



Universidade Federal Rural de Pernambuco
Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal

Identificação e caracterização molecular do *Bovine alphaherpesvirus 1* e *Bovine alphaherpesvirus 5* em bovinos no estado de Pernambuco

Bruno Pajeú e Silva

Recife – PE
2021



Universidade Federal Rural de Pernambuco
Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal

Identificação e caracterização molecular do *Bovine alphaherpesvirus 1* e *Bovine alphaherpesvirus 5* em bovinos no estado de Pernambuco

Bruno Pajeú e Silva

Tese submetida à Coordenação do curso de Biociência Animal como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior

Recife – PE
2021

Página intencionalmente deixada em branco para disposição da Biblioteca Central da UFRPE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central desta Universidade.

Bruno Pajeú e Silva

Aprovada em 28 de maio de 2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior

Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim

Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Profa. Dra. Rita de Cássia Carvalho Maia

Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof. Dr. Luiz Flavio Arreguy Maia Filho

Departamento de Economia – UFRPE

Prof. Alexandre Tadeu Mota Macedo

Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF

Dedicatória

Em memória de:

Joana D'arc Silva (mãe)

Maria do Carmo de Oliveira (avó)

Júnior Mário Baltazar de Oliveira (um irmão)

Eu não sei onde os outros os procuram, mas eu os levarei sempre comigo e os perpetuarei por minhas ações e pelas histórias que serão contadas por décadas à frente. Vocês deixaram uma assinatura na vida na forma de um legado e um legado permanece. Vocês seguirão vivos sempre por aqueles que os conheceram.

AGRADECIMENTOS

Não acredito que nada do que produzi academicamente, e para fora deste âmbito, tenha sido difícil, pois tive bons pontos de apoio. Serei eternamente grato pelas pessoas que cruzaram o meu caminho durante essa trajetória, das boas às não tão entendidas como boas, porque tudo serviu como experiência. Então eu registro os meus mais honestos agradecimentos, à todos.

Primeiramente, registro os meus agradecimentos e amor incondicional ao meu núcleo familiar: minha irmã Débora (A Bolota), meu irmão Giancarlly (Gian) e meu “véio” que tenho como pai Francsico Heronaldo. Vocês são tudo pra mim. Sempre nos amparamos diante de tudo e assim pra sempre o será. Seguiremos unidos.

Ao meu povo Fernando (cunhado), Rosineide (cunhada), meus sobrinhos Luigi (Joca) e Bernardo (Xixi), a minha eterna gratidão por tudo o que representam e por tudo o que vocês fizeram. À Natally Araújo (minha delegada e amor) e seus demais familiares Rinaldo (sograldo), Lenivalda (D. Valda), D. Zezinha e Adalto, não sei o que o futuro nos guarda, mas espero que seja melhor do que o que já se mostra.

Ao amigo, irmão e afilhado de casamento Júnior Mário Baltazar de Oliveira. Um irmão que as circunstâncias da vida fizeram com que nossos caminhos se cruzassem de modo indissociável. Particpei da sua banca de graduação e falei para todos os alunos que pude que ele estaria aqui pra fechar o ciclo, na qualidade de avaliador. Eu sempre disse que gostava desse peste, só que nunca imaginei que gostava tanto. Isso não é um agradecimento, é mais um desabafo. De um modo ou de outro, o ciclo se fecha. Estendo aqui o meu carinho por sua mulher, Natália Barroca, que passou a ser uma filial de família (literalmente).

Ao amigo e irmão Breno Bezerra Aragão, por sempre estar ao meu lado durante toda essa caminhada. Se o tempo não lhe foi capaz de mudar o “jeitinho peculiar” (para não dizer a nojenteza kkk) não mudará o imenso carinho que levo comigo sempre. À sua esposa Sabrina Cândido, estendo também um imenso carinho (mas calma aí que você chegou faz pouco tempo, “Maga” (kkkk)).

Ao amigo e compadre José Luis (Zé), sua esposa Silvane e filhos (Dante e Enzo); aos amigos Anderley, Luzia Isley, Crisley e seus pais; aos amigos Antônio

Bruce (Sarça), Francivaldo Mendes (Franci) e José Vandevaldo (Vardo) – vocês são a extensão da minha família aqui em Venturosa (Leste Europeu, a quem não conheça e esteja lendo isso agora).

Aos colegas de laboratório com quem tive o enorme prazer de dividir o espaço, e experiências de vida. Nossas conversas renderiam perfeitamente muito mais do que os cinco anos que os conheço. Então quero agradecer à todos que por ali passaram ao longo desse tempo: Antônio Fernando (desde a graduação), Maria Áurea (doida do meu coração), Gisele Ramos (gata), Willyanne Darline (tô devendo uma feira boa... kkkk) e nessa reta final os demais colegas David Rodrigues e Bárbara Ferreira. À Maria Inês (D. Inês ou simplesmente “Inhêi”) por toda a ternura que sempre a acompanhou e pela agradabilíssima companhia – um ser humano como poucos. Ao amigo Sérgio Alves (Pastor), com quem sempre tive boas conversas, de quem sempre recebi valorosos conselhos da vida e quem muito me ajudou e sem ele dificilmente estaria aqui hoje – muito obrigado, Sérgio, não só pelo imensurável préstimo acadêmico, mas por ser essa pessoa formidável.

Aos demais colegas de laboratório de bacterioses, são muitos que passaram por lá, mas sintam-se todos representados nas pessoas de Renata Pimentel (Renatinha) que me ajudou demais mesmo a aprender sobre biologia molecular (nem sei como agradecer pela paciência). Aos colegas e amigos Maria de Nazaré (Naza), Marcus Falcão (D. Marcus), José Givanildo (Giva), Muller Ribeiro, Gláucia (Chica), Raylson, Érica Samico, Pedro Paulo (figuraça!), Débora Viegas, Gabriela Gonçalves (Gabi), Amanda Noronha (Amandinha), Pollyanne Raysa (Poly), Tania Ortega, Jéssica de Crasto (aff...), Renato Amorim (meu clone, só que inteligente) e à tantos outros (são muitos os nomes, como disse) registro os meus mais honestos agradecimentos e a minha estima. Vocês são show.

Às professoras Rita Maia e Andrea Alice, aos professores Roberto Soares e Rinaldo Aparecido por sempre se prestarem a contribuir com não só a minha pesquisa, mas com a de muitos outros discentes que orientam. Registro os agradecimentos. Também professor, mas esse coloco à parte por me acompanhar de longa data, o Professor Daniel Brandespim, que tenho um carinho imenso e uma profunda admiração – não só um professor mas também um amigo – levo comigo muitos dos seus ensinamentos e exemplo de força e alegria (aquela parte não tão “macia” eu levo também porque às vezes a gente tem que saber enquadrar um povo rrsrs).

Ao corpo técnico da Clínica de Bovinos de Garanhuns aqui representado na pessoa de Dr. José Augusto por todo o suporte prestado para a realização dessa pesquisa e pelo aprendizado passado desde a residência, aqui registro não só os meus agradecimentos, mas a grande admiração que lhe tenho.

Aos amigos Emanuel Felipe (Bimba), Alexandre Tadeu (Honorável), Robson Honorato (Peludo), Ana Freitas (Jovem), Alexandre Cruz (O Bonitão), Janaína Guimarães (Jana), Adalberto Leite, Thamyres Bruna (Neiva), Rodolfo Souto (Fii da Mãe de Deus) e mais uma tuia de gente o meu mais honesto obrigado por tudo. Eu nem sei o que dizer de vocês por tudo o que representam pra mim. Sou imensamente grato por tudo e sem vocês eu não seria, bom ou ruim, o que sou hoje.

À todo pessoal do corpo técnico terceirizado: Sr. Severino, D. Cleide, Claudinha, Anderson, Sr. Ricardo, Sandra, Keila e todos os demais que desempenham um excelente trabalho na manutenção do funcionamento das universidades, o meu agradecimento. O nome de vocês não coube no lattes, mas sobra em espaço no meu coração. Todos os que passam pela Universidade têm em seu trabalho o pleno funcionamento da instituição que lhes dá as perfeitas condições de desempenharem as suas atividades, logo, vocês são tão essenciais quanto o mais renomado técnico por alicerçarem o funcionamento de tudo. Meu reconhecimento.

Como tudo que se produz academicamente, o orientador vem sempre por último e aqui quero registrar a minha mais profunda admiração por aquele em quem procuro pautar as minhas ações. Eu não sou um exemplo de pontualidade com que faço, acho que se fosse um bicho seria um pato porque faço tudo mais ou menos (meio que dá mais certo que errado rrsrsr), mas até um pato precisa saber o que quer seguir, ainda que lá não chegue, mas precisa perseguir algo não por necessidade de seguir, mas por inspiração. O senhor inspira pessoas, Professor.

FONTES FINANCIADORAS

Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE):
Concessão de bolsa de doutorado (IBPG – 1082-5.05/16).

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES): Concessão
de auxílio financeiro por meio do Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP).

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
REVISÃO DE LITERATURA	15
Características virais	15
Epidemiologia.....	20
Patogenia.....	24
Sinais clínicos	25
Achados de necropsia.....	27
Diagnóstico	28
Profilaxia	29
REFERÊNCIAS.....	31
OBJETIVOS	41
Geral.....	41
Específicos.....	41
CAPÍTULO 1: MENINGOENCEFALITE CAUSADA PELO BOVINE ALPHAHERPESVIRUS 5 EM PERNAMBUCO, BRASIL	42
Artigo aceito pelo periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia	42
CAPÍTULO 2: IMPACTOS ECONÔMICOS DA INFECÇÃO POR ALFAHERPESVIRUS BOVINO 1 NO BRASIL: METANÁLISE A PARTIR DE INDICADORES EPIDEMIOLÓGICOS.....	52
Artigo aceito pelo periódico SEMINA: Ciências Agrárias. Formatado de acordo com as normas do periódico.	52
CAPÍTULO 3: ALFAHERPESVÍRUS ISOLADOS EM BOVINOS COM QUADRO NEUROLÓGICO NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL.....	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
ANEXO 1: ARTIGO ACEITO PELA REVISTA ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA.....	91
ANEXO 2: ARTIGO ACEITO PELA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS	99

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa identificar e caracterizar molecularmente isolados de alfa herpesvírus bovino tipo 1 e 5 (BoAHV1 e BoAHV5, respectivamente) no estado de Pernambuco. A pesquisa foi dividida em duas etapas, na primeira etapa foram analisadas amostras de sistema nervoso central como cerebelo, *rete mirabilis*, tronco encefálico, telencéfalo e diencéfalo de 32 animais que foram a óbito na Clínica de Bovinos de Garanhuns (CBG/UFRPE), no período de 2012 a 2016, e tiveram os fragmentos de sistema nervoso emblocados em parafina por meio de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Na segunda etapa foram coletados, na CBG/UFRPE entre janeiro de 2017 a dezembro de 2020, fragmentos de sistema nervoso central de 81 bovinos submetidos à necropsia que foram a óbito apresentando sinais clínicos neurológicos. As amostras foram coletadas em tubos contendo Meio Essencial Mínimo (MEM) e inoculadas em cultivo celular e as que apresentaram efeito citopático foram caracterizadas molecularmente. Da primeira etapa foi encontrado DNA do BoAHV5 em 6,25% (2/32) das amostras conservadas em parafina, confirmado por sequenciamento. Das amostras preservadas em MEM, referentes à segunda etapa, inoculadas em cultivo celular, BoAHV1 foi isolado em 4,93% (4/81) das amostras. Os resultados da ocorrência do BoAHV5 em material parafinado bem como os isolados do BoAHV1 em animais com sinais clínicos neurológicos demonstra a importância de se considerar os alfa herpesvírus bovinos como diagnóstico diferencial para doenças neurológicas como raiva, enfermidade endêmica entre os bovinos na região nordeste. Além disso, destaca-se que BoAHV1 mostra-se como um importante patógeno responsável por abortos e, conseqüentemente, significativos impactos econômicos à pecuária, necessitando a implementação de políticas que abranjam desde campanhas educativas até um maior rigor sanitário no trânsito, comércio e necessidade de imunização dos bovinos.

