

Foi detectado BoAHV-1 no útero em 100% (41/41) das vacas soropositivas sugerindo que este órgão atua como uma fonte de infecção fetal a ser implicado no aborto (QUEIROZ-CASTRO, et al., 2019).

Após a penetração do BoAHV-1, os animais soronegativos eliminam o vírus em secreções nasais e conjuntivais, por um período que pode durar até 11 dias após a infecção (GUNGOR; OZKUL, 2007).

Destacam-se como fatores de risco para introdução do BoAHV-1 em um rebanho, o tamanho do rebanho, compra de bovinos, idade e densidade animal, distância dos rebanhos bovinos vizinhos e visitas de profissionais (WALDEK et al., 2021).

Nas infecções por BoAHV-1 foram identificados como importantes fatores de risco: o compartilhamento de pastagens, não utilização de inseminação artificial proveniente de centrais com melhor manejo sanitário, não realização de transferência de embriões, obtenção de animais destinados à reprodução, reposição de animais de regiões infectadas, fetos abortados deixados no pasto (SILVA et al. 2019).

A enfermidade ocorre com maior frequência em animais com mais de seis meses, observando-se em vacas acima de quatro anos um risco 2,36 vezes maior de se infectar (VIU et al., 2014).

2.1.4 Patogenia e sinais clínicos

A infecção por este vírus ocorre por meio das mucosas que são revestidas por células epiteliais, onde ocorre o início do processo de replicação viral. A imunidade local das superfícies mucosas, que conta com a cooperação de mecanismos inatos e específicos para a efetiva proteção, é o mecanismo mais eficiente para evitar a entrada do agente no organismo (BOTTON et al., 2022).

BoAHV-1 codifica diferentes proteínas: bICP0, bICP27, gG, UL49.5 e VP8, que interferem nas principais respostas imunes inatas antivirais na ausência de outros genes virais (JONES, 2019).

Quando um animal é exposto ao BoAHV-1, a infecção primária pode ocorrer e o vírus é excretado em fluido nasal durante um período de 10-17 dias com um pico em quatro a seis dias pós-infecção (BROCK et al., 2020). Durante o curso de uma infecção primária, os animais eliminam altos níveis de vírus (até 3.800.000 TCID50/mL de descarga nasal) e são considerados os principais disseminadores do vírus durante um surto (BROCK et al., 2020).

A infecção aguda leva a altos níveis de produção e secreção de vírus nas cavidades ocular, oral, nasal ou genital (JONES, 2019) e após, aproximadamente de sete a dez dias, ocorre uma transição para a latência. Neste período, a expressão do gene viral cessa, o genoma viral está presente como um episossoma em associação com histonas celulares, e o gene relacionado à latência (LR) é abundantemente expresso (MARIN et al., 2020). Na latência, os animais são portadores do vírus, mas não eliminam material infeccioso, assim como não apresentam sinais clínicos (BROCK et al., 2020).

A latência pode ocorrer após uma infecção primária com um isolado de campo ou vacinação com uma cepa atenuada (ISCARO et al., 2021). Foi demonstrado que BoAHV-1 pode estabelecer latência em leucócitos sanguíneos periféricos, no baço, nas amígdalas e em linfonodos inguinais e sacrais (MARIN et al., 2020).

BoAHV-1 se replica inicialmente na mucosa nasal e ocular levando aos sinais característicos da doença e, por meio de transporte intra-axonal, o vírus atinge corpos neuronais dos gânglios trigêmeos (TG), onde pode se replicar em algumas células. Após a infecção primária, o vírus infeccioso não é mais recuperado, mas o DNA viral pode ser detectado em neurônios TG por hibridização *in situ* (SILVESTRO; BRATANISH, 2016).

O gene relacionado à latência (LR) é o único gene viral abundantemente expresso em neurônios infectados latentemente, é essencial para a reativação viral e parece ter uma função anti-apoptótica que pode ser observada *in vivo* e *in vitro* (SILVESTRO; BRATANISH, 2016).

Diversos estímulos imunossupressores, como tratamento com corticosteróide, privação de comida e água durante o transporte, desmame e mudanças climáticas, facilitam a ligação de corticosteróides a receptores de glicocorticóides e mineralocorticóides, o que reativa o BoAHV-1 latente e ativa ainda mais a expressão

de diferentes genes virais, como bICP 40 e alguns genes tardios durante a infecção produtiva (PETRINI et al., 2022).

Quando o DNA viral latente é reativado, partículas virais infecciosas são transportadas intra-axonalmente para os tecidos periféricos e apoptose de células inflamatórias em TG de bezerros latentemente infectados com BoAHV-1 também é observada, e isso se correlaciona com a reativação da latência (SILVESTRO; BRATANISH; 2016).

O período de incubação pode variar de dois a quatro dias e podem surgir um corrimento nasal seroso, salivação, febre, inapetência e depressão, no entanto, muitos casos podem ser subclínicos após a infecção (WOAH, 2018a).

A mucosa nasal apresenta-se hiperêmica e as lesões na cavidade nasal progridem de necrose focal com inflamação purulenta associada a grandes áreas de mucosa hemorrágica e ulcerada coberta por uma membrana diftérica de cor creme. A respiração pode ser fétida. Dispneia, respiração oral, salivação e tosse brônquica profunda são comuns. Os casos não complicados podem durar cinco a 10 dias (MACLACHLAN; DUBOVI, 2017).

Os animais examinados clinicamente durante a fase de latência, não apresentam indícios de infecção, porém é possível detectar anticorpos produzidos contra os herpesvírus na fase aguda, o que indica a condição de portador do vírus em estado latente (DUARTE; SANTANA, 2018).

Conjuntivite unilateral ou bilateral, muitas vezes com lacrimação profusa, é um sinal clínico comum em bovinos com Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, mas pode ocorrer em um rebanho como um sinal clínico quase exclusivo (FULTON et al., 2015; MACLACHLAN; DUBOVI, 2017).

Gastroenterite pode ocorrer em bovinos adultos e é um achado proeminente na doença generalizada e grave de bezerros neonatais. Vulvovaginite pustulosa infecciosa pode ocorrer em vacas leiteiras. Vacas afetadas desenvolvem febre, depressão, anorexia e isolamento, muitas vezes com a cauda mantida longe do contato com a vulva e micção frequente. Os lábios vulvares apresentam-se edemaciados com ligeira secreção vulvar e a mucosa vestibular avermelhada, contendo muitas pústulas pequenas. Pústulas adjacentes geralmente coalescem, rompem e ocorre a formação de úlceras coberta com uma pseudomembrana

fibrinosa O estágio agudo da doença dura quatro a cinco dias e lesões não complicadas geralmente curam em 10 a 14 dias (MACLACHLAN; DUBOVI, 2017).

Estima-se que até 25% das vacas gestantes infectadas podem abortar (VIU et al., 2014). O aborto pode ocorrer de quatro a sete meses de gestação, e o vírus também pode causar mastite (FULTON et al., 2015; MACLACHLAN; DUBOVI, 2017).

BoAHV-1 está entre os patógenos virais apontados como responsáveis por casos de mastite e em infecções naturais tem altas prevalências nos tecidos mamários bovinos (ÇOMAKLI; ÖZDEMİR, 2019).

As lesões de balanopostite infecciosa podem indicar touros infectados com BoAHV-1 e o curso clínico da doença são semelhantes aos seus equivalentes em vacas infectadas (HENZEL et al., 2019). Mesmo em touros recuperados, o sêmen pode estar contaminado como resultado de eliminação periódica. Assim, a monta natural ou inseminação por touros infectados poderá acarretar em vulvovaginite pustulosa infecciosa nas vacas. Doenças genitais e respiratórias raramente são diagnosticadas simultaneamente no mesmo rebanho (MACLACHLAN; DUBOVI, 2017).

BoAHV-1 está também associado com quadros de encefalite clínica em bovinos (MUYLKENS et al., 2007) e foi isolado no Rio Grande do Sul em 2,9% (2/70) do total de encéfalos examinados (BATISTA et al., 2010).

2.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico de infecção por BoAHV-1 é realizado com base no histórico da propriedade e dos animais, sinais clínicos e lesões observadas ao exame clínico (DUARTE; SANTANA, 2018).

O diagnóstico direto é realizado pelo isolamento do vírus em cultivo, mas por ser trabalhosa e não ser sensível para detectar um pequeno número de partículas virais, a alternativa tem sido Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tanto de amostras isoladas em cultivo celular quanto de amostras clínicas (OLIVEIRA et al., 2015a).

O diagnóstico molecular permite uma melhor compreensão da epidemiologia da infecção por meio da diferenciação por subtipos, o que pode estar relacionada a diferentes graus de adaptação à espécie hospedeira (STRELCZUK et al., 2012). Foi detectado BoAHV-1 por PCR em sêmen após do sétimo dia de infecção, período considerado precoce, sugerindo-se estabelecer a PCR nas amostras de sêmen em centrais de inseminação artificial (SOUZA et al. 2018).

Considerando a infecção latente induzida por BoAHV-1, período em que o vírus não pode ser isolado por métodos diretos, a detecção de anticorpos pode ser suficiente para a determinação de BoAHV-1 de animais individuais e fornece um indicador útil e confiável do *status* da infecção com exceção para resposta sorológicas induzidas por vacinação e por anticorpos colostrais (WOAH, 2018a).

Normalmente, os animais infectados de forma latente são identificados pela detecção de anticorpos específicos para BoAHV-1 no soro. Os anticorpos podem persistir em níveis estáveis em bovinos infectados experimentalmente por pelo menos dois a três anos (BROCK et al., 2020).

A soroneutralização (SN) é o teste de referência para diagnóstico da infecção, porém, como desvantagens do método, há necessidade de estrutura laboratorial e há uma demora na obtenção dos resultados (BAUERMANN et al., 2010).

Os testes de Ensaio Imunoenzimáticos (ELISA's) também são internacionalmente aceitos e muito utilizados (BAUERMANN et al., 2010). São mais sensíveis, portanto, mais adequados em estudos sorológicos do que SN contra vírus únicos. No entanto, os ELISA's para anticorpos para herpesvírus bovino devem ter seus parâmetros de validação redefinidos com soros testados contra um número maior de vírus. Isso pode revelar que talvez muitas das discrepâncias encontradas entre os resultados de SN e ELISA's possam de fato ser devidas à baixa sensibilidade da SN, o que fica evidente principalmente quando os testes são realizados e comparados em diferentes laboratórios (HOLZ et al., 2010).

O *kit* comercial iELISA (IDEXX IBR gB X3®, IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine, EUA,) para pesquisa de anticorpos anti-BoAHV1 possui sensibilidade de 97,4% e especificidade de 99,8% (IDEXX, 2016).

2.1.6 Prevenção e controle

O desenvolvimento da latência de longa vida nos gânglios sensoriais e a existência de animais portadores são características essenciais e sérias das infecções por BoAHV-1 que tornam o controle da doença difícil devido à indução de reativação da latência que é mimetizada por vários estressores, por exemplo corticóides sintéticos (MARAWAN et al., 2021).

A prevenção da doença associada ao BoAHV-1 na América do Norte inclui o uso de vacinas de vírus vivo modificado e inativado, principalmente para o controle de bovinos doenças respiratórias e doenças fetais (abortos) causadas por BoAHV-1 (FULTON et al., 2015).

Em países europeus e na América do Norte, a estratégia DIVA (sigla de Differentiating Infected from Vaccinated Animals – traduzido para diferenciar animais infectados de vacinados) é considerada uma das primeiras intervenções em programas de erradicação do BoAHV-1, em áreas com alta prevalência da doença (BRUM et al., 2010).

São vacinas geralmente baseadas em cepas virais deletadas em genes que codificam um envelope, glicoproteína não essencial e a resposta sorológica à vacinação pode ser diferenciada da infecção pelo uso de testes ELISA's para anticorpos contra a proteína deletada (OLIVEIRA et al., 2013; PETRINI et al., 2020).

Na América do Norte, cepas vacinais modificadas com a deleção da glicoproteína E (gE) do BoAHV têm sido empregadas para a imunização e testagem, o que auxilia no processo de detecção dos animais infectados. Esta vacina encontra-se comercialmente disponível no mercado veterinário brasileiro, além das inativadas e atenuadas (BOTTON et al., 2022).

A imunogenicidade do BoAHV-1 da maioria das vacinas comerciais foi aceitável o que sugere que são adequadas para imunização dos animais (ANZILIERO et al., 2015). As fêmeas vacinadas contra BoAHV1 e BVDV possuem as melhores taxas de prenhez (AONO; COOKE; ALFIEIRI, 2013).

A vacinação pode ser utilizada em rebanhos com histórico de infecção, rebanhos com sorologia elevada; em propriedades com sistemas de recria e confinamento e naquelas com alta rotatividade de animais (VIU et al., 2014).

O monitoramento constante é recomendado em rebanhos sem histórico clínico da enfermidade e sem distúrbios reprodutivos, assim, pode-se mantê-los sem a utilização de vacinas (VIU et al., 2014).

As perdas decorrentes da infecção podem ser reduzidas por meio da aplicação de implementação de medidas de biossegurança (CAN; ATASEVEN; YALCIN, 2016). Contribuem para o sucesso de um programa de controle ações como: evitar o compartilhamento de equipamentos, ou promover a desinfecção de equipamentos em caso de compartilhamento, fornecer equipamentos de proteção individual e botas ou restringir o contato do visitante com animais, veículos de transporte devem estar vazios, limpos e desinfetados antes de entrar na granja (BENAVIDES et al., 2021).

No Brasil foi sugerida a hiperimunização (vacinação semestral de animais soropositivos), associada à eliminação gradual destes e monitoramento sorológico dos negativos, quarentena e utilização de sêmen livre de BoAHV-1, observada redução da prevalência de 3-10% (DEL FAVA; PITUCO; O'ANGELINO, 2002).

Um programa visando à erradicação baseia-se no monitoramento de indivíduos soronegativos, vacinação e descarte progressivo dos soropositivos, associado a outras medidas profiláticas, como utilização de sêmen livre de vírus e controle de trânsito de animais, também se torna técnica e economicamente viável em rebanhos onde a prevalência é elevada (DEL FAVA et al., 2003).

Quando a erradicação é considerada em nível nacional, regional ou mesmo do rebanho, deve-se levar em consideração a mitigação do risco dos fatores de risco (WALDEK et al., 2021).

2.2 VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV)

2.2.1 Importância

A diarreia viral bovina é uma das principais doenças mundiais que ocasiona impacto econômico na produção de bovinos, decorrente do aumento da morbidade e mortalidade devido à imunossupressão, redução da concepção no primeiro serviço, morte embrionária precoce, mumificação, nascimento de bezerros fracos,

deforquidades congênitas, aumento da mortalidade neonatal intervalos de parto prolongados e produção de leite reduzida (ARNAIZ et al., 2021; FREITAS et al., 2021; RICHTER et al., 2017; SPETTER et al., 2020).

O aborto bovino ocasionado por esse vírus causa sérios danos econômicos aos produtores de leite e as perdas podem variar de \$500,00 a \$900,00/animal, dependendo do estágio de gestação, custos de alimentação, diminuição da produção leiteira resultante e o valor dos custos de reposição (SARANGI et al., 2021).

As perdas financeiras diretas devido ao BVDV em 15 países foram estimadas com uma variação entre US\$0,50 a US\$687,80/animal e as perdas diretas médias por vaca leiteira foram 20% maiores em relação à vaca de corte (RICHTER et al., 2017). As perdas monetárias diretas devido ao BVDV variam de €0,45 a €604,13/animal/ano (YUE et al., 2022).

Mortalidade, morbidade, descarte precoce natimortos, aborto, reinfecção, país e tipo de estudo tiveram influências significativas nas perdas monetárias diretas calculadas causadas pela infecção pelo BVDV (RICHTER et al., 2017).

Durante a fase voluntária do programa de erradicação de BVDV na Áustria foi observado um benefício econômico líquido, porém uma perda econômica líquida durante o período do programa obrigatório, mas que resulta um impacto positivo no mercado de exportação (MARSCHIK et al., 2018).

As perdas diretas anuais médias de BVDV por animal foram 8%–12% e 28%–29% menores com inclusão de vacinação e biossegurança, respectivamente, em comparação com estudos que omitiram essas medidas de mitigação (PINIOR et al., 2019).

A presença de animais persistentemente infectados nos rebanhos representa um impacto negativo tanto na esfera sanitária quanto econômica. Além disso, BVDV frequentemente determina um quadro de imunossupressão tornando os animais mais suscetíveis a coinfeções causadas por bactérias, protozoários e outros vírus e essa infecção viral também contribui para a gravidade da infecção causada por outros agentes infecciosos (ALVES, et al., 2020; FREITAS et al., 2021).

2.2.2 Agente etiológico

O agente é um vírus do gênero *Pestivirus*, Família *Flaviviridae*, Ordem *Amarillovirales*, Classe *Flasuviricetes*, Filo *Kitrinoviricota*, Reino *Orthornavirae*, Domínio *Riboviria* (ICTV, 2020).

Os pestivirus são pequenos (40-60nm), de forma esférica ou semi-esférica envelopados, de fita simples, RNA sentido positivo. Os pestivirus bovinos foram classificados como *Pestivirus A*, *Pestivirus B* e *Pestivirus H* substituindo, respectivamente, os vírus da diarreia viral bovina 1 (BVDV-1), 2 (BVDV-2) e 3 (BVDV-3) (ICTV, 2020).

O *Pestivirus A* pode ainda ser segregado em pelo menos vinte e três subgenótipos (1a-1w) (SPETTER et al., 2022), enquanto quatro subgenótipos foram descritos para o *Pestivirus B* (2a-2d) (YESILBAĞ; ALPAY; BECHER, 2017; TOKER et al., 2020).

O *Pestivirus A* é prevalente em todo o mundo, enquanto o B, mais patogênico, foi relatado principalmente na América do Norte e Canadá e apenas esporadicamente na Europa, bem como na América do Sul e Japão (RICHTER et al., 2017). A distribuição de *Pestivirus A* está significativamente mais ampla (88,2%) do que a distribuição de isolados de *Pestivirus B* (11,8%) (KUČER et al., 2022).

Os subgenótipos de *Pestivirus A* 1a e 1b são os mais difundidos e prevalentes em todo o mundo, e os subgenótipos 1f a 1t menos frequentes são principalmente restritos à Europa e países asiáticos, já no Brasil, o subgenótipo mais prevalente é o 1a, mas o *Pestivirus B* 2b também é altamente prevalente, especialmente na região sul (MOSENA et al., 2022).

Mosena et al. (2022) detectaram, em 66 amostras oriundas do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, os genótipos 1a (43 e 65,15%), 2b (15 e 22,72%), 1b (6 e 9,1%), 1d (1 e 1,5%), e 1e (1 e 1,5%), que são os únicos subgenótipos do *Pestivirus A* descritos em bovinos no Brasil.

Silveira et al. (2017) utilizando RT-PCR encontraram BVDV-1a, BVDV-2b e *Pestivirus H* em quase 80% dos isolados que foram identificados, enquanto BVDV-1b, 1d, 1e e 2c foram detectados com menos frequência.

As cepas de *Pestivirus A* e B são altamente heterogêneas, particularmente nas glicoproteínas de superfície (CANAL et al., 1998), com a divisão em biótipos de acordo com a característica biológica de produzir efeito citopatogênico, como

vacuolização citoplasmática e morte celular, ou não em células cultivadas: 1) não citopatogênico (ncp) e 2) citopatogênico (cp) (DEZEN et al., 2013; LANYON et al., 2014; CHI et al., 2022). A cepa ncp tem tropismo por glóbulos brancos, órgãos linfoides e trato respiratório, enquanto a cepa citopática é mais restrita ao trato digestivo (KHODAKARAM-TAFTI; FARJANIKISH, 2022).

2.2.3 Epidemiologia

BVDV ocorre mundialmente, de forma que a maioria dos rebanhos possui risco para a infecção (KHODAKARAM-TAFTI; FARJANIKISH, 2017). No Brasil, estudos sorológicos foram realizados para determinar a prevalência da BVDV, dos quais alguns a partir de 2012 se encontram destacados abaixo na Tabela 2.

Tabela 2. Soroprevalência para a infecção por BVDV considerando estudos realizados na última década em alguns estados brasileiros, distribuídos por ordem crescente de prevalência.

Prevalência	Estado	Teste	Autores
23,0%	SP	SN	Gaeta et al. (2018)
50,0%	GO	SN	Zanatto et al. (2019)
50,0%	MS	SN	Zanatto et al. (2019)
54,50%	PA	ELISA	Viana et al. (2019)
59,1%	RS	ELISA	Duarte; Santana (2018)
62,5%	MG	SN	Zanatto et al. (2019)
63,5%	BA	SN	Souza et al. (2019)
65,5%	PB	SN	Fernandes et al. (2018)
65,6%	MA	ELISA	Chaves et al. (2012)
99,4%	PE	SN	Silva et al. (2019)

Convenções: SP=São Paulo; Go=Goiás; MS=Mato Grosso do Sul; RS=Rio Grande do Sul; MG=Minas Gerais; BA=Bahia; PB=Paraíba; MA=Maranhão; PE=Pernambuco; SN=soroneutralização; ELISA=ensaio imunoenzimático

A prevalência varia em média entre 40 e 80% levando em consideração a infecção aguda do vírus. Por outro lado, a prevalência de animais conhecidos como

persistentemente infectados (PI) está estimada entre 0,5 e 4% (MARQUES et al., 2016; BARBOSA et al., 2019a).