Palavras-chave: Isolamento viral, BoAHV1, BoAHV5, PCR.

ABSTRACT

The objective of this research was to identify and molecularly characterize bovine alphaherpesvirus types 1 and 5 (BoAHV1 and BoAHV5, respectively) in the state of Pernambuco. The research was divided into two stages, in the first stage were analyzed samples of central nervous system such as cerebellum, rete mirabilis, brain stem, telencephalon and diencephalon from 32 animals that died in the period from 2012 to 2016 attended at CBG / UFRPE and had the fragments of the nervous system embedded in paraffin using Polymerase Chain Reaction (PCR). In the second stage, fragments of the central nervous system of 81 cattle submitted to necropsy which died showing neurological clinical signs were collected at the CBG / UFRPE between January 2017 and December 2020. The samples were collected in tubes containing Minimum Essential Medium (MEM) and inoculated in cell culture, and those with cytopathic effect were characterized molecularly. From the first stage, BoAHV5 DNA was found in 6.25% (2/32) of the samples preserved in paraffin, confirmed by sequencing. From the samples preserved in MEM, referring to the second stage, inoculated in cell culture, BoAHV1 was isolated in 4.93% (4/81) of the samples. The results of the occurrence of BoAHV5 in paraffinized material as well as BoAHV1 isolates in animals with neurological clinical signs demonstrate the importance of considering bovine alphaherpesvirus as a differential diagnosis for neurological diseases such as rabies, an endemic disease among cattle in the northeast region. In addition, it is noteworthy that BoAHV1 is an important pathogen responsible for abortions and, consequently, significant economic impacts on livestock, requiring the implementation of policies that range from educational campaigns to greater sanitary rigor in traffic, trade and need for immunization of cattle.

Keywords: Viral isolation, BoAHV1, BoAHV5, PCR.

INTRODUÇÃO

A bovinocultura sofre grandes perdas econômicas em virtude de falhas reprodutivas, independentemente da causa e do momento em que essas perdas ocorrem no período da gestação. A mortalidade embrionária e morte fetal, duas das mais importantes formas de disgenesia, resultam não apenas na perda da prole e aumento do intervalo de partos, mas também em outras consequências como o aumento do descarte de animais, redução na produção de leite e redução do valor do rebanho (ORTEGA-MORA et al., 2007).

Além do sofrimento animal ocasionado, as enfermidades virais são responsáveis por significativos impactos econômicos na bovinocultura em face à sua ocorrência na forma de surtos (NEWCOMER; WALZ; GIVENS, 2014). Embora tais doenças continuem sendo uma das principais causas de prejuízo para a indústria pecuária moderna, seu impacto potencial na fertilidade geralmente é subestimado e os seus principais mecanismos de ação não são totalmente compreendidos (WATHES et al., 2020). Fatores como o aumento global do comércio e tamanho médio dos rebanhos, urbanização, e alterações climáticas também facilitam a disseminação de vírus patogênicos ou a introdução de novas espécies virais em regiões antes livres, que pode ocasionar em um aumento generalizado da morbidade e mortalidade dos rebanhos (NEWCOMER; WALZ; GIVENS, 2014).

Os principais alfaherpesvírus que acometem os bovinos, *Bovine Alphaherpesvirus 1* e *Bovine Alphaherpesvirus 5*, BoAHV1 e BoAHV5, respectivamente, são genética e antigenicamente similares, compartilhando uma homologia de nucleotídeos de aproximadamente 90% (DELHON et al., 2003). A infecção pelos alfaherpesvírus bovinos ocorre em bovinos em todo mundo, independentemente das diferenças climáticas e das condições de manejo dos rebanhos em diferentes países (PEREZ et al., 2002; ROMERO-SALAS et al., 2013). Os prejuízos ocasionados pelo alfaherpesvírus bovino estão associados a surtos de abortos e infertilidade devido à vulvovaginite pustular infecciosa (IPV) em fêmeas e balanopostite pustular infecciosa (IPB) nos machos, queda na produção e mortes pela forma respiratória da enfermidade (IBR) em bovinos de todas as idades e alterações

neurológicas caracterizadas por meningoencefalite não supurativa (MUYLKENS et al., 2007; NANDI et al., 2009; RISSI et al., 2008).

Todas as cepas de BoAHV1 isoladas recentemente pertencem a uma única espécie viral, *Bovine alphaherpesvirus 1*, sendo classificada em três diferentes subtipos: BoAHV1.1, BoAHV1.2a e BoAHV-2b, baseado na forma apresentada, BoAHV1 tem sido associado com enfermidade respiratória, enquanto que BoAHV1.2, com problemas genitais (MUYLKENS et al., 2007), sendo este subtipo o menos virulento (NANDI et al., 2009).

No Brasil, a prevalência da infecção pelo herpesvírus bovino varia de 10,8% (RIBEIRO et al., 1987) a 96,0% (MELO et al., 1997), sendo comum médias de prevalência superiores a 50%. As prevalências do BoAHV1 encontradas em bovinos em estudos prévios no estado de Pernambuco variam entre 69,5% (SILVA et al., 1995) a 79,5% (SILVA et al., 2015). Kirkbride (1992) relata, em um levantamento realizado sobre as causas de aborto, que pouco mais da metade dos abortos ocasionados por agentes virais são restritamente atribuídos ao BoAHV1. A infecção por BoAHV5 já foi documentada nos estados do Mato Grosso do Sul (SALVADOR et al., 1998), Mato Grosso (COLODEL et al., 2002), São Paulo, Minas Gerais (GOMES et al., 2002), Rio Grande do Sul (ELIAS et al., 2004), Pará (RIET-CORREA et al., 2006) e Paraná (MASSITEL et al., 2016).

Os animais infectados assim permanecem por toda vida, como portadores latentes e aparentemente saudáveis, como resultado da capacidade viral em estabelecer latência, disseminando, após sua reativação, o agente para os animais susceptíveis (ENGELS; ACKERMANN, 1996; RAAPERI et al., 2014). Devido à similaridade entre os dois vírus, a análise enzimática de restrição genômica e alguns protocolos de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) são empregados para os diferenciar, permitindo assim a sua distinção e de seus subtipos (DELHON et al., 2003; FRANCO; ROEHE, 2007). Uma vez que o exame sorológico não diferencia BoAHV1 do BoAHV5, faz-se necessária a utilização destas ferramentas de diagnóstico que evitem falsos diagnósticos para os respectivos agentes (SILVA et al., 2007). Sobre os alphaherpesvírus não há estudos de caracterização molecular na região Nordeste.

Considerando que BoAHV ocasiona perdas econômicas e apresenta considerável prevalência em rebanhos bovinos, são necessárias pesquisas que possam identificar os subtipos virais que acometem os rebanhos bovinos no estado de Pernambuco para auxiliar na planificação de estratégias de profilaxia.

REVISÃO DE LITERATURA

Características virais

Os herpesvírus são muito antigos e aparentemente vêm co-evoluindo com seus hospedeiros há quase 1 bilhão de anos (FRANCO; ROEHE, 2007). McGeoch et al. (1995) sugerem que os vírus se desenvolveram juntamente com seus hospedeiros o que, segundo Franco; Roehe (2007) lhes permitiu um alto nível de adaptação, uma vez que nos seus hospedeiros naturais coexiste sem causar grandes agravos à saúde, contrário do observado em hospedeiros acidentais.

Bovine alphaherpesvirus 1 e *Bovine alphaherpesvirus 5* (BoAHV1 e BoAHV5, respectivamente) são vírus pertencentes à ordem *herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae*, gênero *Varicellovirus* (ICTV, 2019). Outras características que os membros dessa família compartilham consistem em envolverem uma grande quantidade de enzimas necessárias ao metabolismo, síntese de ácidos nucleicos e processamento de proteínas; transcrição gênica, síntese de DNA viral e montagem do nucleocapsídeo no núcleo; e o fato da multiplicação viral culminar na destruição da célula infectada (PELLET; ROIZMAN, 2013).

Os membros da família *Herpesviridae* compartilham uma morfologia viral comum que vai desde a morfologia do capsídeo icosaédrico até a presença de um envelope (MUYLKENS et al., 2007). Seu capsídeo é composto de cerca de 162 capsômeros de 125 a 200nm de diâmetro, rodeado por uma camada de material globular denominada tegumento, que por sua vez é envolto por um envelope lipoproteico, derivado da carioteca, com várias espículas glicoproteicas virais,

formando um vírion de diâmetro variando entre 200 a 300nm (OSTERRIEDER, 2016; PELLETT et al., 2011).

O vírus pode sofrer inativação no ambiente a depender de fatores como temperatura, pH, luminosidade, umidade e tipo de material em que o vírus está contido (GIBBS; RWEYEMAMU, 1977). Em razão da presença de envelope lipoproteico os vírus são facilmente inativados por álcoois e detergentes, perdendo a sua infectividade após o contato com isopropanol ou etanol 70 – 80% por cinco minutos; formaldeído a 0,2 – 8% e glutaraldeído a 2%, podendo ainda serem inativados pelo contato por período de dez minutos com substâncias que estejam fora da faixa de pH de 3 a 11 (FRANCO; ROEHE, 2007).

A família *Herpesviridae* é classificada em três subfamílias: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae* que foram originalmente definidas por características biológicas, mas que passaram a ser vistas, desde meados da década de 1990 até os dias atuais, como linhagens principais em critérios de constituição genética e similaridade de sequências de bases (ICTV, 2019; ROIZMAN et al., 1992).

A classificação dos Alfaherpesvírus Bovino 1 e 5 na subfamília *Alphaherpesvirinae* é realizada com base nas suas características biológicas por possuírem em comum uma ampla variedade de hospedeiros, ciclo replicativo menor que 24 horas e a capacidade de destruir rapidamente células de cultivo além da capacidade de estabelecer latência (fig. 1) (OSTERRIEDER, 2016). De acordo com o International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV (2019) a subfamília *Alphaherpesvirinae* agrupa 41 espécies distribuídas em cinco gêneros mais uma espécie ainda não classificada, totalizando 42 espécies, sendo a subfamília que agrupa a maior quantidade de vírus dentro da ordem *Herpesvirales*, conforme se pode verificar no quadro 1.

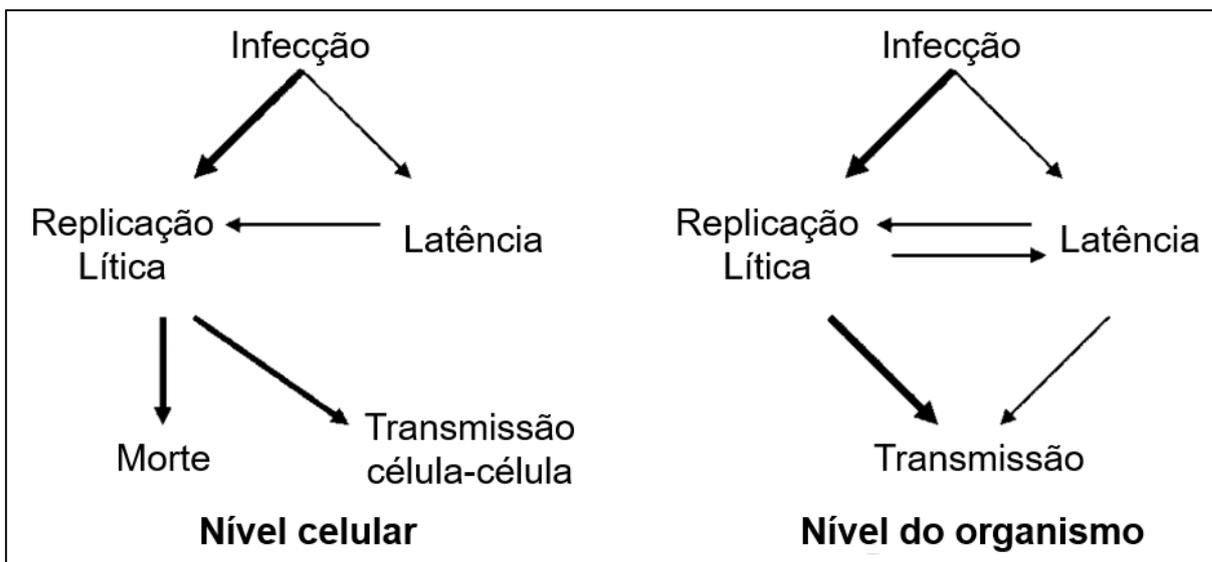


Figura 1: Desfecho das infecções líticas e latente nos níveis celular e do organismo animal (figura adaptada: PELLETT; ROIZMAN, 2013)

Quadro 1: Classificação taxonômica dos herpesvírus de acordo com o ICTV (2019)

Ordem <i>Herpesvirales</i>			
Família	Subfamília	Gênero	Espécie
<i>Alloherpesviridae</i>	-	<i>Batrachovirus</i> 3 espécies	(LTHV; RaHV1); (FV4; RaHV2); RaHV3
		<i>Cyprinivirus</i> 4 espécies	AngHV1; CyHV1; CyHV2; (KHV; CyHV3)
		<i>Ictalurivirus</i> 3 espécies	AciHV2; (CCV; IcHV1); IcHV2
		<i>Salmonivirus</i> 3 espécies	SalHV1; SalHV2; SalHV3
<i>Herpesviridae</i>	<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Iltovirus</i> 2 espécies	(ILTV; GaAHV1); (PDV; PsAHV1)
		<i>Mardinovirus</i> 6 espécies	(DEV; AnAHV1); (PHV; CoAHV1 FaHV1); (MDV1; GaAHV2); (MDV2; GaAHV3); (HVT; MeAHV1); SpAHV1

		<i>Scutavirus</i> 2 espécies	(FPTHV; ChAHV5); (THV3; TeAHV3)
		<i>Simplexvirus</i> 13 espécies	(HVA1; AtAHV1); (BMV; BoAHV2); (SA8; CeAHV2); (HSV1; HuAHV1); (HSV2; HuAHV2); (LHV4; LeAHV4); (BV; McAHV1); MaAHV1; MaAHV2; (ChHV; PnAHV3); (HPV2; PaAHV2); (FBAHV1; PtHAV1); (HVS1; SaAHV1)
		<i>Varicellovirus</i> 18 espécies	(IBRV; BoAHV1); BoAHV5; BuAHV1; (CHV; CaAHV1); CpAHV1; (SVV; CeAHV9); CvAHV1; CvAHV2; (EAV; EqAHV1); EqAHV3; EqAHV4; EqAHV8; EqAHV9; (FVRV; FeAHV1); (VZV; HuAHV3); MoAHV1; PcAHV1; (PRV; SuAHV1)
		-	(LETV; ChAHV6)
	<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Cytomegalovirus</i> 11 espécies	(OMCMV; AoBHV1); (CMCMV; CbBHV1); (SCMV; CeBHV5); (HCMV; HuBHV5); (RhCMV; McBHV3); McBHV8; MdBHV1; (CCMV; PnBHV2); (BCMV; PaBHV3); PaBHV4; (SMCMV; SaBHV4)
		<i>Muromegalovirus</i> 3 espécies	(MCMV; MuBHV1); (RCMV; MuBHV2); (RCMVE; MuBHV8)
		<i>Proboscivirus</i> 3 espécies	(EEHV1; EIBHV1); (EEHV4; EIBHV4); (EEHV5; EIBHV5)
		<i>Roseolovirus</i> 6 espécies	(HHV7; HuBHV7); (HHV6A; HuBHV6A); (HHV6B; HuBHV6B); (MneHV7; McBHV9); (MTV; MuBHV3); (PCMV; SuBHV2)
		-	(GPCMV; CdBHV2)
		-	(THV; TuBHV1)
	<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Lymphocryptovirus</i> 9 espécies	CIGHV3; CeGHV14; GoGHV1; (EBV; HuGHV4); (RLV; McGHV4); McGHV10; PnGHV1; PaGHV1; PoGHV2
		<i>Macavirus</i> 9 espécies	(MCFV; AIGHV1); AIGHV2; (BLV; BoGHV6); (CpHV2; CpGHV2); HiGHV1; OvGHV2; (PLVH1; SuGHV3); (PLHV2; SuGHV4); (PLHV3; SuGHV5)

		<i>Percavirus</i> 6 espécies	(EHV2; EqGHV2); (EHV5; EqGHV5); (FcaGHV1; FeGHV1); (BadHV; MusGHV1); (HaSHV; PhGHV3); VeGHV1
		<i>Rhadinovirus</i> 12 espécies	AtGHV2; (HVA; AtGHV3); (BHV4; BoGHV4); (RHVP; CrGHV2); (KSHV; HuGHV8); (RRV; McGHV5); (RFHV; McGHV8); (JMRV; McGHV11); (MneRV2; McGHV12); (MHV68; MuGHV4); (WMHV; MuGHV7); (HVS; SaGHV2)
		-	(ASHV2; EGHV7)
		-	(PhHV2; PhoGHV2)
		-	SgGHV1
		-	IgHV2
<i>Malacoherpesviridae</i>	-	<i>Aurivirus</i>	(AbHV1; HaHV1)
		<i>Ostreavirus</i>	(OHV; OsHV1)

*As siglas agrupadas entre parênteses dizem respeito a diferentes nômimas do mesmo vírus. Fonte ICTV, 2019

Existe uma variação genômica considerável quanto à composição, tamanho e organização dos genomas dos herpesvírus como: a porcentagem de guanina-citosina (razão G:C) varia de 31% a 77%, mais do que no DNA dos eucariotos; a faixa de variação do tamanho genômico (108 – 300 kbp); e a organização genômica que varia de maneira complexa tanto na ordem quanto na orientação o que reflete na complexa classificação taxonômica dos herpesvírus (MURPHY et al.,1999; OSTERRIEDER, 2016).

O genoma dos alfaherpesvirus de ruminantes consiste em uma molécula de DNA de fita dupla (SCHWYZER; ACKERMANN, 1996), sendo o do BoAHV5 de 138.390pb, mais longo em 2.518pb do que o BoAHV1, compartilhando entre si 95% de similaridade nas proteínas envolvidas nos processos de replicação e constituição viral (DELHON et al., 2003).

Com base em padrões de digestão com enzimas de restrição o BoAHV1 foi dividido em três diferentes subtipos: BoAHV1.1 (sendo a cepa mais patogênica e associado à quadros respiratórios e de IBR), BoAHV1.2 subdividido em BoAHV1.2a e

BoAHV1.2b (associado à doença genital), e BoAHV1.3 (associado à quadros de encefalite) (EDWARDS et al., 1990; EDWARDS et al., 1991; MILLER et al., 1988). Posteriormente, o subtipo viral BoAHV1.3 foi devidamente classificado, devido aos seus padrões estruturais, antigênicos, biológicos e moleculares como uma espécie viral separada, BoAHV5 (ROIZMAN, 1992). Outros subtipos virais associados ao BoAHV5 foram classificados em BoAHV5a, BoAHV5b e BoAHV5c (D'ARCE et al., 2002; D'OFFAY; MOCK; FULTON, 2003; TRAPP; BEER; METTENLEITER, 2003), contudo ainda não se sabe a respeito das diferenças de patogenicidade, virulência e prevalência dos mesmos (PAIM, 2017; SILVA. 2013).

Epidemiologia

Embora haja diferença nos níveis de incidência e prevalência, a infecção por BoAHV1 ocorre em todos os continentes (ACKERMANN; ENGELS, 2006; GRAHAM, 2013; OLIVEIRA et al., 2011; SAHA et al., 2010; SEGURA-CORREA et al., 2016). Já os surtos de infecção por BoAHV5 são mais esporádicos e geograficamente restritos ao Hemisfério Sul (DEL MEDICO ZAJAC et al., 2010) sobretudo em países como Argentina (PEDRAZA; ALESSI, 2010) e Brasil (RISSI et al., 2008), sendo as razões desconhecidas para essa ocorrência (FAVIER; MARIN; PEREZ, 2012).

Os primeiros registros da ocorrência dos alfaherpesvírus no Brasil datam de 1962 de um estudo epidemiológico na Bahia onde se constatou a ocorrência de anticorpos associados ao BoAHV1 (GALVÃO; DORIA; ALICE, 1962/1963), enquanto que o primeiro relato da descrição de meningoencefalite herpética data de 1983 (RIET-CORREA et al., 1983), onde foi isolado o vírus da IBR. Naquele ano ainda não existia a classificação para BoAHV5, o que só ocorreu em 1992 quando Roizman et al. (1992) entenderam haver fundamentos de natureza biológica e estrutural suficientes para uma classificação deste vírus não mais como um subtipo (1.3) do BoAHV1.

De 2010 a 2020 a prevalência de animais positivos para BoAHV no Brasil variou de 17,5% (OLIVEIRA et al., 2015) a 84,5% (AFONSO et al., 2010), em vários estados do país, atingindo valores próximos (FERNANDES et al., 2019; HAAS et al., 2020) ou

de até 100% (BEZERRA et al., 2012; SILVA et al., 2015; SILVA, 2018) quando se considera os rebanhos. Observa-se no Quadro 2 os estudos epidemiológicos realizados no Brasil sobre a ocorrência do alfaherpesvírus bovino no período de 2011 a 2020 e os métodos de diagnósticos utilizados.