As prevalências de PI em nível animal variaram de baixa (<0,8% Europa, América do Norte, Austrália), média (>0,8% a 1,6% Leste da Ásia) para alta (>1,6% Ásia Ocidental). As prevalências de IP e AB na Europa diminuíram ao longo do tempo, enquanto a prevalência de BVDV aumentou na América do Norte (KUČER et al., 2022).

A prevalência de BVDV é 1,5 vezes menor em nível de animal e rebanho nos países que implementaram programas de controle e/ou erradicação em comparação com países sem medidas de intervenção (SCHARNOBOECK et al., 2018).

O vírus pode infectar uma variedade de ruminantes domésticos e silvestres, incluindo bovino, ovelha, cabra, suíno, veado, búfalo, bisão e alpaca, embora os bovinos são os hospedeiros principais da BVDV (FINO et al., 2012; VIU et al., 2014; YESILBAĞ; ALPAY; BECHER, 2017).

Os pestivírus são eliminados em todas as secreções corporais de um animal infectado, ou seja, saliva, lágrimas, secreções nasais, leite, urina, fezes e sêmen. A transmissão horizontal pode ocorrer diretamente pelo contato entre os animais ou indiretamente por contato com secreções infecciosas, alimentos ou agulhas contaminadas. A transmissão vertical ocorre quando o BVDV atravessa a placenta e infecta o feto (TAUTZ; TEWS; MEYERS, 2015).

O contato nasal ou sexual com bovino persistentemente infectado são formas mais comuns de disseminação do vírus entre animais. Destaca-se ainda que, animais infectados de forma aguda, moscas, tratadores, veterinários e equipamentos contaminados também podem carrear o vírus e favorecer a transmissão do mesmo (LANYON et al., 2014).

Um animal PI secreta uma concentração de vírus maior que a dose infectante para um animal contactante, e, nesse sentido, a compra de um PI ou de uma vaca gestante de um PI, torna-se a forma mais eficiente de introdução de vírus em um rebanho (GIVENS; NEWCOMER, 2015).

À medida que o rebanho adulto se torna imune, autolimita o impacto negativo do BVDV, no entanto, com nascimentos frequentes de PI ou introdução de animais PI, a infecção enzoótica pode ocorrer (FOUNTAIN et al., 2022).

Os fatores de risco identificados em uma meta-análise para a enfermidade na Europa foram: rebanhos leiteiros (*odds ratio*, OR = 1,63) em comparação aos rebanhos de corte; para rebanhos maiores (OR = 1,04 para cada 10 animais extras no rebanho); para rebanhos que participam em eventos agropecuários (OR = 1,45); para rebanhos que introduziram bovino no rebanho (OR = 1,41) e para rebanhos que compartilham pastagem ou possuem contato direto com bovinos de outros rebanhos em pastagem (OR = 1,32) (VAN ROOM et al., 2020).

As investigações epidemiológicas também demonstraram que fatores demográficos, como tamanho do rebanho e densidade são preditores significativos para a prevalência de infecção em populações onde o BVDV é enzoótico (KHODAKARAM-TAFTI; FARJANIKISH, 2017).

2.2.4 Patogenia e sinais clínicos

Os animais infectados por BVDV podem ser classificados em três diferentes tipos: (1) bovino persistentemente infectado (PI), que são animais infectados com tipo Ncp verticalmente durante o início da gravidez (30 a 120 dias de gestação), tem a produção de interferon tipo I inibida devido ao sistema fetal imaturo, liberam grandes quantidades de vírus em toda a sua vida e que apresentam grande relevância epidemiológica na dinâmica da enfermidade; (2) bovino infectado transitoriamente, que são animais infectados horizontalmente após o nascimento e que elimina pequenas quantidades de vírus por até 15 dias e (3) vacas “troianas”, que são vacas gestantes de um bezerro PI, (RICHTER et al., 2017; ASMARE et al., 2018; BENAVIDES et al., 2021, CHI et al., 2022).

BVDV inicia seu ciclo de vida a partir da endocitose através da ligação da proteína da membrana viral ao receptor da superfície da célula hospedeira. A molécula de CD46 atua como um receptor de BVDV, assim como outros numerosos receptores na superfície das células hospedeiras durante a penetração viral (AL-KUBATI et al., 2021; MA et al., 2022).

Os mecanismos pelos quais o BVDV utiliza células hospedeiras para completar a replicação viral e a liberação de vírions ainda são desconhecidos. Além disso, os mecanismos subjacentes de imunossupressão, patogênese viral, evasão

da imunidade inata do hospedeiro e reação inflamatória causada por BVDV permanecem desconhecidos (MA et al., 2022).

A imunossupressão causada pelo BVDV pode proporcionar um aumento considerável na incidência e na severidade de doenças do trato respiratório, como, por exemplo, as causadas por BoAHV-1 (ALEXANDRINO et al., 2011). Os efeitos imunossupressores incluem alterações na composição da célula imune e o imunofenótipo alterado de leucócitos, e vários defeitos na função das células imunológicas (AL-KUBATI et al., 2021).

A infecção persistente e a resposta imune desregulada são duas consequências principais das infecções por BVDV. A imunidade protetora após a infecção natural com BVDVs é caracterizada pela ativação de respostas humorais e celulares específicas (AL-KUBATI et al., 2021).

Em vacas não gestantes e não imunes, infecções agudas com o BVDV ncp resultam em viremia transitória, começando no dia três pós-infecção até que a imunidade se desenvolva, geralmente cerca de duas semanas depois (LANYON et al., 2014).

As variantes cp do BVDV podem emergir espontaneamente nos bezerros PI como devido a episódios de recombinação e/ou mutação de RNA e só foram isolados em surtos com quadros clínicos fatais, denominados de doença da mucosa, em animais PI (REUCHER et al., 2021).

Na infecção aguda os animais apresentam soroconversão até duas semanas após a infecção pelo BVDV e é esperado que se recuperem dentro de três semanas após, por outro lado, os animais PI não apresentam soroconversão e eliminam o vírus de forma contínua. Os animais com infecção aguda, que são soronegativos ao BVDV, exibem uma viremia de curto prazo e excreção de vírus nas vias nasais e em outras formas de secreção (GOTO et al., 2021).

A infecção de animais susceptíveis por BVDV é capaz de ocasionar diversas manifestações, de doença subclínica a fatal, dependendo do estado imunológico do hospedeiro, gestação e período de gestação, e a presença ou ausência de coinfeção com outros patógenos. Estima-se que 70-90% ocorram como infecções subclínicas (CHO; YOON, 2014; FERREIRA et al, 2008).

Sabe-se que o BVDV leva à imunossupressão, que aumenta a probabilidade de que o bovino seja secundariamente infectado por outros patógenos (SANTMAN-BERENDS et al., 2015).

Os animais acometidos podem estar assintomáticos ou com poucas alterações hematológicas e clínicas como leucopenia transitória, febre leve, falta de apetite, letargia, úlceras orais e no trato digestório, implicações reprodutivas e aumento da secreção nasal, tosse e outros sinais de respiração anormal, bem como imunossupressão, em alguns casos, diarreia clássica ou hemorrágica (TAUTZ; TEWS; MEYERS; 2015, BARBOSA et al., 2019a).

2.2.5 Diagnóstico

A observação dos dados epidemiológicos e dos achados clínicos fornecem a base para o diagnóstico (VIU et al., 2014). Como diagnóstico diferencial, recomenda-se testes para aftosa, estomatite vesicular e carcinoma de células escamosas em animais com erosões na cavidade oral sugestivas de diarreia viral bovina (FINO et al., 2012).

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado por métodos diretos; destacam-se o isolamento viral, detecção de ácido nucleico, ELISA e imunohistoquímica. O isolamento viral pode utilizar amostras de secreções nasais, sangue, fezes, linfonodos e intestino e ELISA em amostras de sangue (WOAH, 2018b).

A técnica RT-PCR *multiplex* tem sido utilizada para a amplificação e tipagem simultâneas de vírus de cultura de células ou direto de amostras de sangue. A alta sensibilidade analítica permite a adoção de estratégias para selecionar *pools* de amostras individuais ou teste de leite do tanque a granel (WOAH, 2018b).

A sorologia, método indireto, pode ser realizada utilizando os testes de soroneutralização (SN) e ELISA indireto (por meio de *kits* comerciais importados), utilizada para identificar os níveis de imunidade do rebanho, para auxiliar na investigação de doenças reprodutivas e possível envolvimento de BVDV, para estabelecer o *status* sorológico de touros de centrais de inseminação e para identificar se houve uma infecção recente (WOAH, 2018b).

O ensaio de soroneutralização é o padrão ouro, mas é mais demorado e possui alto custo, havendo a necessidade de cepas de referência e linhagens celulares (EMADI et al., 2022). Na SN, anticorpos podem realmente não serem detectados devido às diferenças antigênicas entre as cepas. Portanto, os ensaios baseados em anticorpos para antígenos virais mais tradicionais, em particular a proteína não estrutural NS2/3, são mais adequados (CANAL et al., 1998).

O ELISA pode ser mais reprodutível e economicamente viável do que o teste SN (VIANA et al., 2017). Para vigilância epidemiológica, o ELISA indireto, disponíveis no Brasil por *kits* comerciais, é o método recomendado em comparação a VN (WOAH, 2018b).

O *kit* comercial iELISA (IDEXX BVDV Total AB Ab®, IDEXX Laboratories Westbrook, Maine, EUA) para pesquisa de anticorpos anti-BVDV possui sensibilidade de 98,5% e especificidade de 99,4% (IDEXX, 2019).

Em regiões onde a vacinação é limitada, os testes de ELISA comerciais têm mais utilidade e reduzem a variação laboratorial como reagente padrão e protocolos usados para o teste de SN (DUBOVI, 2013). O ELISA pode ser recomendado para o diagnóstico de um grande número de amostras (VIANA et al., 2017).

Os testes de SN são mais frequentemente exigidos para fins regulatórios (por exemplo, teste de doadores de sêmen), enquanto ELISA's são comumente utilizados para aplicações de diagnóstico (WOAH, 2018b).

A alta especificidade do ELISA é importante na seleção de animais verdadeiramente negativos para inclusão em programas de adoção de biotécnicas para reprodução ou o uso de vacas soropositivas para BVDV pode comprometer a eficácia de tais programas (VIANA et al, 2017).

Os animais ou fetos imunocompetentes tardios que estão infectados na fase aguda serão positivos nos testes indiretos e, geralmente, serão negativos nos testes para a detecção do agente, enquanto os animais PI normalmente são positivos em testes para detecção do agente e negativos nos testes sorológicos, pois não há produção de anticorpos (LANYON et al., 2014; FREITAS et al., 2021).

Esse fato é devido aos animais PI serem imunotolerantes à cepa de BVDV que induziu a tolerância, embora são imunocompetentes a outros antígenos e podem também desenvolver resposta imunológica contra cepas heterólogas do

BVDV ou serem soropositivos se tiverem ingerido anticorpos maternos (DEEZEN et al., 2013; MCDUGALL, 2021).

Para a detecção de animais PI podem ser utilizados os seguintes testes: 1) Imunohistoquímica ou imunofluorescência em amostras de biópsia da orelha; 2) ELISA direto em soro, *pool* ou amostras individuais de leite; 3) Teste de RT-PCR em *pool* de sangue, leite ou amostras de biópsia da orelha (DUBOVI, 2013; WOAAH, 2018b). A imunohistoquímica, apesar de ser mais trabalhosa que o ELISA, pode apresentar a vantagem de não sofrer interferência de anticorpos maternos na detecção de antígenos virais em animais jovens por não sofrer (SANTOS et al., 2011).

2.2.6 Prevenção e Controle

Diferente de vários países, no Brasil não há um programa de controle e erradicação, sendo que alguns países europeus já alcançaram a erradicação do vírus (WOAH, 2018b; VAN ROON et al., 2020).

Para um programa de controle e erradicação primeiramente é fundamental detectar e eliminar os animais persistentemente infectados, requerendo o uso eficiente e eficaz de testes diagnósticos em nível de rebanho (DUBOVI, 2013; LANYON et al., 2014; TOKER et al., 2020).

Recomenda-se a realização de dois testes usando duas amostras de sangue coletadas em pelo menos 21 dias a partir da coleta inicial da amostra, a fim de distinguir animais persistentemente infectados de agudamente infectados, e se necessário, 14 a 21 dias após o segundo, realizar um terceiro teste (GOTO et al., 2021).

A vacinação pode representar uma ferramenta de acompanhamento para prevenir o BVDV, mas sem remover animais PI não permitirá a eliminação do vírus de uma população susceptível (YESILBAĞ; ALPAY; BECHER, 2017). Além disso, apesar da diversidade de imunógenos, ainda não existe uma vacina comercial totalmente efetiva para o controle dessa enfermidade (BACCILI et al., 2018). No Brasil, há o registro de duas vacinas com vírus vivo modificado (MLV) e 19 vacinas inativadas (PACITO, BACCILI, GOMES; 2021).

A promoção de imunidade reforçada por meio da vacinação protege os animais da doença clínica e principalmente impede a transmissão transplacentária e a infecção fetal. No entanto, independentemente do tipo e protocolo de vacinação, têm caracterizada como regra que a proteção fetal é frequentemente incompleta (ARENHART et al., 2008), tendo como um dos motivos a variabilidade genética das cepas que circulam no campo (TOKER et al., 2020).

Se o bovino persistentemente infectado (PI), receber uma vacina viva contaminada com o vírus cp BVDV, infelizmente, pode desenvolver a doença da mucosa devido a essas coinfeções (YANG et al., 2021).

Destaca-se que a imunogenicidade do componente BVDV-1 não foi detectável em pelo menos quatro vacinas comercializadas no Brasil e, do BVDV-2, em pelo menos seis vacinas, sugerindo a revisão das estratégias de formulação e/ou produção das vacinas (ANZILIERO et al., 2015).

Estabelecer medidas contínuas de altos níveis de biossegurança considerando os fatores de risco pode evitar a reinfecção e reduzir a prevalência de animais PI de 1,8% a menos de 0,2% em apenas dois anos (LANYON et al., 2014). Além disso, a determinação da soroprevalência contra o agente causal viral para monitorar a circulação do vírus também atua como parte de esquemas de controle (DUBOVI, 2013; MAHMOODI et al., 2015).

Simulações de cenários de consequências econômicas e epidemiológicas do controle de BVDV em rebanhos da Holanda demonstraram que os benefícios da redução das perdas atribuíveis ao controle foram maiores do que os custos adicionais para a realização do cenário de controle e que, após o período de 10 anos, os custos líquidos dos cenários de controle sempre permanecerão menores em comparação com a situação atual em que medidas de controle adicionais não são tomadas (SANTMAN-BERENDS et al., 2015).

Um rebanho livre de BVDV contribui para o desempenho econômico positivo e adotar ações de quarentena e cerca dupla é mais lucrativo, no entanto, se o BVDV já estiver presente, a vacinação e a exposição estratégica ao animal PI (apesar do prejuízo ao bem-estar animal) resultam em um custo-benefício positivo (FOUTAIN et al., 2022).

Para o controle da infecção fetal por BVDV é necessária uma imunidade de rebanho global adequada, a imunização de novilhas suscetíveis pré-acasalamento e

ensaios de detecção eficazes para determinar o *status* da infecção por BVDV seja transitório ou persistente (EVERMANN; RIDPATH, 2002).

Os principais desafios para alcançar o controle e erradicação é determinar a melhor relação custo-benefício e meios socialmente aceitáveis de aplicação de medidas de controle de BVDV em cada sistema único de produção de bovino em nível de fazenda e nível da indústria, assim como a construção de um suporte para implementar medidas de controle de BVDV desde o envolvimento do produtor até a política nacional, e prevenir a reintrodução de BVDV em regiões livres da doença, gerenciando estrategicamente os riscos associados aos movimentos de animais, pessoal e equipamento (EVANS et al., 2019).

2.3 VÍRUS DE SCHMALLEMBERG (SBV)

2.3.1 Importância

A partir do final do verão e do outono de 2011, surgiu um quadro agudo em bovinos de leite na Alemanha e na Holanda caracterizado por febre, diarreia e diminuição da produção de leite como resultado de uma enfermidade que ainda não havia sido identificada (BALMER et al. 2015; COLLINS et al., 2019; VELDHUIS et al 2019; WERNIKE et al., 2019).

Então, foi detectado por análise metagenômica no Instituto Friedrich-Loeffle e descrito pela primeira vez o Vírus de Schmallenberg (SBV) em homenagem à localidade na Alemanha onde ocorreu o surto. A origem do SBV não foi descoberta, no entanto, foi especulado que seja procedente da África equatorial, agrupando-se próximo a outros vírus do sorogrupo Simbu (DASTJERDI et al., 2022; ENDALEW et al., 2019a; HOFFMANN et al., 2012).

O SBV se disseminou muito rapidamente por todo o continente e estabeleceu um *status* enzoótico, representando assim uma ameaça constante não só para o rebanho bovino europeu (WERNIKE; BEER, 2019) e estabeleceu um padrão de reemergência cíclica a cada dois a três anos (WERNIKE; BEER, 2020).

Estudos identificaram efeitos limitados na mortalidade e/ou produção e parâmetros de fertilidade no rebanho. No entanto, com a manifestação da doença

clínica, em explorações com uma elevada morbidade, uma queda pronunciada na produção de leite pode ter elevado impacto econômico (LECHNER et al., 2017).

Durante os últimos anos, perdas produtivas significativas, restrições ao comércio internacional e custos veterinários foram associados à enfermidade nos países afetados (JIMÉNEZ-RUIZ et al., 2019). Collins et al. (2019) relataram estudos que estimaram que os custos líquidos da doença por SBV no Reino Unido podem oscilar entre £16,30 a £51,40 no cenário de alto impacto e entre £8,20 a £25,90 no cenário de baixo impacto, respectivamente; na França, os custos líquidos da doença por SBV em £/espaço de vaca/ano variaram de £19,60 a £48,60 no cenário de alto impacto e £9,70 e £22,80 no cenário de baixo impacto, respectivamente.

2.3.2 Agente etiológico

O SBV pertence à espécie *Schmallenberg orthobunyavirus*, gênero *Orthobunyavirus*, Família *Peribunyaviridae*, Ordem *Bunyavirales*, Classe *Ellioviricetes*, Subfilo *Polyploviricotina*, Filo *Negarnaviricota*, Subreino *Orthornavirae*, Reino *Riboviria* (ICTV, 2019b).

Os ortobunyavirions são de forma esférica ou pleomórfica e de 80 a 120nm de diâmetro. A superfície envolvida (cerca de 5nm de espessura) possui projeções de heterodímeros de glicoproteínas (Gn e Gc) com cerca de 18nm de comprimento e cerca de 650 cópias por vírion. A superfície é uma treliça de picos de glicoproteína Gn-Gc organizada em ordem de tripé. A análise estrutural revelou que a variável N-terminal da metade da glicoproteína Gc é composta por dois domínios: um domínio da cabeça α -helicoidal de 27 kDa e uma haste que é dividida em dois sanduíches β tandem de 19 kDa dobrados de forma idêntica. O pico de projeção também é o principal alvo da resposta de anticorpos neutralizantes (ICTV, 2019b).

SBV está contido no sorogrupo Simbu que atualmente consiste em 32 vírus agrupados em 19 espécies, entre elas incluem o vírus Akabane (AKAV), vírus Aino, vírus Sathuperi (SATV), vírus Shamonda (SHAV), vírus Peaton (PEAV) e vírus Shuni (SHUV - suspeito de infectar humanos) e OROV (único vírus zoonótico deste sorogrupo, oriundo de rearranjos como o vírus Iquitos e vírus Madre de Dios, presente na América do Sul) (BEHAR et al., 2021, SICK et al., 2019).

Provavelmente, o SBV se originou como resultado da coinfeção dos vírus SATV e SHAV em qualquer um dos vetores *Culicoides* ou nos hospedeiros ruminantes (BEHAR et al., 2021).

É um vírus envelopado, de fita simples, vírus de RNA de sentido negativo com três segmentos genômicos: segmentos L (grande), M (médio) e S (pequeno). Sobreposição de quadros de leitura aberta (ORFs) do S segmento codifica a nucleoproteína N e a proteína não estrutural NS's, representando fatores de virulência importantes que regulam negativamente a síntese de mRNA da célula hospedeira e a produção de interferon tipo I em células de mamíferos, aumentando a replicação viral (ENDALEW et al., 2019a).

O SBV não sobrevive fora do hospedeiro ou vetor por longos períodos e perde ou reduz sua infecciosidade a 50–60°C durante pelo menos 30 minutos. É um vírus suscetível aos desinfetantes comuns (hipoclorito de sódio 1%, glutaraldeído 2%, etanol 70%, formaldeído) (WOAH, 2017).

2.3.3 Epidemiologia

O vírus foi isolado na Alemanha, Holanda, Bélgica, Estados Unidos, Reino Unido, França, Itália e Luxemburgo e foi detectado sorologicamente em 14 Estados-Membros da União Europeia, incluindo a Espanha (ZARAGOZANO, 2018).