Quadro 2: Estudos epidemiológicos da ocorrência da infecção por alfaherpesvírus em bovinos descritos no Brasil

AUTOR	LOCAL	MÉTODO DE DIAGNÓSTICO	PREVALÊNCIA EM ANIMAIS (%)	PREVALÊNCIA NAS PROPRIEDADES (%)
ALEXANDRINO et al. (2011)	SP, MG	VN	54,66	100
BEZERRA et al. (2012)	MA	ELISA	71,3	100
DIAS et al. (2013)	PA	VN	59,0	71,3
SOUSA et al. (2013)	MA	ELISA	67,5	100
PIOVESAN et al. (2013)	RS	VN	59,19	
SPONCHIADO, (2014)	PA	VN	22,3	65,3
SANTOS et al. (2014)	ES	VN	66,75	100
FREITAS et al. (2014)	MA	VN e ELISA	63,26	100
SILVA et al. (2015)	PE	VN	79,5	100
BECKER et al. (2015)	RS	VN	24,42	
PASQUALOTTO et al. (2015)	SC	VN	57,54	
OLIVEIRA et al. (2015)	PA	PCR	17,5	38,9
FREITAS (2016)	MA	VN	30,67	77,91
ZARDO (2017)	RS	VN	9,3	
SILVA (2018)	RO	VN	42,33	100

FERNANDES et al. (2019)	PB	VN	64,8	87,4
DUARTE; SANTANA (2018)	RS	VN	40,9	
BARBOSA et al. (2019)	MG	VN	62,5	
HAAS et al. (2020)	MG	VN	48,6	97,5

VN: Virusneutralização; ELISA: Ensaio de imunoabsorção enzimática; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase.

A ocorrência da meningoencefalite não supurativa é descrita em todas as regiões do Brasil (GALIZA et al., 2010; GOMES et al., 2002; QUEIROZ et al., 2018; RIBAS et al., 2013; RIET-CORREA et al., 2006). Alguns estudos descrevem que dentre as afecções neurológicas dos bovinos a meningoencefalite não-supurativa é uma das três principais causas de neuropatias infecciosas (ARRUDA et al., 2016; RIBAS et al., 2013; TERRA et al., 2018). Observa-se no quadro 3 os estudos relacionados à ocorrência de meningoencefalite causada por alfa herpesvírus em bovinos no Brasil. Devido à similaridade genética do BoAHV (DELHON et al., 2003), as pesquisas conduzidas para a identificação do BoAHV5 são realizadas, principalmente, por meio de exame de Reação em Cadeia da Polimerase. Enquanto, que BoAHV1 apresenta indicadores epidemiológicos mais brandos em relação ao BoAHV5, como menores taxas de morbidade, mortalidade e letalidade (RISSI et al., 2007; VAN OIRSCHOT, 1998), somado que sua ocorrência é mais disseminada quando comparado ao BoAHV5 (PEREZ et al., 2002; STUDDERT, 1989).

Quadro 3: Dados epidemiológicos de casos clínicos de meningoencefalite ocasionada por alfa herpesvírus bovino em bovinos descritos no Brasil

AUTOR	LOCAL	MÉTODO DE DIAGNÓSTICO	Nº DE CASOS
RIET-CORREA et al. (2006)	PA	HIS	4 casos
COSTA (2007)	MG	PCR	188 casos
SILVA et al. (2007)	RS, MG, RJ, SP, MS	PCR	24 casos
CUNHA et al. (2009)	SP	PCR	1 caso
FERRARI (2007)	MS, SP	PCR, HIS	20 casos

CLAUS et al., (2007)	PA, SP, MG, MT, GO, MS, RO	PCR	30 casos
RISSI et al. (2008)	Sul do Brasil	PCR	7 casos
LUNARDI et al. (2009)	PA	PCR	9 casos
AQUINO NETO et al. (2009)	MG	PCR	1 caso
ARRUDA et al. (2010)	MT	PCR	28 casos
GALIZA et al. (2010)	PB	HIS	3 casos*
KUNERT FILHO (2011)	RS	PCR	52 casos
SILVA (2011)	GO	PCR	31 casos
RIBAS et al. (2013)	MS	ACM	33 casos*
ASSIS-BRASIL et al. (2013)	RS	HIS	8 casos**
OLIVEIRA et al. (2014)	PE	PCR, HIS	2 casos
SILVA (2014)	GO	PCR	5 casos
MAGID et al. (2015)	SP	PCR	4 casos
ARRUDA et al. (2016)	MT	HIS	42 casos**
OLIVEIRA et al. (2016)	MG	HIS	6 casos*
RONDELLI et al. (2017)	MT	HIS	42 casos
CAGNINI et al. (2017)	SP	PCR	15 casos
TERRA et al. (2018)	GO	HIS	27 casos*
QUEIROZ et al. (2018)	PA	PCR	30 casos
SANTOS et al. (2018)	RS	IHQ, HIS	21 casos
BLUME et al. (2018)	GO	PCR, HIS	2 casos
PUPIN et al. (2019)	MS	HIS	147 casos*

*: Não diferencia entre os tipos de BoAHV; **: Diagnóstico baseado em achados clínicos, epidemiológicos e anatomo-patológicos; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase; IHQ: Imunohistoquímica; ACM: Anticorpos monoclonais; HIS: Histopatológico

Tanto BoAHV1 quanto BoAHV5 podem ser transmitidos por contato direto e indireto a partir da sua eliminação por secreções nasais, oculares e genitais, sendo as secreções respiratórias e oculares as principais vias de eliminação do agente em um rebanho (HENZEL et al., 2019), e as mucosas do trato respiratório superior e mucosa genital, as portas de entrada relacionadas ao início do processo infeccioso (RISSI et al., 2006; MUYLKENS et al., 2007). Foi demonstrado que o leite, assim como o sêmen, constitui uma importante via de eliminação tanto do BoAHV1 quanto do BoAHV5 (KIRKLAND et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011; FERREIRA et al., 2018).

Embora ambos os subtipos sejam capazes de infectar as células do trato respiratório e genital, é evidente que cada genótipo possui adaptações específicas para o desenvolvimento em tecidos específicos (FAVIER et al., 2012).

Os fatores de risco para a ocorrência de surtos naturais da infecção estão associados ao estresse dos animais que pode ser desencadeado por desmame, transporte, mudanças na dieta (RAAPERI et al., 2014; RISSI et al., 2006). Outros fatores de risco estão relacionados à ocorrência de desordens reprodutivas, reposição de animais (GONZÁLES-GARCIA et al., 2009; SILVA, 2017), compartilhamento de pastos (DIAS et al., 2013; SILVA, 2017) manejo reprodutivo por monta natural (DIAS et al., 2013) e criação consorciada com caprinos e ovinos (SILVA et al., 2015).

Patogenia

Tanto BoAHV1 quanto BoAHV5 são agentes etiológicos associados ao desenvolvimento de quadros clínicos reprodutivos, respiratórios e neurológicos em bovinos (HENZEL et al., 2008; SILVA et al., 2007).

Ao passar pelas portas de entrada tais como as mucosas nasal, orofaríngea, ocular, genital ou lesões de pele o vírus realiza uma replicação primária nos tecidos locais que desencadeará os primeiros sinais clínicos como congestão local, presença de secreções e lesões vesiculares ou erosivas sendo mais brandos os sinais quando associado ao BoAHV5 (FRANCO; ROEHE, 2007). O desfecho da infecção irá depender de fatores inerentes ao próprio patógeno como o tipo ou subtipo viral, a dose infectante, ou ao hospedeiro, como seu estado imunológico e idade, e ao ambiente, sendo consideradas três diferentes formas de propagação: restrição local, disseminação sistêmica por viremia e disseminação neuronal (ENGELS; ACKERMANN, 1996; TIKOO; CAMPOS; BABIUK, 1995).

Embora ambos os vírus sejam neurotrópicos, os mesmos divergem quanto a sua habilidade de causar encefalite (ASHBAUGH et al., 1997). BoAHV1 pode ser neuroinvasivo, mas raramente está associado à quadros clínicos de encefalite, diferentemente do BoAHV5 que possui um alto neurotropismo, frequentemente ocasiona uma doença fatal (PEREZ et al., 2002). Os casos esporádicos de

acometimento neurológico por BoAHV1 refletem a susceptibilidade individual dos hospedeiros à infecção do sistema nervoso central, o que independe da cepa de BoAHV1, que dá origem a um aumento da neuroinvasão e/ou neurovirulência, o que não ocorre com o BoAHV5, que tem sua virulência influenciada tanto por fatores inerentes ao hospedeiro quanto ao próprio vírus (DEL MEDICO JAZAC et al., 2010).

Ao penetrarem nos axônios das células nervosas locais, os alfa herpesvírus podem ser transportados até os corpos dos neurônios dos gânglios regionais onde podem estabelecer latência (ENGELS; ACKERMANN, 1996; NANDI et al., 2009).

Neurônios sensitivos são os sítios primários de latência do alfa herpesvírus e sua habilidade de estabelecer latência, reativar e ser disseminado para outros animais é responsável por sua reincidência e manutenção no rebanho por longos períodos (JONES, 2003; RAAPERI et al., 2014).

Sinais clínicos

O período de incubação, sob condições naturais, varia de 10 a 20 dias para BoAHV1 (NANDI et al., 2009) e de sete a nove dias para BoAHV5 (BELKNAP et al., 1994), podendo ainda os sinais clínicos serem agrupados de acordo com a forma de apresentação como forma respiratória (BoAHV1.1), forma genital (BoAHV1.2) e forma neurológica (BoAHV5/BoAHV1) (BISWAS et al., 2013; NANDI et al., 2009).

Os sinais clínicos em animais acometidos pelo BoAHV1, na forma respiratória, incluem apatia, perda de apetite, febre ($>41^{\circ}\text{C}$), dispneia, rinite associada a lesões de mucosa, secreção ocular serosa e tosse (KAASHOEK et al., 1996; ROLA et al., 2005). A co-infecção com bactérias pode causar um severo quadro de broncopneumonia, pleurite, dor torácica e audíveis estertores (BISWAS et al., 2013). Geralmente a enfermidade é autolimitante e resolve-se em poucos dias, contudo nos casos em que há infecção secundária os animais podem vir a óbito, sendo mais grave a sua forma de apresentação nos animais mais jovens (FLORES, 2011).

Os isolados de BoAHV1 (BoAHV1.1) estão mais estreitamente associados à quadros respiratórios e de aborto (CROOK et al., 2011; GRAHAM, 2013). Embora não

seja clara a participação do BoAHV5 como agente causador de aborto, o DNA deste agente já foi identificado em amostras de sistema nervoso central de fetos abortados (MARIN et al., 2013). Os fetos são usualmente abortados a partir dos quatro meses de gestação, ou podem ficar retidos no útero por dois a quatro dias após a morte, sendo possível, em alguns casos, a observação de sinais típicos da IBR antes ou após o aborto (KIRKBRIDE, 1985).

A forma genital da infecção em fêmeas por BoAHV1, vulvovaginite pustular infecciosa (IPV), é caracterizada por congestão e edema da mucosa vulvovestibular e da vagina que pode cursar com o surgimento de pequenas vesículas na mucosa genital que aumentam progressivamente evoluindo para pústulas, que eventualmente se coalescem e se recobrem com uma secreção amarelada acompanhada de corrimento genital, que inicialmente se caracteriza por ser discreto e seromucoso e pode evoluir para mucopurulento (HENZEL et al., 2008). Kirkland et al. (2009) descreveram um surto de IPV com sinais clínicos e lesões idênticas às atribuídas a infecção por BoAHV1, sendo contudo atribuído ao BoAHV5 confirmado por PCR e análise de restrição enzimática.

Em machos há o desenvolvimento de pústulas e erupções avermelhadas na mucosa peniana juntamente com descargas branco-amareladas e uma discreta elevação na temperatura corporal que caracterizam a balanopostite pustular infecciosa (IBP) (PANDEY et al., 2014). De maneira geral, são observadas lesões compostas por placas brancas e ulceração, progredindo para a descamação de tecido necrótico de cor marrom com úlceras coalescidas (PRITCHARD et al., 1997).

Silva et al. (2007) descrevem a ocorrência de cinco isolados BoAHV1 e 21 de BoAHV5 causando doenças neurológicas em bovinos evidenciando que qualquer um desses agentes é capaz de causar doença neurológica em ruminantes. Os sinais clínicos observados em animais com neuropatia por *Alphaherpesvírus* apresentam uma evolução de três a dez dias e se caracterizam por depressão, ranger de dentes, andar em círculos, cegueira, febre, nistagmo, tremores, anorexia, disfagia, sialorreia, incoordenação, pressão da cabeça contra objetos, opistótono, convulsões e movimentos de pedalagem (RISSI et al., 2006, RISSI et al., 2008).

Achados de necropsia

Em casos típicos de IBR observa-se rinite serosa com hiperemia de mucosa com alterações que se estendem, em caso de infecção secundária para a traqueia e seios paranasais (NANDI et al., 2009). Alguns animais podem ainda apresentar degeneração das adrenais, rins e fígado (KAASHOEK et al., 1996). Fetos abortados podem apresentar autólise com acúmulo de líquido avermelhado na cavidade abdominal bem como hemorragia e necrose pode ocorrer no cérebro (MAHAJAN et al., 2013). As lesões associadas à forma genital consistem na presença de congestão e edema da mucosa, presença de vesículas ou pústulas cobertas por secreção amarelada (FINO et al., 2012; HENZEL et al., 2008).

Os bovinos com quadro neurológico podem apresentar alterações macroscópicas que vão desde ausentes a moderadas como hiperemia dos vasos das leptomeninges, tumefação das porções rostrais do telencéfalo com achatamento das circunvoluções cerebrais e presença de malácia (RISSI et al., 2006). O cérebro pode se apresentar com consistência amolecida do tecido parenquimatoso dos lobos frontais com lesões assimétricas (PEREZ et al., 2002).

Os achados principais histopatológicos em animais com sinais clínicos neurológicos, associados ao BoAHV1/BoAHV5, caracterizam-se por meningoencefalite não supurativa, necrose neuronal aguda, gliose, satelirose, edema e neuronioffagia. Há ainda a presença de corpúsculos de inclusão intranuclear eosinofílico em astrócitos e neurônios, malácia na região de córtex e infiltração de células de gitter (PEREZ et al., 2002; RISSI et al., 2008).

Outras lesões histológicas atribuídas às infecções por BoAHV1 podem consistir em infiltração linfohistiocítica raramente acompanhada de focos necróticos nas glândulas suprarrenais (GRAHAM, 2013). A mucosa pode se apresentar edematosa contendo neutrófilos e a submucosa apresenta infiltrado de linfócitos, macrófagos e células plasmáticas com eventual presença de infiltrado intranuclear de Cowdry tipo A (GIBBS; RWEYEMAMU, 1977; MURPHY et al., 1999). Essas inclusões podem ser identificadas em tecidos de fetos abortados e bezerros que morreram da

generalização da infecção pelo BoAHV1; como as inclusões são transitórias, o uso deste achado na rotina histopatológica tem limitado valor de diagnóstico (GIBBS; RWEYEMAMU, 1977). O epitélio pode se romper e ulcerar devido à severidade da infiltração neutrofílica (NANDI et al., 2009).

Diagnóstico

O histórico do rebanho relacionado com as taxas de produtividade, programas de vacinação e manejo alimentar e reprodutivo pode ter fundamental importância na elaboração do diagnóstico; presuntivamente pode ser aventada a infecção por alfa herpesvírus bovino por meio dos achados epidemiológicos, clínicos, de necropsia e histopatológicos sem, contudo, estabelecer o verdadeiro agente causal (RISSI et al., 2006; TAKIUCHI; ALFIERI; ALFIERI, 2001). Testes laboratoriais são necessários para confirmar o diagnóstico como cultura em células, histopatologia, sorologia, PCR e microscopia eletrônica (BISWAS et al., 2013). Contudo o agente será confirmado mediante o uso de provas de diagnóstico direto como PCR, isolamento viral e imunohistoquímica (CLAUS et al., 2007; COSTA et al., 2017).

Tanto BoAHV1 quanto BoAHV5 partilham características estruturais, biológicas, antigênicas e moleculares o que torna a sua distinção por testes de diagnóstico difícil (DELHON et al., 2003).

Destacam-se, dentro do contexto das infecções por alfa herpesvírus bovino, as provas moleculares de diagnóstico, como a PCR, conforme mostrado por Silva et al. (2007) e Kirkland et al. (2009) para a identificação do agente, uma vez que tanto BoAHV1 quanto BoAHV5 não se restringem às suas formas clássicas de apresentação.

Diversas pesquisas (BLUME et al., 2018; CAGNINI et al., 2017; QUEIROZ et al., 2018; RISSI et al., 2008; SILVA et al., 2007) indicam a importância do uso da PCR em estudos retrospectivos para o diagnóstico das infecções por alfa herpesvírus como diferencial para outras afecções de sistema nervoso central de bovinos. Diferentes *primers* de PCR podem ser empregados para diagnóstico e diferenciação da infecção por BoAHV1 e BoAHV5 (ASHBAUGH et al., 1997; CLAUS et al., 2005).

Mahajan et al. (2013) demonstraram a utilização de várias técnicas de diagnóstico da infecção por BoAHV1 em diferentes amostras biológicas, tais como: tecidos de fetos abortados como conteúdo estomacal; *pool* de amostras de pulmão, coração, fígado, rins, baço e cérebro, além de fragmentos de cotilédones placentários, descarga uterina e muco vaginal. Uma vez que Silva et al. (2007) relatam o isolamento de BoAHV5 em baço, causando doença sistêmica, e sêmen, em monitoramento de rotina, muitos tecidos biológicos mostram-se elegíveis para identificar o agente etiológico. Contudo, a confirmação do diagnóstico a partir de células descamativas provenientes de secreção nasal ou sêmen e fragmentos de sistema nervoso pode contribuir para um diagnóstico mais confiável de infecções tanto por BoAHV1 quanto por BoAHV5 (DEL MEDICO ZAJAC et al., 2010; KUNRATH et al., 2004).

Profilaxia

Para erradicação das infecções no rebanho é necessário à implementação de medidas que restrinjam a circulação do vírus se fazendo necessário considerar os fatores de risco associados à introdução ou reativação dos alfa herpesvírus (ENGELS; ACKERMANN, 1996; RAAPERI et al., 2014). A adoção de vacinas é essencial como medida profilática à infecção pelo BoAHV1 (SILVA, 2017). Os estudos de Del Medico Jazac et al. (2006) demonstram que a vacinação contra BoAHV1 protege contra a replicação viral e contra a doença neurológica associada ao BoAHV5.

Para a prevenção da infecção pelo BoAHV1 são disponíveis vários tipos de vacina como: vacinas de vírus vivo modificado (MLV), vacinas inativadas, vacinas de subunidades, vacinas marcadas e vacinas combinadas ou polivalentes (NANDI et al., 2009), sendo essas últimas mais comercializadas no mercado nacional. De acordo com a Instrução Normativa (IN) n.08/2006 de 15 de março de 2006 (BRASIL, 2006) e a IN n.40/2007 de 05 de setembro de 2007 (BRASIL, 2007), são exigidos certificados sanitários para importação e exportação do sêmen dos bovinos e bubalinos que atestem a sanidade dos animais quanto ao BoAHV1, dentre outros agentes, mas não há nenhuma medida que estimule a vacinação contra BoAHV1 em animais de produção nos rebanhos nacionais.

Além do emprego de vacinas, medidas como a identificação por meio de exames sorológicos, segregação e remoção gradativa dos animais infectados devem ser empregadas para evitar que a infecção se dissemine para os demais animais saudáveis do rebanho (BEZERRA et al., 2012; RISSI et al., 2007).

De acordo com a OIE (2019), para a manutenção do rebanho livre da infecção por BoAHV1 deverão ser atendidos os seguintes requisitos: todos os animais deverão ser submetidos à prova sorológica pareada em um intervalo entre dois e 12 meses; ou para rebanhos leiteiros, as vacas em lactação deverão ser submetidas a três testes para detecção de anticorpos a partir de amostras de leite em intervalos de dois meses com resultados negativos; a introdução de animais no rebanho deverá ser realizada a partir de propriedades livres de IBR ou deverão, esses animais, ser colocados em quarentena por um período de 30 dias com testes sorológicos pareados negativos em um intervalo de 21 dias; todo o sêmen introduzido no rebanho deverá ser acompanhado de atestado sanitário para o referido agente.

REFERÊNCIAS

- ACKERMANN, M.; ENGELS, M. Pro and contra IBR-eradication. **Veterinary Microbiology**. v. 113, p. 293-302, 2006.
- AFONSO, I. B. et al. Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) nas dez regiões de planejamento do estado de Goiás, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**. v. 11, n. 4, p. 892-898, 2010.
- ALEXANDRINO, B. et al. Herpesvirus bovino associado à diarreia viral bovina e à leucose bovina. **Ars Veterinária**. v. 27, n. 3, p. 168-174, 2011.
- ANDERSON, M. L. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. **Theriogenology**. v. 68, p. 474-486, 2007.
- AQUINO NETO, H. M. et al. Meningoencefalite por Herpesvirus bovino 5 em Minas Gerais: relato de caso clínico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 61, n. 1, p. 1-5, 2009.
- ARRUDA, F. P. et al. Caracterização morfológica de doenças do sistema nervoso central em bovinos no estado de Mato Grosso, Brasil, 2005-2014. In: Resumos ENDESA. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**. v. 14, n. 2, p. 86-87, 29 ago. 2016.
- ARRUDA, L. P. et al. Detecção molecular de herpesvírus bovino 1 e 5 em amostras de encéfalo conservadas em formol e emblocadas em parafina provenientes de bovinos com doença neurológica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 30, n. 8, p. 646-650, 2010.
- ASHBAUGH, S.E. et al. Specific detection of shedding and latency of bovine herpesvirus 1 and 5 using a nested polymerase chain reaction. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 9, p. 387-394, 1997.
- ASSIS-BRASIL, N. D. et al. Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 33, n. 4, p. 423-430, 2013.
- 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**. v. 71, n. 4, p. 1243-1250, 2019.
- 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**. v. 62, n. 5, p. 1023-1028, 2010.
- BECKER, A. S. et al. Anticorpos neutralizantes contra o Herpesvírus bovino tipo 1 e o vírus da Diarreia Viral Bovina em bovinos vacinados e não vacinados da região sul do Estado do Rio Grande do Sul. **Science and Animal Health**. v. 3, n. 2, p. 209-220, jul./dez. 2015.
- BELKNAP, E. B. et al. Experimental infection of neonatal calves with neurovirulent bovine herpesvirus type 1.3. **Veterinary Pathology**. v. 31, p.358-365, 1994.