Em ruminantes mantidos nas regiões centrais da epidemia, SBV causou uma soroprevalência alta, de aproximadamente 70% a quase 100% (WERNIKE; BEER, 2020). Na Rússia, os casos de SBV representaram 36,8% do número total de casos no mundo, indicando a magnitude e gravidade da doença no país (BOUCHEMLA et al., 2018).

Atualmente, o SBV é considerado enzoótico na Europa e surtos esporádicos e circulação viral foram relatados em outros continentes, incluindo Ásia e África (JIMENEZ-RUIZ et al., 2019). Recentemente, foram relatadas artrogripose em um cordeiro no norte da Escócia (SRUC, 2022) e malformações em bezerros da Dinamarca em 2020 decorrentes da infecção com SBV (AGERHOLM; WERNIKE, 2022).

No Brasil, De Souza Nunes Martins et al. (2022) analisaram por RT-PCR amostras de sangue bovino e fetos abortados e por ELISA indireto soros de bovinos, mas nenhuma das amostras foi positiva para SBV. Em Pernambuco, 368 amostras de soro de caprinos foram submetidas ao ELISA competitivo e negativas para SBV (FERREIRA, 2022).

SBV afeta ruminantes, predominantemente os bovinos (WINDHABER; XIN; LOZACH, 2021). Os estudos sorológicos e epidemiológicos demonstram que animais selvagens como alpacas, búfalo da Anatólia, alce, bisão, veado vermelho, gamo, veado, veado sika, iaque, camurça e javali podem ser hospedeiros (BOUCHEMLA et al., 2018; WERNIKE et al., 2021).

A vigilância atual da doença deve ser focada nas populações de animais selvagens para determinar seu potencial como reservatórios de SBV (BOUCHEMLA et al., 2018).

Foi relatada infecção por SBV em filhotes de cães com sinais neurológicos na França (SAILLEAU et al., 2013). SBV não é considerado zoonótico, embora esta possibilidade não possa ser descartada (ZARAGOZANO, 2018).

A transmissão vetorial é considerada a mais significativa rota de transmissão para SBV e uma variedade de espécies de *Culicoides* são conhecidas por transmitir o vírus (*Culicoides obsoletus*, grupo de espécies da família Ceratopogonidae, e foi demonstrado que múltiplos *Culicoides* spp.: *Culicoides dewulfi*, *Culicoides chiopterus*, *Culicoides punctatus*) (ENDALEW et al., 2019a).

Ocorre quando mosquitos não infectados se alimentam de sangue de um hospedeiro infectado por SBV (ex: bovino, ovino, caprino). Os culicídeos tornam-se infecciosos (SBV se replica em níveis transmissíveis dentro do mosquito) durante o período de incubação extrínseca (EIP), que se supõe variar entre 9 e 41 dias, dependendo das temperaturas microclimáticas nas fazendas (COLLINS et al., 2019).

O interesse por estes dípteros aumentou nas últimas duas décadas, principalmente devido às perdas econômicas sofridas pelos criadores de ruminantes resultantes da transmissão viral de SBV e do vírus da língua azul (KASIČOVÁ et al., 2021).

Autores concluíram que a espécie bovina foi a mais frequente parasitada por mosquitos *Culicoides* na Europa, especialmente *C. obsoletus* que representou

91,1% da fauna de todos os mosquitos picadores capturados e, por ser designado como um vetor potencial de SBV (KASIČOVÁ et al., 2021).

No Brasil, foram registradas 299 espécies de *Culicoides*, a maioria delas na Região Amazônica, e em Alagoas recentemente teve o primeiro relato de um membro dos Ceratopogonidae, *Culicoides insignis* (RIOS et al., 2021).

No Ceará, Felipe-Bauer et al. (2019) relataram os vetores *C. brasilianum* Forattini, 1956, *C. debilipalpis*, *C. guyanensis*, *C. insignis*, *C. leopoldoi*, *C. maruim*, *C. paraensis*, *C. pifanoi* Ortiz, 1951, *C. phlebotomus*, *C. poikilonotus* Macfie, 1948, *C. pusillus* e *C. venezuelensis* Ortiz & Mirsa, 1950.

A rápida disseminação do vírus provavelmente está relacionada ao vetor envolvido na transmissão do agente, com as taxas de soroprevalência atingindo 80-90% em animais expostos (LARSKA et al., 2013). O vento desempenha um papel importante na transmissão do vírus, já que infecta mosquitos que são facilmente transportados por correntes de ar. A taxa de propagação do SBV está estimada na faixa de 0,9 a 1,5 km/dia (ENDALEW et al., 2019a).

Em comparação com o sorotipo 8 do vírus da língua azul (BTV-8) que surgiu na mesma área da Europa em 2006, a disseminação do SBV foi avaliada como 20 vezes mais eficiente em termos de casos cumulativos e duas vezes em termos de distâncias percorridas (BAYROU et al., 2022).

Devido ao seu potencial de contribuir para o surgimento inesperado de doenças, eles devem ser minuciosamente pesquisados. Múltiplas detecções de novos vírus ou introduções de patógenos conhecidos em regiões anteriormente não afetadas durante a última década demonstram de forma impressionante que surtos de arbovírus são difíceis de prever no espaço e no tempo é fundamental realizar uma pesquisa profunda e vigilância sobre mosquitos picadores e seu papel como vetores (SICK et al. 2019).

A transmissão vertical, ocorre pela infecção transplacentária durante o primeiro e segundo trimestre de gestação (entre 60 e 150 dias) e geralmente resulta no nascimento de bezerros, cordeiros e cabritos deformados (ENDALEW et al., 2019a).

A transmissão horizontal direta do vírus em ovinos e bovinos por contato parece altamente improvável; no entanto, há evidências da presença de SBV no sêmen de touros, o que geralmente não ocorre regularmente e provavelmente

mediado por fatores do hospedeiro (REXHEPI et al., 2021). Não está demonstrada a transmissão via monta natural e se teria algum impacto pois o curto período de incubação e a curta viremia resolveria a infecção antes de a placenta estar estabelecida evitando a infecção do embrião (DASTJERD et al., 2022).

Animais infectados experimentalmente eliminam RNA do SBV nas fezes, fluidos orais e nasais, mas a transmissão para animais por contato, ou via oro-nasal ou feco-oral não foi relatada (ENDALEW et al., 2019a).

Foi detectado RNA de SBV no sêmen de bovinos, porém não está claro, se o SBV poderia infectar através da inseminação natural em caso afirmativo, se isso teria algum impacto, ocorrendo de forma não regular e geralmente é mediada por fatores do hospedeiro (DASTJERDI et al., 2022).

A idade dos animais, ambiente (disponibilidade de criadouros para vetores) e o sistema de criação, foram identificados como fatores de risco para a infecção por SBV (REXHEPI et al., 2021).

2.3.4 Patogenia e sinais clínicos

Nada se sabe sobre o mecanismo de penetração viral nas células de artrópodes. A transmissão para hospedeiros mamíferos ocorre durante a alimentação de sangue de artrópodes infectados. Na pele dos mamíferos, macrófagos dérmicos e células dendríticas estão entre as primeiras células a entrar em contato com o vírus. Para infectar células, primeiro obtém-se acesso ao ambiente intracelular. A primeira etapa depende das interações entre as partículas virais e receptores de superfície celular que podem ser proteínas, sacarídeos e lipídios. Foi demonstrado que os glicosaminoglicanos favorecem a infecção por SBV (WINDHABER; XIN; LOZACH, 2021).

Em condições experimentais, em ovinos e bovinos, a infecção por SBV exibe um curto período virêmico de cinco-sete dias, que começa no dia segundo ou terceiro pós-infecção (pi) e atinge o pico por volta do dia 4 pi (ENDALEW et al., 2019a; WERNIKE; BEER, 2020). Apresenta um curto período de recuperação (\leq quatro dias) e viremia curta (\leq seis dias) (DASTJERDI et al., 2022).

Apesar da viremia curta, o RNA do SBV foi detectado – às vezes de forma intermitente – até quase três meses após a soroconversão (GIVENS, 2018). SBV induz a apoptose por vias intrínsecas e extrínsecas e, além disso, a indução da via intrínseca pode ser modulada sobre o gene Puma (AKSOY; AZKUR, 2019).

Fetos ovinos podem ser mais suscetíveis à infecção por SBV antes do desenvolvimento da barreira hematoencefálica (em ovelhas, a barreira hematoencefálica começa a se desenvolver entre os dias 50 e 60 de gestação e atinge o desenvolvimento completo no dia 123). Anticorpos específicos para SBV pré-colostrais podem ser detectados em bezerras neonatos onde a mãe foi (presumivelmente) infectada com SBV entre os dias 47 e 162 de gestação (COLLINS et al., 2019).

Os principais achados macroscópicos observados em pequenos ruminantes são: artrogripose, curvatura da coluna vertebral, braquignatia inferior, cerebral congestão e hipoplasia cerebelar, outros efeitos teratogênicos, incluindo diferentes lesões cavitacionais do sistema nervoso central (porencefalia, hidranencefalia, hidrocefalia, microcefalia, macrocefalia), tamanho reduzido da medula espinhal, crânio abobadado ou achatado, septo interventricular cardíaco defeito, hidronefrose unilateral e atresia do cólon (JIMENEZ-RUIZ et al., 2019).

A hipoplasia grave do músculo esquelético com substituição dos miócitos por tecido adiposo é a única lesão significativa detectada em órgãos periféricos de ovelhas e bovinos infectados com SBV natimortos e recém-nascidos (JIMENEZ-RUIZ et al.; 2019).

A infecção pelo SBV resulta em malformações congênitas do sistema nervoso central e musculoesqueléticas, abortos, além de sinais clínicos agudos, mas não fatais quando ocorrem em bovinos adultos (BALMER et al., 2015; STAVROU et al., 2017).

Os sinais clínicos não são específicos, ocorrendo na curta duração do período de viremia e incluem febre, redução da produção de leite, diarreia. Em fêmeas gestantes, pode levar distúrbios reprodutivos como abortos, natimortos e malformações congênitas em recém-nascidos (COLLINS et al., 2019; JIMÉNEZ-RUIZ et al., 2019).

Este tropismo distinto para o sistema nervoso (SNC) de cordeiros e bezerros infectados no útero, levam a uma gama de deformidades distintas, incluindo hidroencefalia e artrogripose (STAVROU et al., 2017).

A artrogripose generalizada, geralmente referida como artrogripose múltipla congênita (AMC), é uma condição neuromuscular grave caracterizada por angulação e anquilose das articulações. Além do SBV e alguns outros vírus, a AMC pode ter outras causas, como defeitos genéticos (AGERHOLM; WERNIKE, 2022).

Os sinais da AMC incluem artrogripose, cifose, lordose, torcicolo, escoliose, braquignatia, leve a grave hipoplasia do sistema nervoso central, porencefalia, estreito medula espinhal ou poliomielite. Em fazendas francesas afetadas na fase inicial da epidemia de SBV, em média 8% dos cordeiros, mas apenas 3% dos bezerros apresentaram malformação congênita (KONIG et al., 2019).

Em cães observaram-se sinais neurológicos de ataxia, exotropia, inclinação da cabeça e crescimento atrofiado (SAILLEAU et al., 2013).

2.3.5 Diagnóstico

O diagnóstico clínico é limitado considerando que em animais adultos, o SBV causa principalmente infecções subclínicas, febre, diarreia e redução na produção de leite (ENDALEW et al., 2019a). Devido às semelhanças entre as características clínicas do SBV e outras infecções por vírus de ruminantes, o diagnóstico virológico e/ou sorológico é necessário para confirmar a suspeita da infecção por SBV (WERNIKE; BEER, 2019).

A detecção direta de vírus ou genoma viral é restrita no tempo, pelo curto período de viremia (WERNIKE; BEER, 2019). Para a detecção do SBV podem ser utilizados o cérebro, a medula espinhal, líquido placentário externo e o cordão umbilical (BILK et al., 2012).

A detecção indireta por meio de sorologia é mais promissora para o diagnóstico de infecção por SBV que por meio da identificação dos anticorpos que são induzidos entre uma e três semanas após a infecção e persistem por vários anos. Vários ELISA's comerciais ou *in house*, micro-neutralização ou testes de imunofluorescência indireta são acessíveis (WERNIKE; BEER, 2019a).

O ELISA é amplamente utilizado para diagnóstico e soropidemiologia por SBV. Kits comerciais de ELISA estão disponíveis e ELISAs *in house* são desenvolvidos por alguns pesquisadores (AZKUR et al., 2020).

Os kits de ELISA indireto e competitivo baseados na nucleoproteína (N) do SBV estão disponíveis comercialmente para a detecção de anticorpos específicos do SBV em amostras de soro, plasma e leite (AZKUR et al., 2020).

Os kits comerciais ELISA indireto – ID-VET® e ELISA competitivo – ID-VET® apresentam sensibilidade de 97,72% e 97,6%, e especificidade de 99,67%, 100%, respectivamente (ID-VET, 2012; ID-VET, 2020).

Estudos indicam que, na maioria dos bovinos e ovinos infectados com SBV, os anticorpos anti-SBV duram pelo menos 38 e 48 meses e a maioria dos bezerros e cordeiros nascidos de vacas ou ovelhas infectadas com SBV mostraram-se protegidas da infecção com SBV pelo menos nos primeiros seis anos e quatro meses (ENDALEW et al., 2019a).

2.3.6 Prevenção e controle

A falta de entendimento sobre o impacto econômico do SBV nos países afetados resultou em baixa aceitação da vacina, mas é provável que a imunidade do rebanho ao vírus em nível europeu e local diminuiu, criando condições potenciais para outro surto de deformidades fetais (STAVROU et al., 2017).

Vacinas inativadas ou vivas atenuadas têm sido desenvolvidas em países considerados como enzoóticos, mas ainda há interesse no desenvolvimento de vacinas contra o SBV que permitiriam a diferenciação de animais infectados de vacinados - DIVA (ENDALEW et al., 2019b).

Em regiões enzoóticas, a manutenção e a verificação regular dos diagnósticos são necessárias e em regiões ainda não afetadas, adequados sistemas de diagnósticos devem ser estabelecidos para serem preparados para uma possível introdução do agente (WERNIKE; BEER, 2019).

Quando um país está livre de um patógeno importante, mas corre risco de sua introdução, a vigilância visa a detecção precoce de surtos, por meio de

indicadores e doenças em populações definidas para aumentar a probabilidade de detecção oportuna de ameaça indefinida (nova) ou inesperada (exótica ou reemergente) e permite medidas de controle (se necessário) a serem implementadas rapidamente quando a incidência de casos for ainda baixa. Recursos precisam ser alocados para a identificação do patógeno, seu mecanismo de transmissão e seu potencial zoonótico. Além disso, seu impacto em termos de doença clínica em animais afetados e seus descendentes e em termos de perda de produtividade precisa ser estimado (VELDHUIS et al., 2019).

2.4 *LEPTOSPIRA* spp.

2.4.1 Importância

A leptospirose é uma doença zoonótica de grande impacto na saúde pública humana e veterinária, causada por bactérias do gênero *Leptospira* (WOAH, 2022, ZAMIR et al., 2022). O primeiro relato da leptospirose no Brasil ocorreu no Pará, em 1917 (MCDOWEL, 1917)

Atualmente, é considerada uma doença emergente ou reemergente, aumentando a preocupação com as medidas de prevenção de doenças humanas, em animais de produção e o papel da vida selvagem em todo o processo epidemiológico (ZBIGNIEW et al., 2022).

Estima-se que a leptospirose seja uma das principais zoonoses, com importância social e econômica por apresentar elevada incidência em determinadas áreas, com alto custo hospitalar e perdas de dias de trabalho e ocasiona, a cada ano, mais de 1 milhão de casos em todo o mundo, com letalidade que pode chegar a 40% (COSTA et al., 2015; LEITE et al., 2018).

Contudo, a leptospirose humana é classificada como Doença Tropical Negligenciada (DTN), por sua estreita relação com a pobreza, desinteresse público pela sua resolução e possível necessidade de tratamento oneroso permanente ou de longo prazo após a infecção (MARTINS; SPINK, 2020).

Na pecuária bovina, ocasiona um grande impacto, produzindo distúrbios reprodutivos como infertilidade, aborto, natimortalidade e mortalidade perinatal (CHEUQUEPÁN VALENZUELA et al., 2020).

2.4.2 Agente etiológico

O agente é uma bactéria do gênero *Leptospira*, Família *Leptospiraceae*, Ordem *Leptospirale*, Classe *Spirochaetia*, Filo *Spirochaetota*, Subreino Negibacteria Reino *Bacteria* (PARKER; TINDALL; GARRITY, 2019).

O gênero *Leptospira* spp., consiste em 66 espécies e existem mais de 300 sorovares de leptospira distintos reconhecidos e estão organizados em 30 sorogrupos. Os sorovares patogênicos e não patogênicos podem pertencer à mesma genoespécie e, como já foi demonstrada heterogeneidade genética dentro do mesmo sorovar, o uso de ambas as classificações para a determinação de uma cepa está bem estabelecido (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020; WOA, 2021).

Quanto à patogenicidade, o gênero foi reclassificado em 13 espécies patogênicas: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolff* (URZEDA et al., 2020).

Tradicionalmente é dividido em duas espécies, *Leptospira interrogans*, com vários sorovares patogênicos, *Leptospira biflexa* com sorovares saprófitas. O gênero está dividido com base na diferenciação molecular entre os diversos sorovares, considerando a classificação das espécies por homologia de DNA e, dentro de cada espécie, os sorovares são reconhecidos baseando nas reações sorológicas, sendo aqueles com antígenos incluídos em um mesmo sorogrupo (MELO; PECONICK, 2019).

As leptospiras são bactérias gram-negativas, finas, helicoidais enroladas e medem aproximadamente 0,1 µm de diâmetro e 6 a 20 µm de comprimento, por isso é necessário à microscopia de campo escuro ou contraste de fase para visualizá-las, por meio da impregnação com metais (coloração de prata) ou após espessamento artificial por imunoperoxidase ou imunofluorescência (MELO; PECONICK, 2019).

Diferente de outras espiroquetas importantes, como *Treponema* e *Borrelia*, *Leptospira* spp. apresenta lipopolissacarídeos (LPS) em sua superfície, característica de sua patogenicidade, e outros fatores de virulência incluem proteínas de membrana externa, hemolisinas, proteínas de superfície e adesinas (RINEHART et al., 2012).

A bactéria pode sobreviver no ambiente por até seis meses, especialmente em solos básicos (pH, 7,2 a 8,0) e em um ambiente quente e úmido, mas geralmente não sobrevive em condições secas ou extremamente frias (RINEHART et al., 2012). A leptospira é mais frequente em solos com umidade > 20% e sobrevive em temperaturas que variam de 4 a 40°C (BAQUERO; MACHADO, 2019).

2.4.3 Epidemiologia

A leptospirose é uma enfermidade com distribuição mundial, apesar da maior incidência registrada em áreas tropicais e subtropicais, é considerada uma das zoonoses mais difundidas geograficamente no mundo (GUTIÉRREZ-MOLINA et al., 2022; ZBIGNIEW et al, 2022).

Os países situados nos trópicos possuem a maior prevalência estimada da doença e foram responsáveis por 73% dos casos humanos estimados no mundo, atribuída às condições ambientais e sociais que promovem a abundância de animais reservatórios, a sobrevivência da bactéria no solo e nas águas superficiais e o risco de exposição humana a essas fontes de infecção (COSTA et al., 2015).

O Brasil teve 40,2% dos casos humanos notificados da América Latina, seguido em proporção de casos notificados pelo Peru (23,6%), Colômbia (8,8%) e Equador (7,2%) (BAQUERO; MACHADO, 2019).

A leptospirose é a zoonose, mais comum na pecuária leiteira, onde o contato direto e a manipulação constante dos animais podem representar risco para o homem (GUEDES et al, 2021).

Favero et al. (2001), no período de 1984 a 1997, observaram 58,4% (59/101) de positividade em soros de bovinos procedentes de Alagoas, utilizando a SAM, com os sorovares Hardjo (55,5%) e Wolffi (11,1%) mais detectados. Outros estudos de soroprevalência de sorovares estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Soroprevalência pela SAM, para a infecção por *Leptospira* spp. em alguns estados brasileiros, distribuídos por ordem crescente de prevalência.

Prevalência	Sorovares	Estado	Autores
40,5%	Hardjo (12,38%), Shermani (11,59%), Hebdomadis (10,85%)	RO	Rocha et al. (2022)
45,4%	Hardjo (34,49%), Shermani (8,37%) e Wolffi (5,34%)	BA	Oliveira et al. (2009)
47,6%	Hardjo (21,98%), Bratislava (15,73%), Castellonis (11,64%)	PE	Oliveira et al. (2001)
82,4%	Wolffi (36,49%), Shermani (18,43%), Hebdomadis (8,66%)	MS	Santos et al. (2021)
89,7%	Hardjo (58,17%), Icterohaemorrhagiae (17,32%) e Australis (4,58%)	PB	Pimenta et al. (2014)
100%	Patoc (97%), Castellonis (84%) e Hardjo (83%)	MA	Paixão et al. (2016)

Os sorovares Hardjo e Wolffi pertencem ao mesmo sorogrupo e são descritos como os mais frequentes na espécie bovina, destacam-se também os sorovares Pomona, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae (SANTOS et al., 2021).