- 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**. v. 79, n. 1, p. 107-111, 2012.
- BISWAS, S. et al. Bovine herpes virus-1 (BHV-1) - a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis and prophylaxis. **Veterinary Quarterly**. v. 33, n.2, p. 68-81, 2013.
- BLUME, G. R. et al. Caracterização etiológica, epidemiológica e clínico-patológica da meningoencefalite por herpesvírus bovino em bovinos no Estado de Goiás. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38, n. 5, p. 902–912, 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 08/2006**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 15 mar. 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 40/2007**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 5 set. 2007.
- CAGNINI, D. Q. et al. Retrospective study of Bovine herpesvirus 5 meningoencephalitis in cattle from São Paulo State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 69, n. 2, p. 299-304, 2017.
- CAMPOS, F. S. et al. High prevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. **Veterinary Microbiology**. v. 139, p. 67-73, 2009.
- CLAUS, M. P. et al. Bovine herpesvirus 5 detection by virus isolation in cell culture and multiplex-pcr in central nervous system from cattle with neurological disease in Brazilian herds. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 38, p. 485-490, 2007.
- CLAUS, M. P. et al. Herpesvírus Bovino Tipo 5 e Meningoencefalite Herpética Bovina. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 23, n. 1, p. 131-141, 2002.
- CLAUS, M. P. et al. Rapid detection and differentiation of bovine herpesvirus 1 and 5 glycoprotein C gene in clinical specimens by multiplex-PCR. **Journal of Virological Methods**. v. 128, p. 183-188, 2005.
- COLODEL, M. E. et al. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por herpesvírus bovino no estado de Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**. v. 32, n.2, p. 293-298, 2002.
- COSTA, E. A. **Diagnóstico das encefalites herpéticas em bovinos**. 2007. 58 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva e Epidemiologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária. Belo Horizonte, MG.
- 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**. v. 41, n. 1, p. 254-263, 2017.
- CROOK, T. et al. Bovine herpesvirus 1 abortion current prevalence in the United Kingdom and evidence of haematogenous spread within the fetus in natural cases. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 24, n. 4, p. 662-670, jul, 2012.

- CUNHA, P. H. J. et al. Identificação molecular do herpesvirus bovino tipo 5 em um bovino confinado associado com diagnóstico diferencial laboratorial de outras causas de polioencefalomalacia. In: Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria. **Ciência Animal Brasileira**. Supl. 1, 2009.
- D'ARCE, R. C. F. et al. Restriction endonuclease and monoclonal antibody analysis of Brazilian isolates of bovine herpesviruses types 1 and 5. **Veterinary Microbiology**, v. 88, n. 4, p. 315-324, 2002.
- DEL MÉDICO ZAJAC, M. P. et al. BHV-1 vaccine induces cross-protection against BHV-5 disease in cattle. **Research in Veterinary Science**. v. 81, p.327-334, 2006.
- DEL MEDICO ZAJAC, M. P. et al. Biology of bovine herpesvirus 5. **The Veterinary Journal**. v. 184, p. 138-145, 2010.
- DELHON, G. et al. Genome of bovine herpesvirus 5. **Journal of virology**. v. 77, n. 19, p. 10339-10347, 2003.
- 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, p. 39-47, 2013.
- D'OFFAY, J. M.; MOCK, R. E.; FULTON, R. W. Isolation and characterization of encephalitic bovine herpesvirus type 1 isolates from cattle in North America. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 4, p. 534-539, 1993.
- 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. **Ensaios**. v. 22, n.3, p. 166-170, 2018.
- EDWARDS S. et al. A study of the predominant genotypes of bovid herpesvirus-1 found in the U.K. **Veterinary Microbiology**. v. 22, n. 3-4, p. 213–223, 1990.
- EDWARDS, S. et al. The virulence of British isolates of bovid herpesvirus-1 in relationship to viral growth. **British Veterinary Journal**. v. 147, n. 3, p.216–231, 1991.
- ELIAS, F. et al. Meningoencefalite e encefalomalacia por Herpesvírus bovino-5: distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 24, n. 3, p. 123-131, 2004.
- ENGELS, M; ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminat herpesvirus infections. **Veterinary Microbiology**. v. 53, p. 3-15, 1996.
- FAVIER, P. A.; MARIN, M. S.; PÉREZ, S. E. Role of bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) in diseases of cattle. Recent findings on BoHV-5 association with genital disease. **Open Veterinary Journal**. v. 12, p. 46-53, 2012.
- 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.
- FERRARI, H. F. **Detecção herpesvírus bovino tipo 5 em cortes histológicos e fragmentos de encéfalo congelado pela reação em cadeia de polimerase**. 2007. 94 f Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual Paulista Júlio

de Mesquita Filho, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Campus de Araçatuba, Araçatuba, SP, 2007.

FERREIRA, H. C. C. 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, 1787-1790, 2018.

FINO, T. C. M. et al. Infecções por herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1) e suas implicações na reprodução bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 36, n. 2, p.122-127, 2012.

FLORES, E. F. Herpesvírus bovinos tipos 1 e 5. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 3., 2011, Viçosa. **Anais**. Viçosa: UFV, 2011. p. 395-414. Disponível em: <http://www.simleite.com/arquivosAnais/arquivo27>. Acesso em: 20 jan. 2020.

FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Herpesviridae. In: FLORES, E.F. (ed). **Virologia Veterinária**. Editora UFSM: Santa Maria, 2007. cap. 17, p.433-488.

FREITAS, E J P. **Características epidemiológicas da infecção de bovinos jovens de corte, em rebanhos com alto trânsito animal, para BoHV -1, BVDV, BTV e Leptospira spp. no Estado do Maranhão**. 2016. 72 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Brasil, 2016.

FREITAS, E. J. P. et al. Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 35, n. 3, p. 1301-1310, 2014.

GALIZA, G. J. N. et al. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 30, n 3, p. 267-276, 2010.

GALVÃO, C. L.; DORIA, J. D.; ALICE, F. J. Anticorpos neutralizantes para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos, em bovinos do Brasil. **Boletim do Instituto Biológico da Bahia**. v. 6, n.1, p. 15-25, 1962/1963.

GIBBS, E. P. J.; RWEYEMAMU, M. M. Bovine herpesviruses. Part I. Bovine herpesvirus 1. **Veterinary Bulletin**. v,47, p. 317–18, 1977.

GOMES, L. I. et al. Detecção de herpesvírus bovino 5 (BoHV-5) em bovinos do Sudeste Brasileiro. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 54, n. 2, p. 217-220, 2002.

GONZALEZ-GARCIA, M. A. et al. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus type 1 (BHV1) infection in non-vaccinated cattle herds in Andalusia (South of Spain). **Spanish Journal of Agricultural Research**. v. 7, n. 3, p. 550-554, 2009.

GRAHAM, D. A. Bovine herpes virus 1 (BoHV-1) in cattle – a review with emphasis on reproductive impacts and the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. **Irish Veterinary Journal**. v. 66, n. 15, p. 1-11, 2013.

HAAS, D. J. et al. Seroprevalence and intercurrentence of reproductive pathogens in cattle from family farms in North of Minas Gerais, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 4, n. 1, p. 145-158, 2020.

HENZEL, A. et al. Bovine alphaherpesvirus 1 and 5 in semen from bulls presenting genital lesions under field conditions in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 71, n. 1, p. 197-203, 2019.

HENZEL, A. et al. Aspectos virológicos e clínico-patológicos da infecção genital aguda e latente pelo herpesvirus bovino tipo 1.2 em bezerras infectadas experimentalmente. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 28, n. 3, p. 140-148, 2008.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: Produção da Pecuária Municipal 2015. Vol. 43. Rio de Janeiro: IBGE; c2015. [capturado em: 05 out. 2016]. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/cartograma/mapa.php?lang=&coduf=26&codmun=260050&idtema=159&codv=v13&search=pernambuco|C3%81guas-belas|sintese-das-informacoes-2015>.

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses: Taxonomy. 2019. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/>. Acesso em: 13 jan. 2020.

JONES, C. Herpes simplex virus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 16, n. 1, p. 79-95, 2003.

KAASHOEK, M. J. et al. Virulence, immunogenicity and reactivation of seven bovine herpesvirus 1.1 strains: clinical and virological aspects. **Veterinary Record**. v. 139, p. 416-421, 1996.

KIRKBRIDE, C. A. Managing an outbreak of livestock abortion – 2: diagnosis and control of bovine abortion. **Veterinary Medicine**. v. 80, p. 70-79, 1985.

KIRKBRIDE, C. A. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 4, p. 374-379, 1992.

KIRKLAND, P. D. et al. Infertility and venereal disease in cattle inseminated with semen containing bovine herpesvirus type 5. **Veterinary Record**. v. 165, p. 111-113, 2009.

KUNERT FILHO, H. C. **Detecção de DNA de Herpesvírus bovino em encéfalos de bovinos submetidos ao diagnóstico de raiva**. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, RS, 2011.

KUNRATH, C. F. et al. Soroneutralização e imunofluorescência utilizando anticorpos monoclonais no diagnóstico rápido de infecções pelo herpesvírus bovino tipos 1 e 5 (BHV-1 e BHV-5). **Ciencia Rural**. v. 34, n. 6, p. 1877-1883, 2004.

LUNARDI, M. et al. Neurological and Epidemiological Aspects of a BoHV-5 Meningoencephalitis Outbreak. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 52, n. November, p. 77–85, 2009.

MAGID, J. et al. Outbreak Control and Clinical, Pathological, and Epidemiological Aspects and Molecular Characterization of a Bovine Herpesvirus Type 5 on a Feedlot Farm in São Paulo State. **BioMed Research International**. 981230, 5p, 2015.

- MAGYAR, G. et al. Restriction endonuclease analysis of Hungarian bovine herpesvirus isolates from different clinical forms of IBR, IPV and encephalitis. **Acta Veterinaria Hungarica**. v. 41, p. 159-170, 1993.
- MAHAJAN, V. et al. Comparison of diagnostic tests for diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion. **Journal of Comparative Pathology**. v. 149, p. 391-401, 2013.
- MARIN, M. S. et al. Concomitant infection of Neospora caninum and Bovine Herpesvirus type 5 in spontaneous bovine abortions. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 33, n. 11, p. 1291-1295, 2013.
- MASSITEL, J. L. et al. Presença do genoma de BoHV-5 no líquido cefalorraquidiano de bovinos com meningoencefalite herpética. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.68, n. 2, p. 548-552, 2016.
- McGEOCH, D. J. et al. Molecular Phylogeny and Evolutionary Timescale for the Family of Mammalian Herpesviruses. **Journal of Molecular Biology**, v. 247, p. 443-458, 1995.
- MELO, C. B. et al. Prevalência de anticorpos contra herpesvírus bovino 1, vírus da diarreia viral bovina e vírus da leucoseenzootica bovina em bovinos do estado de Sergipe, Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 21, p. 160-161, 1997.
- MILLER, J. M. et al. Effects of a bovine herpesvirus-1 isolate on reproductive function in heifers: classification as a type-2 (infectious pustular vulvovaginitis) virus by restriction endonuclease analysis of viral DNA. **American Journal of Veterinary Research**. v. 49, n. 10, p. 1653–1656, 1988.
- MURPHY, F. A. et al. **Veterinary Virology**. 3. ed. New York: Academic Press. 1999. 629p.
- MUYLKENS, B. et al. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**. v. 38, p. 181-209, 2007.
- NANDI, S. et al. Bovine herpes virus infection in cattle. **Animal Health Research Reviews**. v. 10, n. 1, p. 85-89, 2009.
- NEWCOMER, B. W.; WALZ, P. H.; GIVENS, M. D. Potential applications for antiviral therapy and prophylaxis in bovine medicine. **Animal Health Research Reviews**, v. 15, n. 1, p. 102-117, 2014. doi: 10.1017/S1466252314000048.
- OIE. World Organization for Animal Health. **OIE-Listed diseases**. Paris: OIE, 2020. Disponível em: <<https://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2020/>>. Acesso em: 25 jan. 2020.
- OIE. World Organization for Animal Health. **OIE Terrestrial Animal Health Code**. Paris: OIE, 2019. Disponível em: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/?id=169&L=1&htmlfile=chapitre_ibr_ipv.htm>. Acesso em 07/07/2021.
- OLIVEIRA, J. S. et al. Meningoencefalite necrosante em bovinos associada ao herpesvírus bovino-5 em Pernambuco - Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 42, 2014.