O sorovar Hardjo possui dois tipos distinguíveis apenas geneticamente: *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo (tipo Hardjoprajitno) e *Leptospira borgpetersenii* sorovar Hardjo (tipo Hardjo-bovis) (FURQUIM; SANTOS; MATIAS, 2021).

Além das características climáticas, como a alta frequência de chuvas, temperaturas quentes e pH do solo favoráveis à sobrevivência do agente e à preservação de sua patogenicidade por longos períodos, existem animais silvestres portadores de diferentes sorovares de *Leptospira* spp., o que aumenta a exposição dos bovinos a um ambiente muito contaminado (MARTINS; LILENBAUM, 2017).

Leptospira spp. pode infectar qualquer espécie animal, mas na realidade apenas um pequeno número de sorovares são enzoóticos em qualquer região ou país em particular e cada sorovar tende a ser mantido em hospedeiros de manutenção específicos (WOAH, 2021).

Um hospedeiro de manutenção é definido como uma espécie em que a infecção é endêmica e geralmente é transferida de animal para animal por contato direto (LEVETT, 2001).

Infecções acidentais em bovinos podem ser ocasionadas por uma variedade de outros sorovares tais como: Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Canicola, Hebdomadis, Sejroe, Pyrogenes, Autumnalis, Australis, Javanica, Tarassovi (ELLIS, 2015).

Portanto, em qualquer região, uma espécie de animal doméstico será infectada por sorovares mantidos por uma espécie ou por sorovares mantidos por outras espécies animais presente na área. A importância relativa dessas infecções incidentais é determinada pela oportunidade de que fatores sociais, de gestão e ambientais prevaletentes proporcionam o contato e a transmissão de leptospiras de outras espécies (WOAH, 2021).

A transmissão desse patógeno depende dos hospedeiros (por exemplo, imunologia e fisiologia) e do ambiente, por exemplo, água, pH dos solos, precipitação anual e temperatura média anual (GUTIÉRREZ-MOLINA et al., 2022).

As infecções em bovinos ocorrem por contato direto com a urina ou indiretamente por contato com água e alimento contaminado. Esse mecanismo de transmissão é essencial para infecções incidentais, onde outras espécies hospedeiras, como suínos e animais selvagens que atuam como reservatórios (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020). O bovino pode se infectar pelo contato direto também com fluidos genitais de animais infectados, ou indiretamente de um ambiente contaminado, mas também pode ocorrer transmissão venérea e transplacentária (MUGHINI-GRAS et al. 2014).

Para infecções por sorovares adaptados, o contato direto deve ser considerado, principalmente por contaminação pela urina, que está bem documentada, mas a transmissão sexual é constantemente subestimada e não deve ser negligenciada (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

O sorovar Hardjo pode ser isolado em leite cru infectado armazenado a 4°C por um período de 10 dias (MAZZOTA et al., 2021). A excreção de leptospiras patogênicas de hospedeiros bovinos soronegativos não é incomum e destaca a utilidade limitada da SAM para detectar animais portadores assintomáticos (HAMOND et al., 2022).

Dentre os fatores de risco para a leptospirose pode-se citar o tamanho do rebanho, compra de reprodutores, compartilhamento de pastagem, abate de reprodutores na propriedade, criação de suínos, cães, equinos, animais silvestres e presença de cervídeos (OLIVEIRA et al., 2010).

2.4.4 Patogenia e sinais clínicos

Os genes de virulência da *Leptospira spp* não possui homólogos em outras espécies bacterianas, e possui um mecanismo de virulência único (KARPAGAM; GANESH, 2020). A alta mobilidade conferida pelos flagelos periplasmáticos da leptospira permite que as bactérias invadam o organismo hospedeiro por penetração ativa (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

A bactéria penetra o hospedeiro a partir do ambiente por meio de ferimento ou qualquer contato mucoso, rompe a membrana e entra na corrente sanguínea através de fatores quimiotáticos em dois a sete dias a partir do dia da inoculação no hospedeiro (KARPAGAM; GANESH, 2020).

Com a invasão do tecido e do sistema vascular a bactéria coloniza e persiste no túbulo proximal do rim, o que pode resultar em inflamação crônica túbulo-intersticial, bem como fibrose (MIGUEL et al., 2020). Muitos animais tornam-se portadores e excretam a bactéria intermitentemente (YAMAGUCHI et al., 2018) e podem contaminar o solo, águas superficiais, córregos, poças e rios (LOUREIRO E LILENBAUM, 2020).

A patogênese da bactéria no trato reprodutivo é desconhecida, embora tenham sido identificados mediadores da resposta inflamatória, que podem alterar a ovulação, o desenvolvimento embrionário inicial e a implantação (ORJUELA; PARRA-ARANGO; SARMIENTO-RUBIANO, 2022).

Muitas infecções por *Leptospira spp.* em bovinos são subclínicas, particularmente em animais não gestantes e não lactantes, e são detectadas apenas pela presença de anticorpos ou lesões de nefrite intersticial durante o abate (GROOMS; BOLIN, 2005; SENTHILKUMAR; RAVIKUMAR, 2022). A gravidade desta doença depende da patogenicidade e da carga bacteriana além do estado imunológico do paciente (MIGUEL et al., 2020). No entanto, sinais envolvendo a

doença grave são incomuns e estão associadas à infecção por cepas pertencentes aos sorogrupos Pomona, Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa em animais jovens, que podem apresentar pirexia, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia, ocasionalmente meningite e morte, e em vacas lactantes, infecções acidentais (ELLIS, 2015).

A forma clínica é caracterizada por sinais de alta temperatura 39°C a 40°C, início súbito de agalactia (em vacas leiteiras e ovelhas adultas); icterícia e hemoglobinúria, especialmente em animais jovens; meningite; e insuficiência renal aguda ou icterícia em cães (WOAH, 2021; SENTHILKUMAR; RAVIKUMAR, 2022).

Os bezerros podem apresentar dores musculares intensas, tendendo a aparecer entre três a sete dias após o início dos sinais, pode-se observar hepatoesplenomegalia (MIGUEL et al., 2020).

A forma subaguda a crônica da doença é mais frequentemente associada às sequelas reprodutivas, incluindo infecção fetal em vacas prenhes, apresentando-se como aborto de um feto autolisado, natimorto ou nascimento de bezerros prematuros e fracos infectados, infertilidade, insuficiência renal crônica ou crônica ativa hepatite em cães; e casos de oftalmia periódica em cavalos (GROOMS; BOLIN, 2005; WOAH, 2021).

Recentemente, foi descrita uma síndrome distinta denominada Leptospirose Genital Bovina (LGB), uma doença reprodutiva silenciosa e crônica caracterizada por morte embrionária levando à repetição do estro e subfertilidade, a forma mais comum de leptospirose em bovinos, no entanto a sua característica subclínica a torna uma síndrome negligenciada (LOUREIRO; LILENBAUM., 2020).

2.4.5 Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da leptospirose pode ser complexo e envolve testes que se enquadram em dois grupos: um de detecção do antígeno em tecidos ou fluidos corporais de animais e o outro com o objetivo de detectar anticorpos anti-*Leptospiras*. O teste específico selecionado depende da finalidade da investigação

epidemiológica (por exemplo, pesquisas de rebanho ou testes individuais em animais) e sobre os testes ou conhecimentos disponíveis na área (WOAH, 2021).

Dentre os testes diretos destacam-se a coloração das lâminas de histopatologia com prata que permite a visualização direta do patógeno nos túbulos renais (WOAH, 2020).

A imunohistoquímica é um método direto de fácil execução e que demanda pouco tempo de preparação, na rotina diagnóstica pode ser utilizada para investigar quanto à presença de leptospiros em amostras de tecidos provenientes de fetos abortados ou animais suspeitos (HAANWINCKEL et al., 2004). A PCR é um teste direto que possui protocolos amplamente variáveis (WOAH, 2020).

O procedimento para o cultivo direto da bactéria, apesar de ser o melhor método para determinar o sorovar infectante, é trabalhoso e requer longos períodos de incubação, que pode levar de 12 a 26 semanas (WOAH, 2020). O isolamento bacteriano possibilita a inclusão de cepas isoladas na bateria de antígenos de referência, utilizada na SAM, útil em estudos epidemiológicos, assim como a análise proteômica, que avalia diferenças protéicas intraespécies e sorotipos, para uma compreensão melhor da patogenicidade de diversas cepas bacterianas e possibilitando a criação de novos tipos de vacinas para bovinos com cepas regionais em áreas endêmicas (CHIDEROLI et al., 2016).

Considerando a dificuldade do isolamento bacteriano, rotineiramente o diagnóstico é direcionado para a detecção de anticorpos (DELOOZ, et al., 2017; SILVA PINTO et al., 2016). A SAM é considerada o teste sorológico padrão e os antígenos selecionados para o uso neste teste devem incluir cepas representativas dos sorogrupos conhecidos existentes na região, bem como aquelas que se sabe serem mantidas, mesmo que em outra região, pela espécie hospedeira em teste (WOAH, 2021). Seu valor epidemiológico reside em sua capacidade de distinguir o sorogrupo circulante. No entanto, este ensaio requer experiência significativa para ser realizado, a variação interlaboratorial nos resultados é alta e os resultados devem ser interpretados com cautela (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

A SAM possui alta especificidade sendo amplamente adotado para detecção de infecção por *Leptospira* em humanos e animais. A sensibilidade do teste é baixa (pode ser inferior a 50%) para detecção de infecção em animais individuais, especialmente para detecção de infecções crônicas com sorovares adaptados ao

hospedeiro (ZAMIR et al., 2022). Animais infectados podem abortar ou ser portadores renais/genitais com títulos SAM abaixo do título significativo mínimo amplamente aceito de 1/100 (diluição final) (WOAH, 2021).

2.4.6 Prevenção e controle

A dinâmica da epidemiologia da leptospirose e a diversidade de animais selvagens que podem estar atuando como reservatórios podem tornar o controle da leptospirose bovina muito desafiador, caro e frustrante. Para reduzir os efeitos da doença em bovinos, foi proposto que o controle deve incorporar terapia antibiótica trinomial (principalmente estreptomicina), vacinação sistemática (bacterinas de célula inteira) e manejo ambiental (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

Os estudos de soroprevalência demonstram a necessidade do reforço de medidas de prevenção e controle, em particular a vacinação, por ser um método eficaz e prático (PIMENTA et al., 2014).

A implementação de um programa de biossegurança contribui para a prevenção e controle e que pode incluir: controle de pragas nas fazendas e programas extras de sanitização ambiental, remoção de pilhas de material a ser descartado, corte de áreas perimetrais, utilização de cerca nas pastagens compartilhadas com outros rebanhos ou por espécies diferentes (especialmente ovinos e suínos) ou com animais silvestres, bem como limitar o acesso à fontes potencialmente contaminadas (água), manutenção de um rebanho fechado (proibição de movimentos de animais) e administração de suplementos vitamínicos e minerais de alta qualidade para prevenir o apetite depravado, particularmente a ingestão de chorume e urina (MUGHINI-GRAS et al., 2014).

Um método para controlar a leptospirose combina a redução da prevalência da infecção por sorovares mantidos na população e a diminuição do grau de exposição ecológica à leptospira mantida por animais de vida livre (NICOLINO et al., 2014).

Além da vacinação com os sorovares da região, para se alcançar o controle são necessários esforços no cultivo de cepas locais, além dos avanços na tipagem

molecular, para que a leptospirose não permaneça endêmica nos países em desenvolvimento (LILENBAUM; MARTINS, 2014).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Realizar um estudo sorológico das infecções pelo Alphaherpesvirus Bovino tipo I (BoAHV-1), Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), Vírus de Schmallerberg (SBV) e *Leptospira* spp. em bovinos no Estado de Alagoas, Brasil.

3.2. Específicos

- Determinar a prevalência da infecção por Alphaherpesvirus Bovino tipo 1 (BoAHV-1);
- Determinar a prevalência da infecção por Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV);
- Determinar a prevalência da infecção por Vírus de Schmallerberg (SBV);
- Determinar a prevalência da infecção por *Leptospira* spp.

REFERÊNCIAS

AGERHOLM, J. S.; WERNIKE, K. Occurrence of malformed calves in April-May 2021 indicates an unnoticed 2020 emergence of Schmallenberg virus in Denmark. **Transboundary and emerging diseases**, v. 69, n. 5, p. 3128-3132, 2022.

AKSOY, E., & AZKUR, A. K. Schmallenberg virus induces apoptosis in Vero cell line via extrinsic and intrinsic pathways in a time and dose dependent manner. **The Journal of veterinary medical science**, v. 81, n. 2, p. 204–212, 2019.

AL-KUBATI, A. et al. Recent Advances on the Bovine Viral Diarrhea Virus Molecular Pathogenesis, Immune Response, and Vaccines Development. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, n. 665128, 2021.

ALEXANDRINO, B. et al. HERPESVIRUS BOVINO ASSOCIADO À DIARRÉIA VIRAL BOVINA E À LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA. **ARS VETERINARIA**, Jaboticabal, SP, v. 27, n. 3, p. 168-174, 2011.

ALVES, M. E. M. et al.. Co-infection by Neopora caninum and bovine viral diarrhea virus in cattle from Rio Grande do Sul, Brazil, destined to exportation. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 40, n. Pesq. Vet. Bras., 2020 40(8), p. 593–597, ago. 2020.

ANZILIERO, D. et al. Resposta sorológica aos herpesvirus bovino tipos 1 e 5 e vírus da diarreia viral bovina induzida por vacinas comerciais. **Ciência Rural**, v. 45, n.1, jan, 2015.

AONO, F. H.; COOKE, A. A.; ALFIEIRI, J. L.M. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. **Theriogenology**, v. 79, p. 242–248, 2013.

ARENHART, S. et al. Fetal protection against bovine viral diarrhea virus (BVDV) in pregnant cows previously immunized with an experimental attenuated vaccine. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 461-470, 2008.

ARNAIZ, I. et al. Bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection: Effect on reproductive performance and milk yield in dairy herds. **Veterinary journal** (London, England: 1997), v. 277, n. 105747, 2021.

ASMARE, K. et al. Serological evidence of Bovine herpesvirus-1, Bovine Viral Diarrhea virus and Schmallenberg virus infections in relation to reproductive disorders in dairy cattle in Ethiopia. **Acta tropica**, v. 178, p. 236–241, feb 2018.

AZKUR, A. K. et al. Optimisation of Indirect ELISA by Comparison of Different Antigen Preparations for Detection of Antibodies Against Schmallenberg Virus Kafkas **Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 26, n. 6, p. 795 – 800, 2020.

BACCILI, C.C. et al. Influência da vacinação materna na transferência de imunidade passiva contra as viroses respiratórias dos bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** [online], v. 70, n. 02, p. 391-400, 2018.

BALMER, S. et al. Schmallenberg virus activity in cattle in Switzerland in 2013. **The Veterinary record**, v. 177, n. 11, p. 289, 2015.

BAQUERO, O. S.; MACHADO, G. Author Correction: Spatiotemporal dynamics and risk factors for human Leptospirosis in Brazil. **Scientific Reports**, v. 9, p. 7000, 2019.

BARBOSA, J. Q. et al. High prevalence of persistently infected animals from bovine viral diarrhoea in Colombian cattle. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 23, 2019a.

BATISTA, H. B. C. R. et al. Herpesvírus bovinos (BoHV-1.1 e BoHV-1.2b) em forma infecciosa em encéfalos de bovinos submetidos ao diagnóstico de raiva no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1023-1028, Oct. 2010.

BAUERMANN, F. V. et al. Teste imunoenzimático com base em anticorpo monoclonal para a detecção de anticorpos contra os herpesvírus bovino tipos 1 e 5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 5, p. 411-417, 2010.

BAYROU, C. et al. Schmallenberg virus, cyclical reemergence in the core region: A seroepidemiologic study in wild cervids, Belgium, 2012-2017. **Transboundary and emerging diseases**, v. 69, n. 3, p. 1625–1633, 2022.

BECHER, P., THIEL, H.J. **Pestivirus (Flaviviridae)**. In: TIDONA, C.A., DARAI, G. (Eds.), Springer Index of Viruses, Second Ed. Springer Verlag, Heidelberg, Germany, p. 483–488, 2011.

BEHAR, A. et al. J. Genomic Detection of Schmallenberg Virus, Israel. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 8, p. 2197-2200, 2021.

BENAVIDES, B. et al. Development of a quantitative risk assessment of bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus-1 introduction in dairy cattle herds to improve biosecurity. **Journal of Dairy Science**. v. 103, p. 6454–6472, 2021.

BEZERRA, D. C. et al. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros da região amazônica maranhense. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.1, p.107-111, jan./mar. 2012.

BILK, S. et al. Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. **Veterinary Microbiology**, v. 159, n. 1–2, p. 236-238, 2012.

BOTTON, N. Y. et al. Infection by bovine Alphaherpesvirus 1 and 5 and the induction of mucosal immunity. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. e56311528739, 2022.

BOUCHEMLA, F. et al. Epizootiological study on spatiotemporal clusters of Schmallenberg virus and Lumpy skin diseases: The case of Russia. **Veterinary world**, v.11, n. 9, p. 1229–1236, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013.

BROCK, J. et al. Epidemiology of age-dependent prevalence of Bovine Herpes Virus Type 1 (BoHV-1) in dairy herds with and without vaccination. **Veterinary Research**, v. 51, n.1, p. 124, 2020.

BRUM, M. C. S. et al. Immunogenicity of an inactivated bovine herpesvirus type 5 strain defective in thymidine kinase and glycoprotein E. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 57-62, 2010.

CAN, M. F.; ATASEVEN, V. S.; YALÇIN, C. Estimation of production and reproductive performance losses in dairy cattle due to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) infection. **The Journal Veterinarski Arhiv**, v. 86, n. 4, p. 499-513, 2016.

CANAL, C. et al. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 63, p. 85-97, 1998.

CHAVES, N. P *et al.* Frequência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina em bovinos leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 4, p. 495-502, dec. 2012.

CHEUQUEPÁN VALENZUELA, F. et al. Improvement of *Leptospira* spp. diagnosis in aborted bovine fetuses by qPCR. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 73, n. 101555, 2020.

CHI, S. et al. Non-structural proteins of bovine viral diarrhea virus. **Virus genes**, n.58, p. 491-500, 2022.

CHIDEROLI, R. T. et al. Isolamento e caracterização molecular de *Leptospira borgpetersenii* sorovar Hardjo cepa Hardjobovis na urina de bovinos naturalmente infectados no Brasil. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 1, p. gmr8473, 2016.

CHO, Y. I.; YOON, K. J. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. **Journal Veterinary Science**. 2014 Mar; v.15, n. 1, p. 1-17, 2015.

COLLINS, Á.B. et al. Vírus Schmallerberg: uma revisão sistemática da literatura internacional (2011-2019) sob uma perspectiva irlandesa. **Irish Veterinary Journal**, v. 72, p. 9, 2019.

ÇOMAKLI, S.; ÖZDEMİR, S. Comparative Evaluation of the Immune Responses in Cattle Mammary Tissues Naturally Infected with Bovine Parainfluenza Virus Type 3 and Bovine Alpha herpesvirus-1. **Pathogens**. 2019; v. 8, n. 1, p. 26, 2019.

COSTA, F et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 9, n.9, e0003898., 2015.

COSTA, E. P. et al. BoHV-1 (o vírus da IBR) e sua relação com estruturas e órgãos genitais da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.254-263, jan./mar. 2017.

DAGALP, S. B. et al. Molecular and antigenic characterization of bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) strains from cattle with diverse clinical cases in Turkey. **Tropical animal health and production**, v. 52, n. 2, p. 555–564, 2020.

DASTJERDI, A. et al. Examining bull semen for residues of Schmallerberg virus RNA. **Transboundary and emerging diseases**, v. 69, n. 4, p. e153-e160, 2022.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; D' ANGELINO, J. L. Herpesvirus Bovino tipo I (HVB-I): revisão e situação atual no Brasil/ *Typel bovineherpesvirus (HVB-I): reviewandcurrentsituation in Brazil/ Herpesvirusvacuno tipo 1 (HVB-1): revisión y*

situación actual em el Brasil. Rev. educocontin. CRMV-SP/ Continuous Education Journal CRMV-SP. São Paulo, v. 5, fascículo 3., p. 300-312, 2002.

DEL FAVA, C. et al. MODELO DE MANEJO SANITÁRIO PARA ERRADICAÇÃO DO HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 (HVB-1) EM REBANHO BOVINO LEITEIRO. **Indústr.anim.**, n. Odessa, v. 60, n.2, p.163-171, 2003.

DELOOZ, L. et al. Serogroups and genotypes of *Leptospira* spp. strains from bovine aborted fetuses. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.65, n.1. p. 158-165, 2018.

DE SOUZA NUNES MARTINS, M. et al. Schmallenberg virus: research on viral circulation in Brazil. **Brazil Journal Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 377–383, 2022.

DEZEN, S. et al. Perfil da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em um rebanho bovino leiteiro de alta produção e com programa de vacinação contra o BVDV. **Pesquisa Veterinária. Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 141-147, feb. 2013.

DIAS, J. A. et al. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária. Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p. 161-168, mar. 2008.

DIAS, J. A. et al. 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.

DUARTE, P. M; SANTANA, V., T. P. Registro de Herpesvírus Bovino (BoHV-1 e BoHV-5) em Rebanho Leiteiro de Propriedades Agro Familiares da Cidade de Alegrete – RS. **Ensaio**, v. 22, n. 3, p. 166-170, 2018.

DUBOVI, E.J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus. **Biologicals**, v. 41, p. 8-13, 2013.

ELLIS, W. A. Animal leptospirosis. **Current topics in microbiology and immunology**, v. 387, p. 99–137, 2015.

EMADI, A. et al. Development of an in-house Indirect ELISA for detection of bovine viral diarrhoea virus antibodies in bovine sera. **Journal of Virological Methods**, v. 308, n. 114576, 2022

ENDALEW, A. D. et al. Schmallenberg Disease—A Newly Emerged Culicoides-Borne Viral Disease of Ruminants. **Viruses**, v. 11, n. 11, p. 1065, 2019a.

ENDALEW, A. D. et al. Imunogenicidade e eficácia das vacinas da subunidade da glicoproteína do envelope do vírus de Schmallenberg. **Journal of Veterinary Science**, v. 20, n. 6, p. e58, 2019b.

EVANS, C. A. et al. Global knowledge gaps in the prevention and control of bovine viral diarrhoea (BVD) virus. **Transboundary and emerging diseases**, v. 66, n. 2, p. 640–652, 2019.

EVERMANN, J. F.; RIDPATH, J. F. Clinical and epidemiologic observations of bovine viral diarrhoea virus in the northwestern United States. **Veterinary Microbiology**, v. 89, edições 2–3, p. 129-139, 2002.

FAVERO, E. et al. LEPTOSPIROSE BOVINA - VARIANTES SOROLÓGICAS PREDOMINANTES EM COLHEITAS EFETUADAS NO PERÍODO DE 1984 A 1997 EM REBANHOS DE 21 ESTADOS DO BRASIL. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.2, p.29-35, jul./dez., 2001.

FELIPPE-BAUER, M. L. et al. Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) from Ceará State, northeastern Brazil: Diversity, new records and bionomic approaches. **Cuadernos de Investigación UNED**, Sabanilla, Montes de Oca, v. 11, n. 2, p. 137-144, June 2019 .

FERNANDES, L. G. et al. Spatial analysis for bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus type 1 infections in the state of Paraíba, northeastern Brazil. **Veterinary Research**, v. 14, n. 102, 2018.

FERNANDES, L. G. et al. Bayesian estimation of herd-level prevalence and risk factors associated with BoHV-1 infection in cattle herds in the State of Paraíba, Brazil, **Preventive Veterinary Medicine**, v. 169, n. 104705, 2019.

FERREIRA, L. C. L. et al. A. Doença das mucosas associada à dermatite generalizada em bovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira [online]**, v. 28, n. 6, p. 285-292, 2008.

FERREIRA, H. et al. Latent bovine herpesvirus 1 and 5 in milk from naturally infected dairy cattle. **The Journal of veterinary medical science**, v. 80, n.11, p. 1787–1790, 2018.

FERREIRA, M. N. S. Estudo sorológico de *Toxoplasma gondii* e Schmallenberg vírus em rebanhos caprinos no estado de Pernambuco. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-graduação Biociência Animal, Recife, p. 65, 2022.

FINO, T. C. et al. Diarréia Bovina a Vírus (BVD) - Uma breve revisão. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 2, p. 131-140, 2012.

FLORES, E. F. et al. A infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 125-134, 2005.

FLORES, E. F. HERPESVÍRUS BOVINOS TIPOS 1 E 5. **1º International Symposium of Dairy Cattle**, 2013.

FOUNTAIN, J. et al. One size does not fit all: Exploring the economic and non-economic outcomes of on-farm biosecurity for bovine viral diarrhoea virus in Australian beef production. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 208, n. 105758, 2022.

FREITAS, B. B., et al. Prevalência de bovinos persistentemente infectados com o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em rebanhos bovinos leiteiros no Estado do Paraná, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira** [online], v. 41, e06622, 2021.

FULTON, R. W. et al. Bovine herpesvirus-1: evaluation of genetic diversity of subtypes derived from field strains of varied clinical syndromes and their relationship to vaccine strains. **Vaccine**, v. 33, n. 4, p. 549–558, 2015.

FURQUIM, M. E. C; SANTOS, R. F.; MATHIAS, L. A. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em amostras de soro bovino de vários estados brasileiros analisadas no período de 2007 a 2015. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** [online], v. 73, n. 02, 2021.

GAETA, N. C.; et al. Serological investigation of antibodies against respiratory viruses in calves from Brazilian family farming and their relation to clinical signs of bovine respiratory disease. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 642-648, abr 2018.

GIVENS, M., & NEWCOMER, B. Perspective on BVDV control programs. **Animal Health Research Reviews**, v. 16, n. 1, p. 78-82, 2015.

GIVENS M. D. Review: Risks of disease transmission through semen in cattle.

Animal: an international journal of animal bioscience, v. 12, n. s1, p s165–s171, 2018.

GOTO, Y. et al. An Importance of Long-Term Clinical Analysis to Accurately Diagnose Calves Persistently and Acutely Infected by Bovine Viral Diarrhea Virus 2. **Viruses**, v. 13, n.12, p. 2431, 2021.

GROOMS, D. L.; BOLIN, C. A. Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhea virus and *Leptospira* spp. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 1, n. 2, p. 463–472, 2005.

GUEDES, I. B. et al. *Leptospira* strains isolated from cattle in the Amazon region, Brazil, evidence of a variety of species and serogroups with a high frequency of the Sejroe serogroup. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 74, 101579, 2021.

GUNGOR, A. B.; OZKUL, A. Dynamics of natural bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) infection in a dairy herd. **Tropical Animal Health and Production**, v. 39, n. 1, p. 13–20, 2007.

GUTIÉRREZ-MOLINA, R. et al. Spatial epidemiology of *Leptospira* sp. exposure in bovines from Veracruz, México. **Transboundary and emerging diseases**, v.69, n.4, e682-e692, 2022.

HAANWINCKEL, M. C. S. et al. Avaliação da prova de imunoperoxidase como recurso diagnóstico na leptospirose animal. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, n.3, p.293-301, jul./set., 2004.

HAMOND, C. et al Bovine Leptospirosis Due to Persistent Renal Carriage of *Leptospira borgpetersenii* Serovar Tarassovi. **Frontiers in veterinary science**, v. 9, p. 848664, 2022.

HENZEL, A. et al. Alphaherpesvirus bovino 1 e 5 em sêmen de touros apresentando lesões genitais em condições de campo no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** [online], v. 71, n. 01, p. 197-203, 2019.

HOFFMANN, B. et al. Novel Orthobunyavirus in cattle, europe, 2011. **Emerging Infectious Diseases**. v. 18, p. 469–472, 2012.

HOLZ, C.L. et al. Soroprevalência de herpesvírus bovinos tipos 1 e/ou 5 no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p. 767-773, 2009.

HOLZ, C. L. et al. Serum neutralization with diferente types and subtypes of bovine herpesvirus 1 and 5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 7, p. 515-522, jul. 2010.

ICTV, International Committee on Taxonomy of Viruses. **Virus Taxonomy: 2019 Release; Order: Herpesvirales**. EC 51, Berlim, Alemanha, July 2019a. Disponível em: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=201901440 Acesso em 08 de fevereiro de 2021.

ICTV, International Committee on Taxonomy of Viruses. **Virus Taxonomy: 2019 Release; Order: Bunyavirales**. EC 51, USA, July 2019b. Disponível em: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=202000126 Acesso em 28 de abril de 2021.

ICTV, International Committee on Taxonomy of Viruses. **Virus Taxonomy: 2020 Release; Famijlyr: Flaviviridae**. EC 51, Washington, USA, July 2019; Disponível em: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae/361/genus-pestivirus Acesso em 28 de novembro de 2022.

ID-VET INNOVATIVE DIAGNÓSTICS (ID-VET). ID Screen Schmallerberg Indirect Multi-species Test, **Internal validation report**, 2012.

ID-VET INNOVATIVE DIAGNÓSTICS (ID-VET). ID Screen Schmallerberg Competition Multi-species Test, **Internal validation report**, 2020.

IDEXX Laboratories. IDEXX IBR gB X3, **Internal validation report**, 2016.

IDEXX Laboratories. IDEXX BVDV Total AB Ab, **Internal validation report**, 2019.

ISCARO, C. et al. Programas de controle de rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) em países europeus: uma visão geral. **Animal Health Research Reviews**, v. 22, n. 2, p. 136-146, 2021.

JIMÉNEZ-RUIZ, S. et al. Description of the first Schmallerberg disease outbreak in Spain and subsequent virus spreading in domestic ruminants. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 65, p. 189–193, 2019.

JONES C. Bovine Herpesvirus 1 Counteracts Immune Responses and Immune-Surveillance to Enhance Pathogenesis and Virus Transmission. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 1008, 2019.

KARPAGAM, K. B., GANESH, B. Leptospirosis: a neglected tropical zoonotic infection of public health importance-an updated review. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 5, p. 835–846, 2020.

KASIČOVÁ, Z. et al. Blood meal analysis: host-feeding patterns of biting midges (Diptera, Ceratopogonidae, Culicoides Latreille) in Slovakia. Analyse des repas sanguins: modes d'alimentation des hôtes des ceratopogonidés (*Diptera, Ceratopogonidae, Culicoides Latreille*) en Slovaquie. **Parasite** (Paris, France), v. 28, n. 58, p. 9, 2021.

KHODAKARAM-TAFTI, A.; FARJANIKISH, G. H. Persistent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle herds. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 18, n. 3, ser. no. 60, p. 154-163, 2017.

KÖNIG, P. et al. Fetal infection with Schmallenberg virus - An experimental pathogenesis study in pregnant cows. **Transboundary and emerging diseases**, v. 66, n. 1, p. 454–462, 2019.

KUČER N. et al. The epidemiology of bovine viral diarrhoea virus infection on a dairy farm - clinical signs, seroprevalence, virus detection and genotyping. **Veterinarski Arhiv**, v. 92, n. 2, p. 119-126, 2022.

LANCHEROS-BUITRAGO, D. J., et al. Serodiagnosis and Risk Factors Associated with Infectious Agents of Reproductive Diseases in Bovines of Chiquinquirá, District of Boyacá (Colombia). **Veterinary medicine international**, v. 2022, n. 7436651, 2022.

LANYON, S. R. et al. Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. **The Veterinary Journal**, v. 199, n. 2, p. 201-209, 2014.

LARSKA, M. et al. Primeiro relatório de infecção pelo vírus Schmallenberg em bovinos e mosquitos na Polônia. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 60, p. 97-101, 2013.

LECHNER, I. et al. Association of clinical signs after acute Schmallenberg virus infection with milk production and fertility in Swiss dairy cows. **Preventive veterinary medicine**, v. 146, pp. 121–129, 2017.

LEITE, A. I. et al. Caracterização epidemiológica da leptospirose suína em criações não tecnificadas do semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira [online]**, v. 38, n. 04, p. 613-619, 2018.

LIMA, M. S. et al. Pesquisa de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 em bovinos no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 73, n. 2, p. 214-218, 2011.

LOUREIRO, A. P., & LILENBAUM, W. Genital bovine leptospirosis: A new look for an old disease. **Theriogenology**, v. 141, p. 41–47, 2020.

MA, Y. et al. Integrative Transcriptomics and Proteomics Analysis Provide a Deep Insight Into Bovine Viral Diarrhea Virus-Host Interactions During BVDV Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 862828.

MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. Herpesvirales. *In: Fenner's Veterinary Virology*, Elsevier, 2017, 5 ed., p. 189–216.

MAHMOODI, P. et al. Simple Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Detect Antibodies Against Bovine Viral Diarrhea Virus, Based on Prokaryotically Expressed Recombinant MBP-NS3 Protein. **Jundishapur Journal of Microbiology**., v. 8, n. 3, e14311, mar 2015.

MARAWAN, M. A. et al. Characterization of BoHV-1 gG-/tk-/gE- Mutant in Differential Protein Expression, Virulence, and Immunity. **Veterinary sciences**, v. 8, n. 11, p. 253, 2021.

MARIN, M. et al. Distinctive features of bovine alphaherpesvirus types 1 and 5 and the virus-host interactions that might influence clinical outcomes. **Archives of virology**, v. 165, n. 2, p. 285–301, feb 2020.

MARSCHIK, T. et al. A cost-benefit analysis and the potential trade effects of the bovine viral diarrhoea eradication programme in Styria, Austria. **The Veterinary Journal**, v. 231, p. 19-29, 2018.

MARQUES, A. L. A et al. Detecção do vírus 'HoBi'-like (BVDV-3) em bovino no semiárido do Estado da Paraíba. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 36, n.11, p. 1081-1086, nov 2016.

MARTINS, G.; LILENBAUM, W. Control of bovine leptospirosis: Aspects for consideration in a tropical environment. **Research in veterinary science**, v. 112, p. 156–160, 2017.

MARTINS, M. H. M.; SPINK, M. J. P. A leptospirose humana como doença duplamente negligenciada no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva [online]**, v. 25, n. 3, p. 919-928, 2020.

MAZZOTTA E. et al. Persistence of *Leptospira borgpetersenii* Serovar Hardjo in Refrigerated Raw Milk: A Transmission Risk of Leptospirosis to Humans. **Pathogens**, v. 10, n. 3, p. 291, 2021.

MCDougall, S. Effect of calf age on bovine viral diarrhoea virus tests. **Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc**, v. 33, n. 3, pp. 528–537, 2021.

McDOWEL, A. Do icterícia epidemicus. **Arquivos Brasileiros de Medicina**, v. 7, p. 635-645, 1917.

MELO, R. R. C. Perdas reprodutivas em fêmeas bovinas. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 10, n. 4, p. 07-23, out– dez 2014.

MELO, T.; PECONICK, A. P. As características da *Leptospira* spp.: uma revisão de literatura. **Scire Salutis**, v. 9, n. 3, 2019.

MIGUEL, P. S. B. et al. Leptospirosis, a clinical update regarding a neglected infectious disease **Journal of Tropical Pathology**, v. 49, n. 4, p. 229-242. oct.-dec. 2020.

MOSENA, A. et al. Temporal analysis of bovine pestivirus diversity in Brazil. **Brazilian journal of microbiology**: [publication of the Brazilian Society for Microbiology], v. 53, p. 1743, 2022.

MUGHINI-GRAS, L et al. 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, 2014.

MUYLKENS, B. et al. Bovine herpesvírus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**, v.38, p. 181-209, 2007.

NICOLINO, R.R. et al. 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 [online]**, v. 66, n. 3, p. 648-654, 2014.

NORONHA, R. P.; CAMPOS, G. S.; SARDI, S. I. Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em bovinos jovens. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, n. 6, p. 424-430, 2003.

OKUDA, L. H. et al. Inquérito Soro-Epidemiológico do Herpesvírus Bovino Tipo 1 (Bohv-1) no Município de Monte Negro, Estado de Rondônia, Brasil. **Biológico**, São Paulo, v.68, Suplemento, p.157-159, 2006.

OLIVEIRA, A. A. et al. Seroprevalence of bovine leptospirosis in Garanhuns Municipal District, Pernambuco State, Brazil. **The Onderstepoort journal of veterinary research**, v. 68, n. 4, p. 275–279, 2001.

OLIVEIRA F.C.S. et al. Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia. **Arquivos do Instituto. Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 539-546, 2009.

OLIVEIRA, F. C. S. et al. 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, 2010.

OLIVEIRA, S. A. M. et al. Prokaryotic expression of a truncated form of bovine herpesvirus 1 glycoprotein E (gE) and its use in an ELISA for gE antibodies. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 41-46, jan. 2013.

OLIVEIRA, M. E. et al. RAPIDA DETECÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DOS HERPESVÍRUS BOVINO 1 E 5. **Revista UNINGÁ Review**, v. 22, n. 3, p. 05-11, abr – jun 2015a.

OLIVEIRA, R. A. M. et al. Prevalência das infecções latentes por BoHV-1 e BoHV-5 em bovinos de corte no Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 67, n. 5, p. 1217-1225, oct. 2015b.

ORJUELA, A. G.; PARRA-ARANGO, J. L; SARMIENTO-RUBIANO, L Bovine leptospirosis: effects on reproduction and an approach to research in Colombia **Trop Anim Health Prod**, v. 54, n. 251, 2022.

PACITO, S. A.; BACCILI, C.; GOMES, V. PROGRAMA INTEGRADO DE CONTROLE DO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV). In: SIICUSP - Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da USP, 29º, 2021, São Paulo-SP. Anais do SIICUSP, São Paulo, 2021, Não paginado.

PAIXÃO, A. P. et al. *Leptospira* spp. em bovinos leiteiros do estado do Maranhão, Brasil: frequência, fatores de risco e mapeamento de rebanhos reagentes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.

PARKER C. T.; TINDALL B. J.; GARRITY G. M.: International Code of Nomenclature of Prokaryotes Prokaryotic Code (2008 Revision). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 69, p. S7-S111, 2019.

PETRINI, S. et al. Evaluation of Passive Immunity Induced by Immunisation Using Two Inactivated gE-deleted Marker Vaccines against Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) in Calves. **Vaccines**, v. 8, n.1, p. 14, 2020.

PETRINI, S. et al. Assessment of Different Infectious Bovine Rhinotracheitis Marker Vaccines in Calves. **Vaccines**, v. 10, n. 8, p. 1204, 2022.

PIMENTA, C. L.R.M. et al. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira** [online], v. 34, n. 4, p. 332-336, 2014.

PINIOR, B. et al. A systematic review of financial and economic assessments of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevention and mitigation activities worldwide. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 137, p. 77–92, 2017.

PINIOR, B. et al. Epidemiological factors and mitigation measures influencing production losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection: A meta-analysis. **Transboundary and emerging diseases**, v. 66, n. 6, p. 2426–2439, 2019.

PITUCO, E. M. Aspectos clínicos, prevenção e controle da IBR. Comunicados e Documentos Técnicos - Instituto Biológico de São Paulo, n. 97, 2009. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/publicacoes/comunicados-documentos-tecnicos/comunicados-tecnicos/aspectos-clinicos-prevencao-e-controle-da-ibr>

PITUCO, E. M. Aspectos clínicos, prevenção e controle da IBR. Comunicado e Documento Técnico, Governo do Estado de São Paulo – Agricultura e Abastecimento – Instituto Biológico, n. 97, 2009. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/publicacoes/comunicados-documentos->

tecnicos/comunicados-tecnicos/aspectos-clinicos-prevencao-e-controle-da-ibr
Acesso em 28 de dezembro de 2022.

QUEIROZ-CASTRO, V. L. D et al. Detection of bovine herpesvirus 1 in genital organs of naturally infected cows. **Theriogenology**, v. 130, p. 125-129, 2019.

REUSCHER, C. M. et al. Characterization of a Cytopathogenic Reporter CSFV. **Viruses**, v. 13, n. 7, p. 1209, 2021.

REXHEPI, A. et al. First evidence of Schmallerberg virus infection in domestic ruminants in Kosovo and Albania. **Veterinaria italiana**, v. 57, n. 1, p. 13–17, 2021.

RICHTER, V. et al. A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. **Veterinary journal**, v. 220, p. 80–87, 2017.

RINEHART, C. L. et al. Efficacy of vaccination of cattle with the *Leptospira interrogans* serovar hardjo type hardjoprajitno component of a pentavalent *Leptospira* bacterin against experimental challenge with *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo type hardjo-bovis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 5, p. 735-740, 2012.

RIOS, R.R.S. et al. *Culicoides insignis* Lutz, 1913 (Diptera: Ceratopogonidae) Mosquitos mordedores no Nordeste do Brasil. **Insects**, v. 12, n. 4, pág. 366, 20 abr. 2021.

ROCHA, W.B. et al. Prevalence and risk factors associated with anti-*Leptospira* spp agglutinins in cattle from dairy farmers in Ji-Paraná, RO, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia [online]**, v. 74, n. 03, 2022.

SAILLEAU, C. et al. Acute Schmallerberg Virus Infections, France, 2012. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 2, p. 321-322, 2013.

SANTMAN-BERENDS, I. M. et al. Evaluation of the epidemiological and economic consequences of control scenarios for bovine viral diarrhoea virus in dairy herds. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 11, p. 7699–7716, 2015.

SANTOS, A. S. et al. Aspectos clínicos, patológicos, imuno-histoquímicos e virológicos em cinco bezerros persistentemente infectados com o vírus da diarréia viral bovina em uma propriedade do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 10, out. 2011.

SANTOS, R. F. et al. Epidemiological characteristics of *Leptospira* spp. infection in bovine herds in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [S. l.], v. 58, e180127, 2021.

SARANGI, L. N. et al. Infectious bovine abortions: observations from an organized dairy herd. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 439-448, jan 2021.

SAYERS, R. G. Associations between exposure to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) and milk production, reproductive performance, and mortality in Irish dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 1–13, 2017.

SCHARNOBOECK, B. et al. A meta-analysis of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevalences in the global cattle population. **Scientific Reports**, v. 8, n. 14420, p. 10-18, 2018.