- OLIVEIRA, M. T. et al. Detection of bovine herpesvirus 1 and 5 in semen from Brazilian bulls. **Theriogenology**. v. 75, p. 1139-1145, 2011.
- 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 de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 67, n.5, p. 1217-1225, 2015.
- OLIVEIRA, T. S. et al. Neurological diseases of cattle diagnosed by histopathology in Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**. v. 9, n. 2, p. 62-69, 2016.
- OSTERRIEDER, K. Herpesvirales. In: MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. (ed). **Fenner's Veterinary Virology**. Academic Press: San Diego, 2016. cap. 9, p.189-216.
- ORTEGA-MORA, L. M. et al. In: ORTEGA-MORA, L. M. et al. **Protozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for diagnosis and control**. Athenaeum Press, UK, 2007. XII-XVI.
- PAIM, W. P. **Sequência completa do genoma de herpesvírus bovino 5 subtipo C**. 2017. 63 f. Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2017.
- PANDEY, A. B. et al. Investigation of an outbreak in infectious pustular balanoposthitis in cattle breeding bulls at a frozen semen bank. **Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties**. v. 33, n. 15, p. 927-936, 2014.
- PASQUALOTTO, W. et al. Incidência de rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD) e leptospirose em bovinos leiteiros da região Oeste de Santa Catarina – Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**. v. 8, n. 2, p. 249-270, 2015.
- PEDRAZA, F. J.; ALESSI, A. C. Detection of bovine herpesvirus 5 (BoHV-5) in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine brain by nested PCR in Colombian cattle. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 23, n. 3, p. 292-298, 2010.
- PELLETT, P. E.; ROIZMAN, B. Herpesviridae. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. (ed). **Fields Virology**. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2013. v. 2, cap. 59, p.1802-1822.
- PELLETT, P. E. et al. ICTV 9th Report (2011): Herpesvirales. In: ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses; KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. **Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses**: Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 4 jan. 2021. Disponível em: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses-2011/w/dsdna_viruses/89/herpesvirales. Acesso em: 4 jan. 2021.
- PEREZ, S. E. et al. Primary Infection, Latency, and Reactivation of Bovine Herpesvirus Type 5 in the Bovine Nervous System. **Veterinary Pathology**. v. 39, p. 437-444, 2002.
- PIOVESAN, M. et al. Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina e vírus da leucose enzoótica bovina na região da campanha do estado do Rio Grande do Sul. **Science and Animal Health**. v. 1, n. 1, p. 38-49, jul./dez. 2013.

- PRITCHARD, G. et al. Infectious pustular vulvovaginitis/infectious pustular balanoposthitis in cattle. **The Veterinary Record**. v. 140, p. 597, 1997.
- PUPIN, R. C. et al. Cattle diseases in Mato Grosso do Sul, Brazil: a 24-year survey (1995-2018). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 39, n. 9, p. 686-695, 2019.
- QUEIROZ, G. R. et al. Diagnóstico diferencial das doenças neurológicas dos bovinos no estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38, n. 7, p. 1264-1277, 2018.
- RAAPERI, K. et al. Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. **The Veterinary Journal**. v. 201, p. 249-256, 2014.
- RIBAS, N. L. S. et al. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 33, n. 10, p.1183-1194, 2013.
- RIBEIRO, M. B. et al. **Infecções pelo vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvovaginite pustular infecciosa, diarreia viral bovina e parainfluenza3, detectados por meio da avaliação sorológica no Estado da Bahia**. Salvador:EMBRAPA, 1987. (Boletim Técnico 11).
- RIET-CORREA, F. et al. **Atividades do Laboratório Regional de diagnóstico e doenças da área de influência no período 1978-1982**. Editora Universitária, Pelotas. 98p. 1983.
- RIET-CORREA, F. et al. Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos causadas por Herpes Vírus Bovino-1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 9, p. 13-16, 1989.
- RIET-CORREA, G. et al. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Herpesvírus bovino-5 no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 26, n. 1, p. 44-46, 2006.
- RISSI, D. R. et al. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino -5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 26, n. 2, p. 123-132, 2006.
- RISSI, D. R. et al. Meningoencefalite por herpesvírus bovino tipo 5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 27, n. 7, p. 251-260, 2007.
- RISSI, D. R. et al. Neurological disease in cattle in southern Brazil associated with Bovine herpesvirus infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 20, p. 346-349, 2008.
- ROIZMAN, B. et al. The family Herpesviridae: an update. **Archives of Virology**. v. 123, n. 3-4, 425-449, 1992.
- ROLA, J. et al. Detection of bovine herpesvirus 1 from an outbreak of infectious bovine rhinotracheitis. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**. v. 49, p. 267-271, 2005.
- ROMERO-SALAS, D. et al. Seroprevalence and risk factors associated with infectious bovine rhinotracheitis in unvaccinated cattle in southern Veracruz, Mexico. **African Journal of Microbiology Research**. v. 7, n. 17, p. 1716-1722, 2013.

- RONDELLI, L. A. S. et al. Doenças de bovinos em Mato Grosso diagnosticadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT (2005-2014). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 37, n. 5, p. 432–440, 2017.
- SAHA, T. et al. Isolation and characterization of BoHV-1 from cattle in west Bengal, India. **Iranian Journal of Veterinary Science and Technology**. v. 2, n. 1, p. 1-8, 2010.
- SALVADOR, S. C. et al. Meningoencefalite causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 18, p. 76-83, 1998.
- SANT'ANA, F. J. F. D. S. et al. Polioencefalomalacia em bovinos: epidemiologia , sinais clínicos e distribuição das lesões no encéfalo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 29, n. 7, p. 487–497, 2009.
- SANTOS, B. L. et al. Doenças do sistema nervoso central de bezerros no sul do Rio Grande do Sul : uma contribuição ao diagnóstico diferencial. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38, n. 4, p. 685–691, 2018.
- SANTOS, M. R. et al. Antibodies against bovine herpesvirus1 in dairy herds in the state of Espírito Santo, Brasil. **Revista Ceres**. v. 61, n. 2, p. 280-283, 2014.
- SCHWYZER, M; ACKERMANN, M. Molecular virology of ruminant herpesviruses. **Veterinary Microbiology**. v. 53, p. 17-29, 1996.
- SEGURA-CORREA, J. C. et al. Seroprevalence and risk factors associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhea virus in North-Eastern Mexico. **Open Veterinary Journal**. v. 6, n. 2, p. 143-149, 2016.
- SILVA, A. M. **Detecção, isolamento e caracterização molecular de herpesvirus bovino tipos 1 e 5 de bovinos do estado de Goiás, Brasil**. 2013. 103p. Tese (Pós-Graduação em Ciência Animal). Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.
- SILVA, B. P. **Soroprevalência e fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 em bovinos leiteiros na Microregião do Vale do Ipanema**. 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade e Reprodução de Ruminantes). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, PE, 2017.
- SILVA, D. R. **Detecção molecular de herpesvírus bovino tipo-1 e herpesvírus bovino tipo-5 em amostras de encéfalos bovinos incluídos em parafina**. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia, GO, 2014.
- SILVA, E. A. F. **Soroepidemiologia do BoHV-1 e BVDV em bovinos leiteiros na Zona da Mara Rondoniense**. 2018. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Rondônia, Rolim de Moura, 2018.
- SILVA, F. F. et al. Anticorpos neutralizantes contra HVB 1 em bovinos do Estado de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 47, n.4, p. 597-599, 1995.

- SILVA, F. S. et al. Análise epidemiológica da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos no Estado de Pernambuco. **Acta Scientiae Veterinarie**. v. 43, pub. 1324, 2015.
- SILVA, M. S. et al. Identificação e diferenciação de herpesvírus bovino tipo 1 e 5 isolados de amostras clínicas no centro do Brasil, Argentina e Uruguais (1987-2006). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 27, n. 10, p. 403-408, 2007.
- SILVA, S. A. **Identificação de herpesvirus bovino em amostras de cérebro**. 2011. 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás. Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia, GO, 2011.
- SOUSA, V. E. et al. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v. 5, n. 1, p. 21-25, 2013.
- SPONCHIADO, D. **Prevalência dos principais vírus respiratórios em bovinos da raça Holandesa, no Estado do Paraná**. 2014. 151p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP.
- STUDDERT, M. J. Bovine encephalitis herpesvirus. **Veterinary Record**, v. 125, n. 22, p. 584, 1989.
- TAKIUCHI, E.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Herpesvirus bovino tipo 1: Tópicos sobre a infecção e métodos de diagnóstico. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 22, n. 2, p. 203-209, 2001.
- TERRA, J. P. et al. Neurological diseases of cattle in the state of Goiás, Brazil (2010-2017). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38, n. 9, p. 1752-1760, 2018.
- TIKOO, S. K. et al. A. Bovine herpesvirus 1 (BHV-1): Biology, Pathogenesis, and control. **Advances in Virus Research**. v. 45, p. 191-223, 1995.
- TRAPP, S.; BEER, M.; METTENLEITER, T. C. Biology of bovine herpesviruses. **Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift**, v. 16, n. 5-6, p.171-178, 2003.
- VAN OIRSCHOT, J. T The BHV-I situation in Europe. In: Simpósio Internacional sobre Herpesvírus Bovino (tipos 1 e 5) e Vírus da Diarréia Viral Bovina, 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1998. p. 69-72.
- WATHES, D. C. et al. Importance of Viral Disease in Dairy Cow Fertility. **Engineering**, v. 6, n. 1, p. 26-33, 2020. doi: 10.1016/j.eng.2019.07.020.
- ZARDO, R. **Prevalência e variáveis associadas à infecção por BoHV-1, BVDV, Leptospira spp. e Neospora caninum em bovinos leiteiros no município de Novo Xingu-RS**. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado Programa de Pós-Graduação em Veterinária) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

OBJETIVOS

Geral

- Identificar e caracterizar molecularmente os tipos (BoAHV1 e/ou BoAHV5) e subtipos virais do herpesvírus bovino em bovinos no estado de Pernambuco.