SENTHILKUMAR, K., & RAVIKUMAR, G. Lateral flow assay for rapid serodiagnosis of bovine leptospirosis. **Iranian journal of veterinary research**, v. 23, n. 1, p. 7–11, 2022.

SICK, F. et al. Culicoides Biting Midges-Underestimated Vectors for Arboviruses of Public Health and Veterinary Importance. **Viruses**, v. 11, n. 4, p. 376, Apr 24 2019.

SILVA, M. S. et al. Identificação e diferenciação de herpesvírus bovino tipos 1 e 5 isolados de amostras clínicas no Centro-Sul do Brasil, -Sul do Brasil, Argentina e Uruguai (1987-2006). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 10, p. 403-408, out 2007.

SILVA, F. S. et al. Análise soropidemiológica da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos no Estado de Pernambuco. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, p. 1324, 2015.

SILVA, B. P. et al. Soroprevalência e fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1 e ocorrência da infecção pelo vírus da diarréia viral bovina em vacas leiteiras no estado de Pernambuco. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v.13, n.3, p.399-405, jul-set 2019.

SILVA PINTO, P. et al. Uma revisão sistemática sobre a soropidemiologia do teste de aglutinação microscópica da leptospirose bovina na América Latina. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, p. 239–248, 2016.

SILVEIRA, S. et al. Genetic Diversity of Brazilian Bovine Pestiviruses Detected Between 1995 and 2014. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 64, n. 2, p. 613–623, 2017.

SILVESTRO, C.; BRATANISH, A. The latency related gene of bovine herpesvirus types 1 and 5 and its modulation of cellular processes. **Archives of Virology**, v. 161, n. 12, p. 3299–3308, 2016.

SOUZA, W. J. et al. Herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1): método de diagnóstico e sua influência na qualidade espermática em touros infectados experimentalmente. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 70, n. 4, p. 1163-1171, aug. 2018.

SOUZA, F. O. et al. Frequency and risk factors associated with the bovine viral diarrhoea virus in herds in the semiarid region of the states of Bahia and Pernambuco, Brazil. **Acta Veterinaria Brasilica**, p. 163-169, sep 2019.

SPETTER, M. J. et al. Frequency of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in Argentinean bovine herds and comparison of diagnostic tests for BVDV detection in bovine serum samples: a preliminary study. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n.1, p.467-475, 2020.

SPETTER, M. J. et al. Temporal and geographic dynamics of bovine viral diarrhoea virus in American countries. **Research in veterinary science**, v. 153, p. 66–73, 2022.

SPIPKI, F. R.; FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Analysis of isotype-specific antibody responses to bovine herpesviruses 1.1 and 1.2a allows to estimate the stage of infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 586-593, jun 2012.

SRUC Veterinary Services. SCHMALLEMBERG virus transmission confirmed in north-east Scotland. **The Veterinary record**, v. 190, n. 6, p. 232–234, 2022.

STATHAM, J. M. E.; RANDALI, L. V.; ARCHER, S. C. Reduction in daily milk yield associated with subclinical bovine herpesvirus 1 infection. **Veterinary Record**, v. 177, n. 3, p. 339, oct 2015.

STAVROU, A. et al. How is Europe positioned for a re-emergence of Schmallenberg virus?. **Veterinary journal (London, England: 1997)**, v. 230, p. 45–51, 2017.

STRELCZUK, G. et al. Caracterização genômica de isolados de BoHV-1 e BoHV-5 baseado na análise do gene da glicoproteína B. *In: Salão de Iniciação Científica*, 24, UFRGS, Porto Alegre, RS, 2012.

TAUTZ, N., TEWS, B. A.; MEYERS, G. The Molecular Biology of Pestiviruses. **Advances in Virus Research**, v. 93, p. 47–160, 2015.

TOKER, E. B. et al. Failure in dry period vaccination strategy for bovine viral diarrhea virus. **Veterinary Microbiology**, v. 247, p. 108797, aug 2020.

URZÊDA, et al. Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas na microrregião do Vale Do Rio Dos Bois, Goiás, Brasil / Seroprevalence of leptospirosis in bovine females in the micro-region of the Vale Do Rio Dos Bois, Goiás, Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 69614–69622, 2020.

VAN ROON, A. M. et al. A. Quantification of risk factors for bovine viral diarrhea virus in cattle herds: A systematic search and meta-analysis of observational studies. **Journal of Dairy Science**. v. 103, p. 9446–9463, 2020.

VELDHUIS, A. et al. Changing surveillance objectives during the different phases of an emerging vector-borne disease outbreak: The Schmallenberg virus example. **Preventive veterinary medicine**, v. 166, p. 21–27, 2019.

VIANA, R. B. et al. Sensitivity and specificity of indirect ELISA for the detection of antibody titers against BVDV from beef cattle raised in Pará State (Open Access). **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 38, n. 5, p. 3049-3058, 2017.

VIU, M. A. O. et al. Rinotraqueíte infecciosa bovina: revisão. **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 4, Ed.253, Art. 1678, fev 2014.

WALDECK, H. et al. Risk Factors for Introduction of Bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1) Into Cattle Herds: A Systematic European Literature Review. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, n. 688935, out. 2021.

WERNIKE, K.; BEER, M. International proficiency trial demonstrates reliable Schmallenberg virus infection diagnosis in endemic and non-affected countries. **PLoS ONE**, v. 14, n. 6, e0219054, 2019.

WERNIKE, K.; BEER, M. Re-circulation of Schmallenberg virus, Germany, 2019. **Transboundary and emerging diseases**, v. 67, n. 6, 2020.

WERNIKE, K. et al. Differentiation of Antibodies against Selected Simbu Serogroup Viruses by a Glycoprotein Gc-Based Triplex ELISA. **Veterinary sciences**, v. 8, n. 1, p. 12, 2021.

WINDHABER, S.; XIN, Q.; LOZACH, P. Y. Orthobunyaviruses: From Virus Binding to Penetration into Mammalian Host Cells. **Viruses**, v. 13, n. 5, p. 872, 2021.

WOAH- World Organisation for Animal Health, OIE Technical Factsheet. Schmallenberg virus, p.1-5, 2017. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/A_Schmallenberg_virus.pdf Acesso em 20 de dezembro de 2022.

WOAH- World Organisation for Animal Health, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Capítulo 3.4.11. Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis, 2018a. Disponível em: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.11_IBR_IPV.pdf Acesso em 18 de julho de 2022

WOAH- World Organization for Animal Health, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Capítulo 3.4.7. Bovine Viral Diarrhoea, 2018b. Disponível em https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.07_BVD.pdf Acesso em 18 de julho de 2022.

WOAH- World Organisation for Animal Health, OIE Technical Factsheet. *Leptospira interrogans* ssp., p.1-5, 2020. Disponível em: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/05/leptospira-interrogans-ssp-infection-with.pdf> Acesso em 18 de janeiro de 2023.

WOAH- World Organization for Animal Health, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Capítulo 3.1.12. Leptospirosis. 2021. Disponível em: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf Acesso em 18 de julho de 2022.

WOAH – World Organization for Animal Health. Animal Diseases 2022. Disponível em: <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases/> Acesso em 18 de julho de 2022.

WÜTHRICH, M. et al. A case-control study to estimate the effects of acute clinical infection with the Schmallenberg virus on milk yield, fertility and veterinary costs in Swiss dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 126, p. 54-65, 2016.

YAMAGUCHI, T. et al. Caracterização das interações de *Leptospira interrogans* com células epiteliais dos túbulos renais proximais. **BMC Microbiology**, v.18, n. 1, p.1–11, 2018.

YANG, G. et al. Gypenoside Inhibits Bovine Viral Diarrhea Virus Replication by Interfering with Viral Attachment and Internalization and Activating Apoptosis of Infected Cells. **Viruses**, v. 13, n. 9, p. 1810, 2021.

YEŞILBAĞ, K.; ALPAY, G.; BECHER, P. Variability and Global Distribution of Subgenotypes of Bovine Viral Diarrhea Virus. **Viruses**, v. 9, n. 6, p. 128, 2017.

YUE, X. et al. Estimating the Effect of a Bovine Viral Diarrhea Virus Control Program: An Empirical Study on the Performance of Dutch Dairy Herds. **Frontiers in veterinary science**, v. 9, p. 892928, 2022.

ZAMIR, L. et al. The association between natural drinking water sources and the emergence of zoonotic leptospirosis among grazing beef cattle herds during a human outbreak. **One health** (Amsterdam, Netherlands), v. 14, n. 100372, 2022.

ZANATTO, D. C. S. et al *Coxiella burnetii* associated with BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus), BoHV (Bovine Herpesvirus), *Leptospira* spp., *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma vivax* in reproductive disorders in cattle. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 245-257, apr-jun 2019.

ZARAGOZANO, J. F. Schmallenberg disease: Can it involve human beings? Enfermedad de Schmallenberg: ¿puede afectar al ser humano? **Medicina clinica**, v. 150, n. 5, p. 205, 2018.

ZBIGNIEW, A.; et al. *Leptospira* taxonomy: then and now. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 78, n. 10, p. 489-496, 2022.

ZHOU, Y. et al. Pathogenic infection characteristics and risk factors for bovine respiratory disease complex based on the detection of lung pathogens in dead cattle in northeast China. **Journal of dairy science**, v. 106, n. 1, 2023.

CAPÍTULO 1

ARTIGO 1

**Soroprevalência da infecção por alphaherpesvirus bovino tipo 1 (BoAHV-1),
vírus da diarreia viral bovina (BVDV), *Leptospira* spp. e coinfeção em bovinos
em Alagoas, Brasil**

(Artigo a ser submetido para a revista Pesquisa Brasileira Veterinária)

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa realizar um estudo de soroprevalência das infecções por Alphaherpesvirus Bovino 1 (BoAHV-1), Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) e *Leptospira* spp. em bovinos criados no Estado de Alagoas, Brasil. Foram analisadas 460 amostras da soroteca de Agência de Defesa Agropecuária de Alagoas-ADEAL, procedentes de bovinos não vacinados de 100 propriedades distribuídas em 99 municípios alagoanos e nas três mesorregiões: Agreste, Leste e Sertão. O diagnóstico sorológico foi realizado com *kits* comerciais de Ensaio Imunoenzimático (ELISA) indireto para pesquisa de anticorpos anti-BoAHV-1 e BVDV e por meio do teste de soroaglutinação microscópica (SAM) para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. Observou-se uma soroprevalência de 75% (345/460) para BoAHV-1, 53,3% (245/460) para BVDV, 36,5% (168/460) para *Leptospira* spp. A variação da prevalência por propriedade em cada mesorregião foi de 85,1% (21/24) a 93,8% (46/49) para BoAHV-1; 70,3% (19/27) a 83,3% (20/24) para BVDV e 65,3% (32/49) a 83,3% (20/24) para *Leptospira* spp. Observou-se maior soropositividade para BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp., 61,0% (212/345) e 61,0% (148/245), 52,3% (88/188) respectivamente, nos animais procedentes da mesorregião Leste, com associação significativa para BoAHV-1 e BVDV ($p < 0,005$). A coinfeção de BoAHV-1 e BVDV esteve presente em 45% (206/460) das amostras analisadas, de BoAHV-1 e *Leptospira* spp. em 26,52% (122/460), BVDV e *Leptospira* spp. 20,22% (93/460), e BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. 16,96% (78/460). Os sorovares de *Leptospira* spp. mais prevalentes foram Tarassovi (19,56%; 90/460), Wolffi (15,87%; 73/460), Prajtino (15,22%; 70/460) e Bovis (13,26%; 61/460). Sugere-se a atuação integrada dos órgãos de defesa oficial com a implementação de um programa sanitário específico para as infecções por BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp., visando o monitoramento, a eliminação gradual dos animais positivos, implementação de um programa de vacinação e aplicação de medidas de biossegurança, para minimizar os impactos econômicos e sanitários nos rebanhos do estado de Alagoas, Brasil.

Palavras-chave: aborto; emergente; latência; sorologia; vetor

ABSTRACT

The objective of this research was to conduct a seroprevalence study of infections by Bovine Alphaherpesvirus 1 (BoAHV-1), Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) and *Leptospira* spp. in cattle raised in the State of Alagoas, Brazil. A total of 460 samples from the Agricultural Defense Agency of Alagoas-ADEAL were analyzed, coming from unvaccinated cattle from 100 properties distributed in 99 municipalities in Alagoas and in the three mesoregions: Agreste, Leste and Sertão. The serological diagnosis was performed with commercial indirect Immunoenzymatic Assay (ELISA) kits to search for anti-BoAHV-1 and BVDV antibodies and through the microscopic agglutination test (SAM) in the field dark for anti-*Leptospira* spp antibodies. There was a seroprevalence of 75% (345/460) for BoAHV-1, 53.3% (245/460) for BVDV, 36.5% (168/460) for *Leptospira* spp. The variation in prevalence by property in each mesoregion ranged from 85.1% (21/24) to 93.8% (46/49) for BoAHV-1; 70.3% (19/27) to 83.3% (20/24) for BVDV and 65.3% (32/49) to 83.3% (20/24) for *Leptospira* spp. There was a higher seropositivity for BoAHV-1, BVDV and *Leptospira* spp., 61.0% (212/345) and 61.0% (148/245), 52.3% (88/188) respectively, in animals from from the East mesoregion, with a significant association for BoAHV-1 and BVDV ($p < 0.005$). BoAHV-1 and BVDV co-infection was present in 45% (206/460) of the analyzed samples, BoAHV-1 and *Leptospira* spp. in 26.52% (122/460), BVDV and *Leptospira* spp. 20.22% (93/460), and BoAHV-1, BVDV and *Leptospira* spp. 16.96% (78/460). The serovars of *Leptospira* spp. most prevalent were Tarassovi (19.56%; 90/460), Wolffi (15.87%; 73/460), Prajtino (15.22%; 70/460) and Bovis (13.26%; 61/460). It is suggested the integrated action of the official defense agencies with the implementation of a specific health program for infections by BoAHV-1, BVDV and *Leptospira* spp., aiming at monitoring, the gradual elimination of positive animals, implementation of a vaccination program and application of biosafety measures to minimize the economic and health impacts on herds in the state of Alagoas.

Key-words: abortion; emergente; latency; sorology; diarrhea; vector

INTRODUÇÃO

A diarreia viral bovina, a rinotraqueíte infecciosa bovina e a leptospirose são doenças que ocasionam grandes impactos na bovinocultura. Estão incluídas na lista de doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal – WOAAH (WOAH, 2022) e da lista de doenças de bovinos e de múltiplas espécies (leptospirose) que requerem notificação mensal de qualquer caso confirmado do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2013).

BoAHV-1 pode ocasionar perdas, principalmente, relacionadas aos distúrbios reprodutivos (BEZERRA et al., 2012). O custo médio da infecção com BoHV-1 foi estimado em US\$ 379 por vaca infectada, considerando a probabilidade de aborto (CAN; ATASEVEN; YALÇIN, 2016).

A infecção por BVDV tem um impacto devido aos prejuízos dos sinais clínicos, como lesões orais, ulcerações e erosões no trato digestivo, abortos, malformações congênitas e mortalidade neonatal, repetição de cio, infertilidade ou diminuição da produção de leite (NORONHA; CAMPOS; SARDI, 2003, FINO et al., 2012). As perdas monetárias diretas devido ao BVDV variam de €0,45 a €604,13/animal/ano (YUE et al., 2022).

A leptospirose é uma doença zoonótica responsável por distúrbios reprodutivos como infertilidade, aborto, natimortalidade e mortalidade perinatal causada por infecção pelo gênero *Leptospira* spp. (CHEUQUEPÁN VALENZUELA et al., 2020; WOAAH, 2022; ZAMIR et al., 2022).

Os programas de controle e erradicação estão se tornando cada vez mais comuns em grande parte do mundo (LANYON et al., 2014), mas apesar dos prejuízos causados pela ocorrência dessas infecções amplamente disseminadas nos rebanhos bovinos, não existe no Brasil um Programa Oficial de Prevenção e Controle. Objetivou-se com esta pesquisa determinar a soroprevalência de bovinos naturalmente infectados com BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. no estado de Alagoas, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Ética

Este projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais /Universidade Federal Rural de Pernambuco – CEUA/UFRPE com aprovação pelo parecer 04/2020.

Amostragem

Realizou-se um estudo epidemiológico transversal de soroteca com delineamento estatístico e informações sobre as propriedades selecionadas empregadas no estudo da brucelose bovina no estado de Alagoas no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), coordenado pelo Departamento de Defesa Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pela Agência de Defesa e Inspeção Agropecuária de Alagoas (ADEAL).

Para esta pesquisa, foram selecionadas todas as amostras procedentes da soroteca oriundas de bovinos em idade reprodutiva, de propriedades com rebanhos com pelo menos cinco animais e não vacinados contra BoAHV-1, BVDV, *Leptospira* spp., totalizando 460 amostras. Uma propriedade foi considerada positiva quando apresentou pelo menos um animal soropositivo.

ELISA Indireto para BoAHV-1 e BVDV

As amostras foram testadas com *kits* iELISA (IDEXX Laboratories®, Westbrook, Maine, EUA) para pesquisa de anticorpos anti-BoAHV1 Ab (sensibilidade de 97,4% e especificidade de 99,8%) e anti-BVDV (sensibilidade de 98,5% e especificidade de 99,4%).

A interpretação dos resultados foi determinada através da comparação das porcentagens de bloqueio da amostra com as porcentagens esperadas de acordo com as instruções de teste do fabricante.

Soroaglutinação de microscopia em campo escuro

A técnica de soroaglutinação de microscopia em campo escuro foi realizada com antígenos, conforme as normas do Ministério da Saúde (BRASIL, 1995). 17 sorovares de leptospiros patogênicas: Bratislava, Castellonis, Canicola, Djasiman, Grippotyphosa, Copenhageni, Icterohemorrhagiae, Pomona, Pyogenes, Hardjo, Wolffi, Tarassovi, Prajino, Minis, CTG. Bovis, Guaricura, conforme Tabela 1.

As placas foram incubadas em estufa a 37°C por uma hora e lidas em microscópio de campo escuro. As amostras que apresentavam 50% ou mais de aglutinação no sorovar correspondente, eram tituladas. O título final da amostra, correspondia ao maior título em que houve 50% ou mais de aglutinações.

Análise estatística

A soroprevalência para as infecções por BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp., foi determinada empregando-se análise descritiva dos dados. Utilizou-se o teste de qui-quadrado ou o teste exato de Fisher quando necessário para verificar associação das mesoregiões com a soroprevalência e coinfeção. Diferença estatística significativa foi considerada quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas no pacote estatístico Epi Info versão 7.2.3.1 (Atlanta, USA).

A prevalência real (PR), o valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN), foram calculados empregando-se as seguintes fórmulas:

$$PR = \frac{Pa + SP - 1}{SE + SP - 1}$$

$$VPP = \frac{Pa * SE}{Pa * SE + (1 - Pa) * (1 - SP)}$$

$$VPN = \frac{(1 - Pa) * SP}{(1 - Pa) * SP + (1 - SE) * Pa}$$

Onde:

Pa = prevalência aparente;

SP = especificidade do *kit*;

SE = sensibilidade do *kit*.

RESULTADOS

Das 460 amostras analisadas neste estudo, a prevalência real foi de 76% (345/460) para BoAHV-1, 53,7% (245/460) para BVDV e 36,5% (168/460) para *Leptospira* spp., com títulos variando de 100 a 1600. Os sorovares de *Leptospira* spp. mais prevalentes foram 19,56% (90/460) Tarassovi, 15,87% (73/460) Wolfii,

15,22% (70/460) Prajitino e 13,26% (61/460) Bovis, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição da soroprevalência por titulação dos sorovares de *Leptospira* spp. em bovinos procedentes no estado de Alagoas, Brasil.

Sorovar (Prevalência)	Titulação (Prevalência)
Tarassovi (19,56% - 90/460)	100 (7,39% - 34/460)
	200 (7,39% - 34/460)
	400 3,04% - 14/460)
	800 (1,09% - 5/460)
	1600 (0,65% - 3/460)
Wolffi (15,87% - 73/460)	100 (7,61% - 35/460)
	200 (5,00 – 23/460)
	400 (2,17% - 10/460)
	800 (1,09% - 5/460)
Prajitino (15,22% - 70/460)	200 (8,70 – 40/460)
	400 (4,78 – 22/460)
	800 (1,74% - 8/460)
Bovis (13,26% - 61/460)	100 (6,09% - 28/460)
	200 (3,91% - 18/460)
	400 (2,17% - 10/460)
	800 (1,09% - 5/460)
Canicola (1,30% - 6/460)	100 (0,65% - 3/460)
	200 (0,65% - 3/460)
Copenhageni (1,30% - 6/460)	100 (0,43% - 2/460)
	200 (0,22% - 1/460)
	400 (0,65% - 3/460)
Pyogenes (1,30% - 6/460)	100 (1,09% - 5/460)
	200 (0,22% - 1/460)
Castellonis (1,08% - 5/460)	100 (0,87% - 4/460)
	200 (0,22% - 1/460)
Pomona (0,22% - 1/460)	100 (0,22% - 1/460)
Guaricura (0,22% - 1/460)	100 (0,22% - 1/460)

Analisando a distribuição das propriedades com amostras positivas de acordo com as mesorregiões, observou-se a variação de prevalência de 85,1% (23/27) a 93,8% (46/49) para BoAHV-1; de 70,3% (19/27) a 83,3% (20/24) para BVDV e de 70,4% (19/27) a 83,3% para *Leptospira* spp., conforme os dados descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição da soroprevalência para BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. por mesorregiões e propriedades, em bovinos procedentes no estado de Alagoas, Brasil.

Doença	Mesorregiões	Propriedades (n)	Propriedades positivas (n)	Prevalência aparente (%)	Prevalência real (%)
BoAHV-1	Agreste	24	21	87,5	89,8
	Leste	49	46	93,8	96,2
	Sertão	27	23	85,1	87,3
BVDV	Agreste	24	20	83,3	84,5
	Leste	49	38	77,5	78,5
	Sertão	27	19	70,3	71,0
<i>Leptospira</i> spp	Agreste	24	20	83,3	
	Leste	49	32	65,3	
	Sertão	27	19	70,4	

Os valores da soroprevalência distribuída entre as mesorregiões de origem das amostras estão dispostos na tabela 3. Observou-se na mesorregião Leste soropositividade de 61% (212/345) para BoAHV-1 e 61% (148/245) para BVDV, ambos resultados com $p < 0,005$. A tabela 4 apresenta a prevalência de coinfeção para BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp.

Tabela 3. Distribuição da soroprevalência para BoAHV-1 BVDV e *Leptospira* spp., distribuídos por mesorregiões, em bovinos procedentes no estado de Alagoas, Brasil.

Doença	Total de animais positivos	Mesorregiões	Animais positivos por região (n)	Prevalência aparente (%)	Prevalência real (%)	Valor p

(n)						
BoAHV-1	345	Agreste	65	18,8	19,1	0,0036
		Leste	212	61,4	61	
		Sertão	68	19,7	20	
BVDV	245	Agreste	57	23,2	23,1	0,0229
		Leste	148	60,4	61	
		Sertão	40	16,3	16	
<i>Leptospira</i> spp.	168	Agreste	42	25		0,0666
		Leste	88	52,3		
		Sertão	38	22,6		

Tabela 4. Distribuição da soroprevalência de coinfeccção de BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. em bovinos procedentes no estado de Alagoas, Brasil.

Coinfeccção	Total de animais positivos (n)	Prevalência (%)
BoAHV-1 + BVDV	206/460	45,00%
BoAHV-1 + <i>Leptospira</i> spp	122/460	26,52%
BVDV + <i>Leptospira</i> spp	93/460	20,22%
BoAHV-1 + BVDV + <i>Leptospira</i> spp	78/460	16,96%

DISCUSSÃO

Os resultados encontrados confirmam a ocorrência das infecções por BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. em bovinos, demonstrando que, assim como em outros Estados, as três enfermidades estão disseminadas em Alagoas, Brasil.

A população bovina estudada estava em idade reprodutiva, contribuindo para a prevalência encontrada, já que a infecção pelo BoAHV-1 aumenta com a idade (LEITE et al., 2020), o que pode ser estendido para a infecção por BVDV e *Leptospira* spp. (THOMPSON et al., 2006).

Anteriormente, um estudo envolvendo amostras oriundas de 21 estados, analisou, por soroneutralização, 46 amostras de soro de vacas com histórico de aborto em Alagoas, obteve-se 37% (17/46) de positividade para BoAHV-1 no primeiro relato da infecção pelo agente no estado (LIMA et al., 2011). No entanto, o número de amostras foi menor que esta pesquisa.

Prevalência de 79,5% para BoAHV-1 foi relatada em Pernambuco (SILVA et al., 2015), 68,1% no estado do Maranhão (BEZERRA, et al., 2019), 73% na Paraíba (FERNANDES et al., 2019), 60,0% em Goiás e 68,7% em São Paulo (ZANATTO et al., 2019). Valores de prevalência inferiores foram encontrados 40,9% no Rio Grande do Sul (DUARTE; SANTANA, 2018) e 48,6% em Minas Gerais (HAAS et al., 2020). Diversos estudos de soroprevalência foram descritos para BVDV: 99,5% em Pernambuco (SILVA et al., 2015), 66,87% no Maranhão (BEZERRA et al., 2019), 65,5% na Paraíba (FERNANDES et al., 2018), 59,1% no Rio Grande do Sul (DUARTE; SANTANA, 2018), 73,1% e 53,1% em duas regiões da Bahia (SOUZA et al., 2019), 62,5% em São Paulo (ZANATTO et al., 2019).

Considerando a soroprevalência encontrada neste estudo, é importante a identificação e descarte dos animais positivos uma vez que a característica de latência viral induzida por BoAHV-1 favorece o animal portador, que é uma fonte de infecção para o animal suscetível, perpetua o agente na propriedade e diminui a produtividade (BEZERRA et al., 2012; COSTA et al., 2015; SILVA et al., 2015). Para o BVDV, destaca-se que as perdas econômicas podem ser evitadas com a implementação de triagem precoce e remoção de bezerros PI, pois estes não produzem resposta adequada às vacinas, o que representa um alto risco para o rebanho e o animal pode não expor o seu potencial na produção (GOMES et al., 2023).

Barbosa et al. (2019) observaram que rebanhos leiteiros que utilizam monta natural, presença de ordenha mecânica e maior número de fêmeas são importantes fatores de risco para as infecções por BoAHV-1. Enquanto que a não realização de quarentena influencia a taxa de soropositividade para BVDV. Os autores também observaram que a realização de inseminação artificial, reduziu o risco em 56,1% das propriedades da infecção pelas as duas infecções.

Para *Leptospira* spp., foi relatada prevalência em outros estados, de 47,63% em Pernambuco (OLIVEIRA et al., 2001), 42,86% em região de fronteira brasileira (GONÇALVES et al., 2021), 40,48% em Rondônia (ROCHA et al., 2022), 61,1% na Paraíba (PIMENTA et al., 2014), 65,49% no Pará. Favero et al. (2001), no período de 1984 a 1997, observaram 58,4% de positividade em soros de bovinos oriundas de Alagoas. Favero et al (2001) encontraram 58,4% amostras positivas em um estudo analisando amostras de soro de bovinos de 21 estados coletadas entre 1984 a 1997. Outro estudo analisou apenas nove amostras das quais quatro se apresentaram positivas (44,44%) (FURQUIM; SANTOS; MATIAS, 2021). A diferença entre os resultados deste estudo e os registrados em outros relatos pode estar relacionada às regiões geográficas, planos de amostragem e medidas de controle adotadas nas propriedades (MACHADO et al., 2016).

Os dados reforçam a necessidade de adoção e/ou intensificação de medidas de prevenção e controle desse patógeno, com o objetivo de evitar perdas econômicas e transmissão do agente aos seres humanos (OLIVEIRA et al., 2013).

Os riscos de infecção do bovino por *Leptospira* spp. também estão associados a fatores ambientais como chuvas e clima adverso, fatores de manejo e sistemas de cultivo com outras espécies produtivas ou a presença de animais domésticos (caninos) e animais silvestres (roedores) nos rebanhos (LANCHEROS-BUITRAGO et al., 2022).

A disseminação determina a importância que esse agente pode representar na sanidade da bovinocultura (HERRMANN et al., 2012). No sistema extensivo de criação, amplamente utilizado, favorece a ocorrência da doença uma vez que os rebanhos bovinos estão em contato com outras espécies animais, principalmente silvestres, que podem ser importantes reservatórios, favorecendo a permanência e disseminação do agente etiológico (SANTOS et al., 2021). Na pecuária leiteira intensiva, os sistemas de manejo podem contribuir para a

prevalência da doença clínica, destacando a prática de separar bezerros ao nascer e apenas expondo-os ao rebanho adulto infectado após maturidade, garantindo assim uma reposição regular de animais totalmente susceptíveis (ELLIS, 2015).

Dentre os sorovares, O sorovar Tarassovi foi o mais frequente neste estudo, provavelmente decorrente do sistema de criação consorciada com outras espécies, como os suínos, que são hospedeiros de manutenção deste sorovar (LEITE et al., 2018) e animais selvagens levantando a suspeita de envolvimento dessas espécies como reservatórios e potenciais transmissores (HASHIMOTO et al., 2015).

Este sorovar pode ser persistentemente, embora intermitentemente, excretado pela urina (HAMOND et al., 2022) mas não está incluído nas vacinas comerciais para bovinos disponíveis no mercado, que possuem em sua composição os antígenos Pomona, Wolffi, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Canicola e Grippotyphosa (SANTOS et al., 2021), o que reforça estes estudos para conhecimento das variantes circulantes e atualização das cepas vacinais.

O sorovar Wolffi, segundo mais encontrado neste estudo reforça a importância de pesquisas para isolar esse sorovar, uma vez que nunca foi isolado de bovinos brasileiros (OLIVEIRA et al., 2018).

O sorovar Hardjo, é o principal responsável pela leptospirose bovina. Este sorovar já foi identificado como duas espécies, *L. interrogans* sorovar Hardjo (tipo Hardjoprajitino) e *L. borgpetersenii* sorovar Hardjo (tipo Hardjobovis, mais prevalente em todo o mundo), neste estudo com 15,22% e 13,26%, respectivamente (ORJUELA; PARRA-ARANGO; SARMIENTO-RUBIANO, 2022), permitindo inferir que perdas reprodutivas possam estar ocorrendo nestes rebanhos (GENOVEZ et al, 2011), assim como o sorovar Hardjo genótipo Prajitino tem a capacidade de colonizar e persistir no trato genital de vacas e touros infectados sugerindo que a disseminação venérea possa ser um fator de transmissão nos rebanhos deste estudo (ELLIS, 2015). Favero et al. (2001) detectaram em um estudo os sorovares Hardjo (55,5%) e Wolffi (11,1%) em Alagoas.

Os sorovares Hardjoprajitino e Hardjobovis encontrados neste estudo, são os principais agentes da Leptospirose Genital Bovina, relatada recentemente, uma doença reprodutiva silenciosa e crônica caracterizada por morte embrionária levando à repetição do estro e subfertilidade, que apesar de ser a mais comum de

leptospirose em bovinos, sua característica subclínica a torna uma síndrome negligenciada (LOUREIRO; LILENBAUM., 2020).

Destarte, não pode ser descartada a possibilidade de reações cruzadas, entre sorovares membros do sorogrupo Sejroe, como os encontrados neste estudo, Prajitino ou Wolffi, poderia estar infectando o animal (SILVA PINTO et al., 2016).

Diferente dos títulos inferiores a 1:100 e 1:200, que indicam leptospirose endêmica, os títulos individuais acima de 1:800 encontrados para os sorovares Tarassovi (1,74%), Prajitino (1,74%), Wolffi (1,09%) e Bovis (1,09%) é ainda mais preocupante pois caracterizam infecção ativa com possível leptospirúria e contaminação ambiental (SCHILLINGS et al., 2019). Além disso, reforça o potencial zoonótico do consumo de leite cru, hábito comum na região, visto que o sorovar Hardjo pode ser isolado em leite cru infectado armazenado a 4°C por um período de 10 dias (MAZZOTA et al., 2021). Nesta perspectiva, estes dados requerem uma mobilização ágil por parte dos órgãos de fiscalização, uma vez que, coloca-se em risco a produção, reprodução e saúde pública.

A distribuição encontrada da prevalência por mesorregiões a partir de 87,3% para BoAHV-1, de 71% para BVDV e 65,3% de *Leptospira* spp., demonstra a disseminação das infecções nos rebanhos, corroborando com resultados de outros autores em estudos no Maranhão (SOUSA et al., 2009), Bahia (CHAVES et al., 2012), Pernambuco (SOUZA et al., 2019) e Rondônia (ROCHA et al., 2022), indicando que a atuação dos órgãos de defesa por meio de estratégias sanitárias específicas e implementação de medidas de prevenção e controle, pode alcançar as propriedades de bovinos de forma mais ampla e efetiva.

Verificou-se na observação da prevalência nas mesorregiões uma associação para a ocorrência na mesorregião leste. A origem do animal é um aspecto relevante para detectar dados epidemiológicos caracterizando, assim, aspectos sanitários dos animais locais. De acordo com o IBGE (2021) a mesorregião leste possui o maior rebanho dentre as mesorregiões alagoanas, com aproximadamente 591.876 bovinos (agreste e sertão possuem 395.653 e 333.707 bovinos, respectivamente) o que favorece a disseminação desses agentes, principalmente pelas movimentações de animais não fiscalizadas. Outro fator é que a criação de bovino de corte tem crescido no leste alagoano, como alternativa por parte dos grandes latifundiários (ALAGOAS, 2017), caracterizando propriedades

com maior extensão, número elevado de animais, menor taxa de substituição de vacas e menor nível de controle sanitário de doenças reprodutivas em comparação com fazendas leiteiras (DIAS et al., 2013).

A ocorrência de coinfeção demonstra a potencialização dos prejuízos relacionados às infecções e a dificuldade de manejo profilático específico. Outros autores também observaram a coinfeção para os agentes, mas em proporções menores que este estudo, 8,41% (MELO et al., 2004) e 31,4% (BARBOSA et al., 2019), sugerindo que as medidas de prevenção e controle para BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. nas propriedades avaliadas podem estar ausentes ou serem ineficazes, necessitando de intervenção técnica urgente para minimizar os impactos sanitários e econômicos nos rebanhos.

A não utilização de vacinas nos rebanhos deste estudo indica que a prevalência encontrada é resultante da exposição natural aos microrganismos e favorece para ocorrência de animais soropositivos (PIMENTA et. al, 2014). A ausência de imunização somada à ausência de diagnóstico nos animais facilita a circulação destes agentes nos rebanhos bovinos, o que resulta em prejuízo para a saúde animal, preservação ambiental e saúde pública na região estudada (DUARTE; SANTANA, 2018). Observou-se que a implementação de um programa de vacinação contra leptospirose diminuiu abortos e mastites em um rebanho e ocasionou 100% de resultados sorológicos negativos (CHIARELI et al., 2012).

Por não haver requisitos legais para controlar os agentes e nem existir um programa nacional de controle e erradicação, a decisão de controlar e prevenir as infecções recai sobre o produtor (FOUNTAIN et al., 2022) e rebanhos não vacinados apresentam proporções mais significativas de animais soropositivos (MONTES; MONTI, 2021). Adicionalmente, a falta de informação dos criadores, dos órgãos e veterinários sobre esses agentes, torna um desafio na prevenção e controle.

A vacinação de bovinos contra BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp. ainda não é uma prática difundida em nosso país, apesar da diversidade de vacinas comerciais licenciadas contra esses agentes no Brasil associados aos protocolos de vacinação para reprodução (BACILLI et al., 2019). Dessa forma, uma ferramenta para alcançar o controle é a implementação de um programa de biossegurança, com o objetivo de, primeiramente, reduzir a exposição aos próprios patógenos, mitigar os

riscos sanitários que facilitam a transmissão e a disseminação dos agentes (BARBOSA et al., 2019).

Quanto ao BVDV, isso envolve principalmente a identificação e eliminação do animal persistentemente infectado e a instalação de medidas de biossegurança para prevenir a reintrodução do vírus (GROOMS, 2005). Importante incluir a vacinação com vacinas com marcador gE deletado, seguida da remoção de todos animais soropositivos e posterior vigilância é garantir a detecção precoce da infecção em rebanhos livres de infecção por BoAHV-1 (ISCARO et al., 2021). Para *Leptospira* spp. a promoção de práticas rotineiras de saneamento e higiene também contribui para a redução da prevalência da leptospirose na propriedade (MACHADO et al., 2016) e a vacinação com sorovares prevalentes na região, caso contrário, a imunização não é eficaz (ROCHA et al., 2022). Adicionalmente, para se alcançar o controle são necessários esforços no cultivo de cepas locais, além dos avanços na tipagem molecular, para que a leptospirose não permaneça endêmica nos países em desenvolvimento (LILENBAUM; MARTINS, 2014). Nesta perspectiva, ressalta-se a importância do monitoramento periódico das propriedades, para avaliar a eficácia das medidas preventivas implementadas (FINO et al., 2012).

CONCLUSÕES

A soroprevalência sugere a ocorrência das infecções por BoAHV-1 e BVDV e de *Leptospira* spp. isolada e conjuntamente nos rebanhos bovinos do estado de Alagoas, Brasil, sendo elevada para as duas enfermidades. É possível inferir o impacto negativo nos índices zootécnicos, principalmente reprodutivos, dos rebanhos. O estudo reforça a necessidade de monitoramentos sorológicos e de realização de modelos que simulem os impactos econômicos e sanitários nos rebanhos que embasem a adoção de medidas de prevenção e controle específicas nas propriedades para minimizar a disseminação dos agentes na região.

Agradecimentos. À Agência de Defesa Agropecuária de Alagoas – ADEAL e ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA/ Superintendência de Alagoas pela cessão das amostras de soro.

REFERÊNCIAS

- ALAGOAS. Secretaria de Estado do Planejamento, Gestão e Patrimônio. **Diversificação produtiva como alternativa para a área canavieira de Alagoas/Alagoas**. – Maceió: SEPLAG, 2017. 29p.
- BACCILI, C. C. et al. Resposta sorológica contra herpesvírus bovino e vírus da diarreia viral bovina induzida por vacinas comerciais em novilhas da raça Holandesa. **Pesquisa Veterinária Brasileira** [online], v. 39, n. 11, 2019, p. 870-878, 2019.
- BARBOSA, V.M; et al. Fatores de risco associados à infecção viral (BoHV-1 e BVDV) em rebanhos leiteiros mestiços com problemas reprodutivos, no município de Uberlândia, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, Belo Horizonte, v. 71, n. 4, p. 1243-1250, aug. 2019.
- BEZERRA, D. C. et al. FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELO HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 EM REBANHOS BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO AMAZÔNICA MARANHENSE. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.1, p.107-111, jan./mar., 2012.
- BEZERRA, N. P.C. et al. Risk factors analysis applied to antibodies to Bovine Herpesvirus Type 1, Bovine Viral Diarrhea Virus, Bovine Leukemia Virus and *Brucella abortus* among cattle: a cross-sectional study. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 13 n. 1, 2019.
- BRASIL. Ministério de Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de leptospirose**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 1995. 98 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 50, de 24 de setembro de 2013.
- CAN, M. F.; ATASEVEN, V. S.; YALÇIN, C. Estimation of production and reproductive performance losses in dairy cattle due to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) infection. **The Journal Veterinarski Arhiv**, v. 86, n. 4, p. 499-513, 2016.
- CHAVES, N. P. et al. 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**, São Paulo, v. 79, n. 4, p. 495-502, dec. 2012.
- CHEUQUEPÁN VALENZUELA, F.; et al. Improvement of *Leptospira* spp. diagnosis in aborted bovine fetuses by qPCR. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 73, n. 101555, 2020.
- CHIARELI, D. et al. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 32, n. 7, p. 633–639, jul. 2012.

COSTA, F. et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review (Article). **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, ed. 9, n. e0003898, 19p, 2015.

DIAS, J. A. et al. 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.

DUARTE, P. M.; SANTANA, V. T. P. Infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em rebanhos de corte de propriedades da cidade de Uruguaiana/RS. **Veterinária em Foco**, v.16, n.1, p. 46-53, jul./dez. 2018.

ELLIS, W. A. Animal leptospirosis. **Current topics in microbiology and immunology**, v. 387, p. 99–137, 2015.

FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. 2.ed. Geneva: World Health Organization, 1982. p.1-98.

FAVERO, E. et al. LEPTOSPIROSE BOVINA - VARIANTES SOROLÓGICAS PREDOMINANTES EM COLHEITAS EFETUADAS NO PERÍODO DE 1984 A 1997 EM REBANHOS DE 21 ESTADOS DO BRASIL. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 29-35, jul./dez., 2001.

FERNANDES, L. G. et al. Spatial analysis for bovine viral diarrhoea virus and bovine herpes virus type 1 infections in the state of Paraíba, North eastern Brazil. **Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 102, 2018.

FERNANDES, L. G. et al. Bayesian estimation of herd-level prevalence and risk factors associated with BoHV-1 infection in cattle herds in the State of Paraíba, Brazil. *Preventive veterinary medicine*, v. 169, 104705, 2019.

FINO, T.C. et al. Diarréia Bovina a Vírus (BVD) - Uma breve revisão. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 2, p. 131-140, 2012.

FOUNTAIN, J. et al. One size does not fit all: Exploring the economic and non-economic outcomes of on-farm biosecurity for bovine viral diarrhoea virus in Australian beef production. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 208, n. 105758, 2022.

FURQUIM, M. E. C; SANTOS, R. F.; MATHIAS, L. A. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em amostras de soro bovino de vários estados brasileiros analisadas no período de 2007 a 2015. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia [online]**, v. 73, n. 02, p. 277-284, 2021.

GENOVEZ, M. E. et al. FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO PELA|LEPTOSPIRASPP. SOROVAR HARDJO EM REBANHOS EXCLUSIVOS DE OVINOS E NOS CONSORCIADOS COM BOVINOS. **Arquivos do Instituto Biológico [online]**, v. 78, n. 4 p. 587-592, 2011.

GOMES, V. et al. Impacto da infecção persistente pelo vírus da diarreia viral bovina nos indicadores da função imune inata e adaptativa em bezerros e vacas holandesas. **Ciência Rural [online]**, v. 53, n. 5, 2023.

GONÇALVES, D. D. et al. *Leptospira* spp. in Naturally Infected Dairy Cow from a Brazilian Border Region. **Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)**, v. 21, n. 11, p. 864–869, 2021.

GROOMS, D. L.; BOLIN, C. A. Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhea virus and *Leptospira* spp. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 1, n. 2, p. 463–472, 2005.

HAAS, D.J., et al. Seroprevalence and intercurrency of reproductive pathogens in cattle from family farms in North of Minas Gerais, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, pp. 145-158, 2020.

HAMOND, C. et al. Bovine Leptospirosis Due to Persistent Renal Carriage of *Leptospira borgpetersenii* Serovar Tarassovi. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p 848664, 2022.

HASHIMOTO, V. Y. et al. Epidemiological status of bovine leptospirosis in the State of Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n 2, p. 4341-4355, 2015.

HERRMANN, G. P. et al. SOROPREVALENCIA DE LEPTOSPIROSE EM BOVINOS NAS MESORREGIÕES SUDESTE E SUDOESTE DO ESTADO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL. *Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science*, Goiânia, v. 13, n. 1, p. 131–138, 2012. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/13190>. Acesso em: 23 mar. 2023.

IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal – PPM. Tabelas 2021. **Efetivos dos rebanhos - Alagoas**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/geratabela?name=Tabela%202.2%20-%20Alagoas.xlsx&format=xlsx&medidas=true&query=t/3939/g/24/v/all/p/2021/c79/all/l/p%2Bv,c79,t> Acesso em 20 de dezembro de 2022.

ISCARO, C. et al. Programas de controle de rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) em países europeus: uma visão geral. **Animal Health Research Reviews**, v. 22, n. 2, p. 136-146, 2021.

LANCHEROS-BUITRAGO, D. J. et al. Serodiagnosis and Risk Factors Associated with Infectious Agents of Reproductive Diseases in Bovines of Chiquinquirá, District of Boyacá (Colombia). **Veterinary medicine international**, v. 2022, n. 7436651, 2022.

LANYON, S. R. et al. Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. **The Veterinary Journal**. v. 199, n. 2, p. 201-209, 2014.

LOUREIRO, A. P., & LILENBAUM, W. Genital bovine leptospirosis: A new look for an old disease. **Theriogenology**, v. 141, p. 41–47, 2020.

LEITE, A. et al. Caracterização epidemiológica da leptospirose suína em criações não tecnificadas do semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 613-619, 2018.

LEITE, A. S. et al. Ocorrência de anticorpos anti-BVDV e BoHV-1 em búfalos (*Bubalus bubalis*) no estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.14, n. 4, p. 287–291, 2020.

LILENBAUM, W.; MARTINS G. Leptospirosis in cattle: A challenging scenario for the understanding of the epidemiology. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 61, n.1. p. 63-68. 2014.

LIMA, M. S.; et al. Pesquisa de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 em bovinos no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.73, n. 2, p. 214-218, 2011.

MACHADO, A C. et al. Análise epidemiológica de *Leptospira* spp. infecção em ovinos no estado de Pernambuco, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico** [online]., v. 83, e0222014, 2016.

MAZZOTTA E. et al. Persistence of *Leptospira borgpetersenii* Serovar Hardjo in Refrigerated Raw Milk: A Transmission Risk of Leptospirosis to Humans. **Pathogens**, v. 10, n. 3, p. 291, 2021.

MELO, C. B. et al. Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.119, p. 97–105, 2004.

MONTES, V; MONTI G. Pathogenic *Leptospira* spp. seroprevalence and Herd-Level Risk Factors Associated with Chilean Dairy Cattle. **Animals**, v. 11, n. 11, p. 3148, 2021.

NORONHA, R. P.; CAMPOS, G. S.; SARDI, S. I. Pesquisa do vírus da diarréia viral bovina em bovinos jovens. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 40, n. 6, p. 424-430, 2003.

OLIVEIRA, A. A. et al. Seroprevalence of bovine leptospirosis in Garanhuns Municipal District, Pernambuco State, Brazil. **The Onderstepoort journal of veterinary research**, v. 68, n. 4, p. 275–279, 2001.

OLIVEIRA, R. M. et al. Soroepidemiologia da leptospirose e brucelose bovina em propriedades rurais de agricultura familiar do agreste paraibano, Nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 3, p. 303-311, 2013.

OLIVEIRA, P. R. F. et al. Occurrence of serological reactions for serogroup Sejroe (CTG and Prajino) in female buffalo in the state of Pernambuco, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 4, out. 2018.

ORJUELA, A. G.; PARRA-ARANGO, J. L; SARMIENTO-RUBIANO, L. A. Leptospirose bovina: efeitos na reprodução e abordagem da pesquisa na Colômbia. **Trop Anim Health Prod** v. 54, n. 251, 2022.

PIMENTA, C. L.R.M. et al. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira** [online], v. 34, n. 4, p. 332-336, 2014.

ROCHA, W.B. et al. Prevalence and risk factors associated with anti-*Leptospira* spp agglutinins in cattle from dairy farmers in Ji-Paraná, RO, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** [online], v. 74, n. 03, 2022.

SANTOS, R. F. et al. Epidemiological characteristics of *Leptospira* spp. infection in bovine herds in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, [S. l.], v. 58, p. e180127, 2021.

SCHILLINGS, E; et al. Reproductive performance of Nelore heifers raised in extensive system undergoing different vaccination protocols in fixed-time artificial insemination (FTAI). **Ciência Rural** [online]. 2019, v. 49, n. 11, e20180902, 2019.

SCHILLINGS NETO, E. et al. DESEMPENHO reprodutivo de novilhas Nelore criadas em sistema extensivo submetidas a diferentes protocolos de vacinação em inseminação artificial em tempo fixo (IATF). **Ciência Rural** [online], v. 49, n. 11, e20180902, 2019.

SILVA, F.S. et al. Análise soroepidemiológica da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BOHV-1) em bovinos no Estado de Pernambuco. **Acta Scientia e Veterinariae**. v. 43, p. 1324, 2015.

SILVA PINTO, P. et al. Uma revisão sistemática sobre a soroepidemiologia do teste de aglutinação microscópica da leptospirose bovina na América Latina. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, p. 239–248, 2016.

SOUSA, V. E. et al. FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NA BACIA LEITEIRA DA ILHA DE SÃO LUÍS-MA. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 496 – 501, 2009.

SOUZA, F. O. et al. Frequency and risk factors associated with the bovine viral diarrhoea virus in herds in the semiarid region of the states of Bahia and Pernambuco, Brazil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 13, n. 3, p. 163-169, sep 2019.

THOMPSON, J. A. et al. Spatial hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. **Preventive veterinary medicine**, v. 7, n. 3-4, p. 290–301, 2006.

WOAH – World Organization for Animal Health. Animal Diseases 2022. Disponível em: <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases/> Acesso em 18 de julho de 2022.

YUE, X. et al. Estimating the Effect of a Bovine Viral Diarrhea Virus Control Program: An Empirical Study on the Performance of Dutch Dairy Herds. **Frontiers in veterinary science**, v. 9, p. 892928, 2022.

ZAMIR, L et. al. The association between natural drinking water sources and the emergence of zoonotic leptospirosis among grazing beef cattle herds during a human outbreak. **One health** (Amsterdam, Netherlands), v. 14, n. 100372, 2022.

ZANATTO, D. C. S. et al. *Coxiella burnetii* associated with BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus), BoHV (Bovine Herpesvirus), *Leptospira* spp., *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma vivax* in reproductive disorders in cattle. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 245-257, apr.-jun 2019.

CAPÍTULO 2
ARTIGO 2

Pesquisa de anticorpos contra o vírus de Schmallerberg em bovinos procedentes do estado de Alagoas, Brasil

(Artigo a ser submetido para a revista Scientia Agricola)

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa realizar um estudo sorológico da infecção por Schmallenberg vírus (SBV) em bovinos criados no Estado de Alagoas, Brasil. Foram analisadas 460 amostras da soroteca de Agência de Defesa Agropecuária de Alagoas- ADEAL, procedentes de bovinos não vacinados de 100 propriedades distribuídas em 99 municípios das três mesorregiões alagoanas: Agreste, Leste e Sertão. O diagnóstico sorológico foi realizado com *kits* comerciais de Ensaio Enzimático (ELISA) indireto e competitivo. Observou-se que 0,87% (4/460) apresentaram como suspeita no ELISA indireto. Destas, apenas uma continuou suspeita após ser submetida ao ELISA competitivo. O fortalecimento de estratégias regionais de vigilância e controle para patógenos emergentes são necessários. Outros estudos que incluam o isolamento viral em ruminantes e vetores são importantes para confirmarem a circulação do agente.

Palavras-chave: elisa; doença exótica, malformação, vetor

ABSTRACT

The objective of this research was to conduct a serological study of Schmallenberg virus (SBV) infection in cattle raised in the State of Alagoas. Were analyzed 460 samples from the seroteca Agricultural Defense Agency of Alagoas - ADEAL, coming from unvaccinated cattle from 100 properties distributed in 99 municipalities in Alagoas and in the three mesoregions of Alagoas: Agreste, Leste and Sertão. Serological diagnosis was performed using commercial indirect and competitive Enzyme Assay (ELISA) kits. It was observed that 0.87 (4/460) were questionable in the indirect ELISA. Of these, only one remained questionable after being subjected to the competitive ELISA. Strengthening regional surveillance and control strategies for emerging pathogens is needed. Other studies that include viral isolation in ruminants and vectors are important to confirm the circulation of the agent.

Key-words: elisa; exotic disease, malformation, vector

INTRODUÇÃO

O agente etiológico, o vírus Schmallerberg (SBV), é um *Orthobunyavirus* pertencente ao sorogrupo Simbu (família *Peribunyaviridae*). É transmitido por vetores, mosquitos do gênero *Culicoides*, entre ruminantes domésticos e selvagens. A infecção é geralmente assintomática ou autolimitada em ruminantes adultos (JIMÉNEZ-MARTÍN et al., 2021).

No entanto, quando ruminantes são infectados durante um período crítico da gestação, o SBV pode causar aborto, natimorto ou malformações fetais graves que se tornam perceptíveis vários meses após a infecção aguda da mãe e afetam mais comumente o sistema nervoso central, o músculo esquelético e/ou o esqueleto axial e são resumidas como síndrome artrogripose-hidranencefalia (WERNIKE; BEER, 2020).

SBV é considerado enzoótico na Europa e surtos esporádicos e a circulação viral foram relatados em outros continentes, incluindo Ásia e África (ZHAI et al., 2018). Em regiões enzoóticas, é necessária a manutenção e verificação regular dos diagnósticos e em regiões ainda não afetadas, devem ser estabelecidos sistemas de diagnóstico adequados para estarem preparados para uma possível introdução da doença (WERNIKE; BEER, 2019).

A detecção precoce de doenças emergentes transmitidas por vetores é de grande importância para minimizar seu impacto no bem-estar animal, no comércio de animais e nos custos associados a um surto, considerando que existe dificuldade na detecção no início da doença quando resulta em sinais clínicos inespecíficos em uma enfermidade, pois podem ser mal interpretados como procedentes de doenças enzoóticas comuns, condições ambientais ou qualidade alimentar reduzida (VELDHUIS et al., 2016).

Dessa forma, a preocupação com a doença de Schmallerberg na América está relacionada à emergência inesperada e disseminação conforme verificado nos surtos que ocorreram em outras regiões geográficas, que até então, também era uma enfermidade desconhecida (ZIENTARA; BECK; LECOLLINET, 2020). Considerando a falta de conhecimento sobre a epidemiologia do SBV no Brasil, objetivou-se com este estudo pesquisar a ocorrência de anticorpos contra o vírus de Schmallerberg em amostras de bovinos procedentes de Alagoas.

MATERIAL E MÉTODOS

Ética

O projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais /Universidade Federal Rural de Pernambuco – CEUA/UFRPE com aprovação pelo parecer 04/2020.

Amostragem e envio ao laboratório

Tratou-se de estudo epidemiológico transversal de soroteca com delineamento estatístico e informações sobre as propriedades selecionadas empregadas no estudo da brucelose bovina no estado de Alagoas no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), coordenado pelo Departamento de Defesa Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pela Agência de Defesa e Inspeção Agropecuária de Alagoas (ADEAL).

Para esta pesquisa, foram selecionadas todas as amostras procedentes da soroteca de bovinos em idade reprodutiva e oriundos de propriedades com rebanhos a partir de cinco animais.

Elisa Indireto e ELISA Competitivo para SBV

As amostras foram enviadas devidamente acondicionadas e conservadas em temperatura de congelamento para as análises. Utilizou-se o *kit* ELISA indireto (iELISA - IDVET®) para SBV (sensibilidade de 97,72% e especificidade de 99,67%). Os soros que apresentaram reações suspeitas foram submetidos ao teste de ELISA competitivo (cELISA - IDVET®) para SBV (sensibilidade de 97,6% e especificidade de 100%).

De acordo com o protocolo do fabricante, as amostras foram categorizadas em três grupos: positivas, suspeitas e negativas. Para o iELISA as amostras foram positivas quando a porcentagem calculada $> 60,00\%$, suspeitas se porcentagem calculada $> 50,00\%$ e $\leq a 60,00\%$ e negativas quando a porcentagem calculada $\leq 50,00\%$. No cELISA foram positivas quando a porcentagem calculada $\leq 40,00\%$, suspeitas se porcentagem calculada $< 40,00\%$ e $\leq 50,00\%$ e negativas quando a porcentagem calculada $>50,00\%$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se no ELISA indireto que 99,13% (456/460) das amostras analisadas foram negativas e 0,87% (4/460) foram classificadas como suspeitas. As amostras suspeitas foram submetidas posteriormente ao ELISA por competição e obteve-se 25% (1/4) das amostras classificadas como suspeita. Os resultados sugerem a não circulação viral nos rebanhos deste estudo, e sem relato de detecção no país.

De Souza Nunes Martins et al. (2022), realizaram um estudo no Brasil, para analisar, por técnica molecular, 1665 amostras de sangue bovino e 313 fetos abortados, e teste sorológico para 596 amostras de soro, mas não foi encontrada nenhuma amostra positiva. Em Pernambuco, 368 amostras de soro de caprinos foram submetidas ao ELISA competitivo e negativas para SBV (FERREIRA, 2022).

A interpretação dos resultados suspeitos nos testes sorológicos (ELISA), como neste estudo, deve ser realizada com cautela, pois como não há notificação da enfermidade no país, os casos suspeitos devem ser considerados negativos (RASEKH; SARANI, HASHEMI, 2018). Os poços dos *kits* utilizados neste estudo estão cobertos com a proteína nucleocapsídica recombinante do SBV; e reações cruzadas com outros sorogrupos Simbu relacionados, como os vírus Aino (AINV) e Akabane (AKAV) devem ser consideradas (AZKUR et al., 2020; RASEKH; SARANI; JAFARI, 2022), mas até a presente data estes vírus não foram relatados na população bovina no Brasil.

O aumento do comércio internacional nos últimos trinta anos, as mudanças climáticas causadas pela revolução industrial, a desorganização dos ecossistemas, são alguns dos fatores que podem favorecer o surgimento de doenças em regiões onde estavam ausentes (ZIENTARA; BECK; LECOLLINET, 2020).

Durante a última década, a ocorrência de doenças virais emergentes aumentou consideravelmente em várias regiões em todo o mundo, entre os vírus patogênicos emergentes ou reemergentes estão um grande número dos chamados vírus transmitidos por artrópodes (arbo), ou seja, vírus que são transmitidos entre seus hospedeiros vertebrados por insetos e outros artrópodes (SICK et al., 2019).

No Brasil, foram registradas 299 espécies de *Culicoides*, a maioria delas na Região Amazônica, e em Alagoas recentemente teve o primeiro relato de um

membro dos Ceratopogonidae, *Culicoides insignis* (RIOS et al., 2021), assim, o SBV possui condições de se estabelecer e disseminar caso seja introduzido no país.

É importante implementar um sistema de vigilância para o SBV no Brasil, pela doença ser transmitida por vetor, disponível no país e altamente competente e pelas malformações fetais terem sido observadas apenas semanas após onde ocorreram os surtos e a infecção materna (ROBERTS et al., 2014).

Conclusão

Não foram detectadas amostras positivas para a infecção pelo Vírus Schmallerberg o que sugere a não circulação viral nos rebanhos analisados. No entanto, considerando a existência do vetor no país que permite o estabelecimento do SBV no país, é necessário o fortalecimento de estratégias regionais de vigilância epidemiológica. A realização constante de estudos epidemiológicos em ruminantes e de detecção do SBV em ruminantes e em vetores é importante para o monitorar a circulação do agente e detectá-lo precocemente em caso de introdução no país, minimizando os impactos econômicos e sanitários.

Referências

AZKUR, A. K. et al. Optimisation of Indirect ELISA by Comparison of Different Antigen Preparations for Detection of Antibodies Against Schmallerberg Virus Kafkas **Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 26, n. 6, p. 795 – 800, 2020.

DE SOUZA NUNES MARTINS, M. et al. Schmallerberg virus: research on viral circulation in Brazil. **Brazil Journal Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 377–383, 2022.

FERREIRA, M. N. S. **Estudo sorológico de *Toxoplasma gondii* e Schmallerberg vírus em rebanhos caprinos no estado de Pernambuco**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-graduação Biociência Animal, Recife, p. 65, 2022.

RASEKH, M.; SARANI, A.; HASHEMI, S. H. Detection of Schmallerberg virus antibody in equine population of Northern and Northeast of Iran. **Veterinary world**, v. 11, n. 1, p. 30–33, 2018.

JIMÉNEZ-MARTÍN, D. et al. Epidemiological surveillance of Schmallenberg virus in small ruminants in southern Spain. **Transboundary and emerging diseases**, v. 68, n. 4, p. 2219–2228, 2021.

RASEKH, M.; SARANI, A.; & JAFARI, A. First detection of Schmallenberg virus antibody in cattle population of eastern Iran. **Veterinary Research Forum**, v. 13, n. 3, p. 443-446, 2022.

RIOS, R.R.S et al. *Culicoides insignis* Lutz, 1913 (Diptera: Ceratopogonidae) Mosquitos mordedores no Nordeste do Brasil. **Insects**, v. 12, n. 4, pág. 366, 20 abr. 2021.

ROBERTS, H. C. et al. Response to an emerging vector-borne disease: Surveillance and preparedness for Schmallenberg virus, **Preventive Veterinary Medicine**, v. 116, n. 4, p. 341-349, 2014.

SICK, F. et al. Culicoides Biting Midges-Underestimated Vectors for Arboviruses of Public Health and Veterinary Importance. **Viruses**, v. 11, n. 4, p. 376, Apr 24 2019.

VELDHUIS, A. et al. Application of syndromic surveillance on routinely collected cattle reproduction and milk production data for the early detection of outbreaks of Bluetongue and Schmallenberg viruses. **Preventive veterinary medicine**, v. 124, p. 15–24, 2016.

WERNIKE, K., & BEER, M. International proficiency trial demonstrates reliable Schmallenberg virus infection diagnosis in endemic and non-affected countries. **PloS one**, v. 14, n. 6, e0219054, 2019.

WERNIKE, K., & BEER, M. Re-circulation of Schmallenberg virus, Germany, 2019. **Transboundary and emerging diseases**, v. 67, n. 6, p. 2290–2295, 2020.

WOAH- World Organisation for Animal Health. OIE TECHNICAL FACTSHEET. SCHMALLEMBERG VIRUS, p.5, jun 2017. Disponível em: <https://www.oie.int/app/uploads/2021/03/a-schmallenberg-virus.pdf>

ZHAI, S. L. et al. Preliminary serological evidence for Schmallenberg virus infection in China. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, p. 449–453, 2018.

ZIENTARA, S.; BECK, C; LECOLLINET, S. Arboviroses émergentes: fièvre West Nile, fièvre catarrhale ovine et virus Schmallenberg [Emerging vectorial diseases: West Nile fever, Bluetongue and Schmallenberg]. **Bulletin de l'Académie nationale de médecine**, v. 204, n. 9, p. 992–999, 2020.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo constatou a ocorrência das infecções por BoAHV-1, BVDV e *Leptospira* spp., não identificando evidência sorológica para SBV em bovinos no estado de Alagoas, Brasil. Reforça-se que as práticas de biossegurança, as medidas de prevenção e controle devem ser implementadas com a necessidade de monitoramento sorológico, vacinação e apoio dos órgãos de defesa animal nas propriedades, com o objetivo de minimizar os impactos da presença de cada uma das enfermidades e da atuação sinérgica da coinfeção encontrada.

Não foi encontrada evidência de animais sorologicamente positivos para infecção pelo Vírus Schmallerberg nas amostras analisadas o que sugere a não circulação viral nos rebanhos analisados. A realização constante de estudos epidemiológicos em ruminantes e de isolamento do SBV em ruminantes e em vetores é importante para o monitorar a circulação do agente e detectá-lo precocemente em caso de introdução no país, minimizando os impactos econômicos e sanitários.