Específicos

- Pesquisar a ocorrência de DNA do herpesvírus em animais provenientes de abatedouro ou que vieram a óbito com sinais clínicos neurológicos;
- Realizar o isolamento viral do herpesvírus bovino;
- Realizar a caracterização molecular dos subtipos virais do herpesvírus bovino tipo 1 e do herpesvírus bovino tipo 5;
- Construir uma árvore filogenética a partir das amostras que foram caracterizadas.

**CAPÍTULO 1: MENINGOENCEFALITE CAUSADA PELO BOVINE
ALPHAHERPESVIRUS 5 EM PERNAMBUCO, BRASIL**

**Meningoencephalitis caused by *Bovine alphaherpesvirus 5* in Pernambuco,
Brazil**

**Artigo aceito pelo periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e
Zootecnia**

Meningoencephalitis caused by *Bovine alphaherpesvirus 5* in Pernambuco, Brazil

Meningoencefalite causada pelo *Bovine alphaherpesvirus 5* em Pernambuco, Brasil

Resumo

Objetivou-se descrever a ocorrência do *Bovine alphaherpesvirus 5* (BoHV5) como causa de meningoencefalite não-supurativa em bovinos do estado de Pernambuco, Brasil. Para tanto, 32 amostras de sistema nervoso embebidas em parafina foram obtidas de animais acometidos por doenças neurológicas atendidos na Clínica de Bovinos de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE), entre 2012 e 2016. As amostras foram analisadas quanto à presença do gene da glicoproteína C do BoHV5 por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Dois animais (6,25%) tiveram resultado positivo à PCR e sua análise de sequenciamento indicou 100% de similaridade para o BoHV5. Os resultados histopatológicos desses dois animais revelaram lesões multifocais de meningoencefalite não-supurativa associada a polioencefalomalácia, presença de corpúsculos de inclusão basofílico, infiltração de células de Gitter e presença de mangitos perivasculares. A PCR se mostra como uma importante ferramenta para diferenciação das infecções por BoHV5 de outras enfermidades neurológicas de bovinos, especialmente a raiva.

Palavras-Chave: PCR, amostras em parafina, doença neurológica, BoHV5, SNC

Bovine alphaherpesvirus 5 (BoHV5) é responsável pelo desencadeamento de uma condição neurológica típica, que apresenta alta mortalidade em bovinos de até 8 anos de idade (Barros *et al.*, 2006; Rissi *et al.*, 2006). A característica mais importante do BoHV5 está em sua capacidade de estabelecer latência no gânglio trigêmeo, permitindo que o vírus se perpetue no organismo animal por toda a vida, sendo reativado em períodos de diminuição da imunidade (Perez *et al.*, 2002).

Os principais sinais clínicos associados à infecção causada por este agente incluem prostração profunda, pressão da cabeça contra objetos, corrimento nasal, movimentos involuntários, nistagmo, opistótono e andar cambaleante, culminando em morte entre 4 e 10 dias (Rissi *et al.*, 2006).

BoHV5 tem distribuição mundial, mas sua ocorrência é geograficamente limitada à América do Sul, principalmente Brasil e Argentina (Perez *et al.*, 2002). Embora sua ocorrência seja descrita no Brasil, onde é considerada um dos três principais agentes causadores de doenças neurológicas em bovinos (Queiroz *et al.*, 2018; Terra *et al.*, 2018), estudos sobre sua ocorrência na região Nordeste são inexistentes, apesar das evidências da sua presença (Galiza *et al.*, 2010). O objetivo deste estudo foi relatar a ocorrência do BoHV5 em bovinos com sinais neurológicos no período de 2012 a 2016 no estado de Pernambuco.

Foram analisadas amostras do sistema nervoso central (cerebelo, pituitária, rete mirabile, tronco encefálico, telencéfalo, medula e tálamo) embebidas em parafina de 32 bovinos com sinais clínicos neurológicos. Esses animais foram submetidos à necropsia na Clínica de Bovinos de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE), procedentes de 12 municípios localizados na Região Intermediária de Caruaru, Pernambuco (Fig. 1), entre os anos de 2012 e 2016.

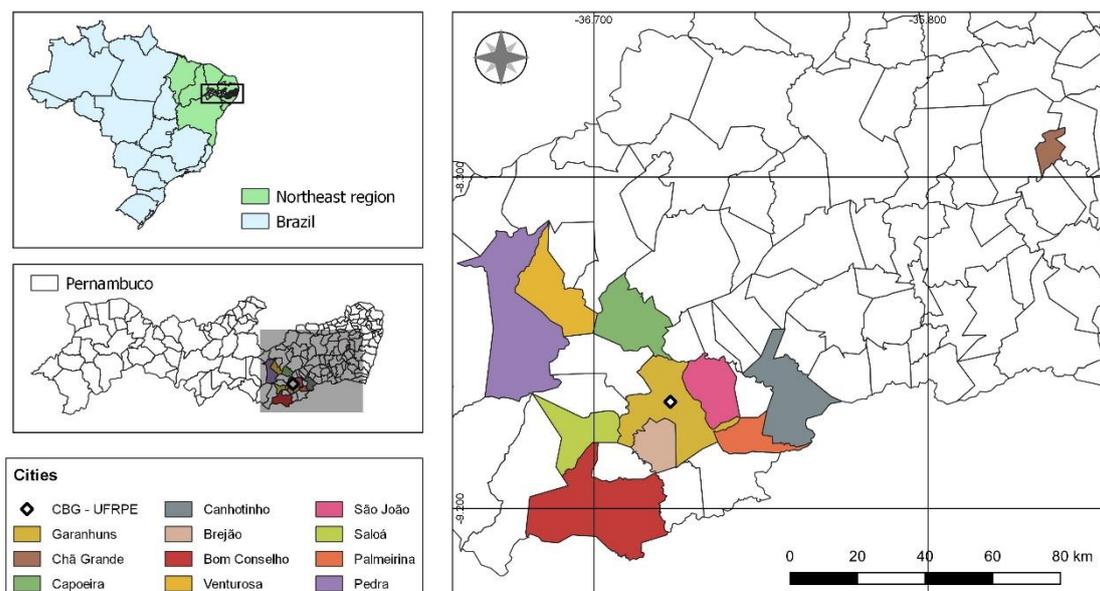


Figura 1 – Municípios de origem dos animais

Para a extração de DNA foi utilizado o kit ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System (Promega®), seguindo as especificações do fabricante. Para cada animal, a extração de DNA foi realizada com um pool de tecido de 20 micrômetros (µm) contendo quatro cortes histológicos (5µm cada) de blocos de material parafinado de diferentes partes do sistema nervoso central. O material extraído foi congelado a -20 ° C para análise posterior.

A pureza e a concentração do DNA foram analisadas em espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific®), e sua concentração ajustada para 100 ng / µL. A reação foi realizada usando os iniciadores Bcon (5'-AGT GCA CGT ACA GCG GCT CG-3' nt. 461-480) e BoHV5 (5'-CGG ACG AGA CGC CCT TGG-3' nt. 322-339), amplificar um produto de 159 pb do gene da glicoproteína C (Claus et al., 2005). As reações foram realizadas utilizando 6,25 µL de GoTaq® Green Master Mix (Promega®), 0,5 µL de cada primer na concentração de 10 µM, 2,75 µl de água ultrapura e 2,5 µl de DNA. A reação foi realizada em um termociclador T100™ Thermal Cycler (Bio Rad®) sob o seguinte perfil térmico: desnaturação inicial a 95 ° C por 3 min, seguida por 40 ciclos a 95 ° C (1 min), 58 ° C (1 min) e 72 ° C (1 min) e uma extensão final de 7 min a 72 ° C.

Os produtos amplificados foram detectados por eletroforese em gel de agarose a 2%, corado com Blue Green (LGC®), visualizado em luz ultravioleta e fotodocumentado. O controle positivo foi obtido pela extração de DNA da cepa referência BoHV5 (AA01) cultivada em cultura de células de rim bovino Madin-Darby (MDBK). Para o sequenciamento, as bandas de gel de produtos amplificados positivos foram purificadas usando o kit comercial MEGAquick-spin™ Plus Total Fragment DNA Purification Kit (iNtRON Biotechnology®). O sequenciador ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) foi usado, e as reações foram realizadas bidirecionalmente usando o BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), e as condições de polimerização foram realizadas em placas de 96 poços, de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados obtidos pelo

sequenciamento foram avaliados no Staden Package 4.1.4 (Gene Codes Corporation, EUA) e analisados quanto à similaridade com as sequências utilizando as Basic Alignment Search Tools (BLAST) do banco site de dados GenBank por meio do National Center for Biotechnology Information (NCBI) para investigar a correspondência de identificação de espécies.

Inicialmente, foi feito um blast utilizando as sequências geradas neste estudo contra o banco de dados para recuperar todas as sequências relacionadas ao BoHV5. As sequências recuperadas foram então alinhadas e o modelo evolutivo foi calculado. Uma inferência bayesiana foi feita considerando o modelo evolutivo calculado, com 5 × 10⁷ gerações da cadeia Markov Monte Carlo (três cadeias quentes e uma fria), e as árvores foram amostradas a cada 1.000 gerações. Tracer (Rambaut *et al.*, 2018) foi usado para visualizar os resultados da inferência (Fig. 2).

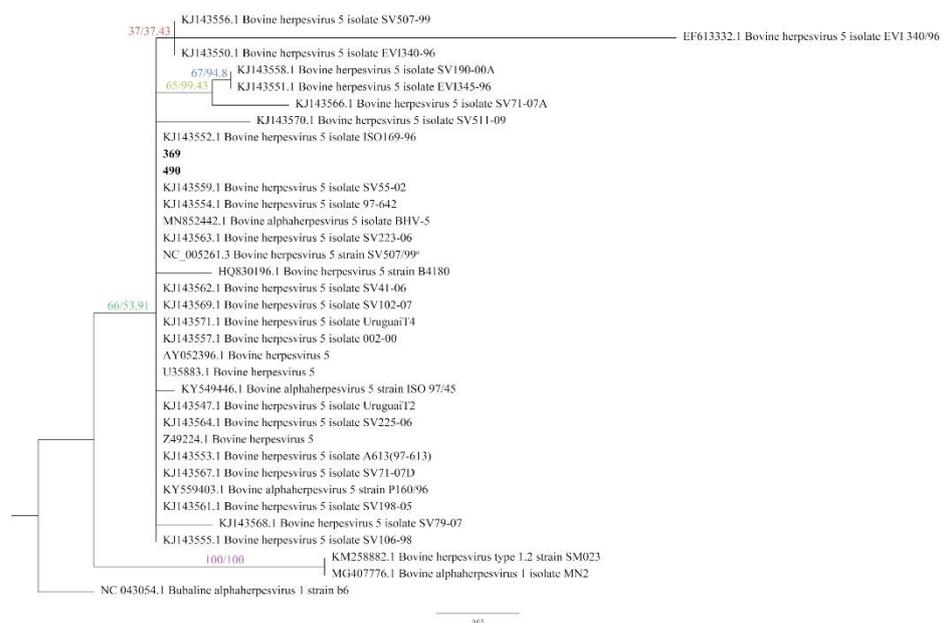


Figura 2 – Análise filogenética. As sequências de nucleotídeos dos genes gC foram editadas para fragmentos de 157 bp, usando MEGAX. Essas sequências, juntamente com as sequências de nucleotídeos representativas de BoHV1 e BoHV5 disponíveis no domínio público (GenBank), foram submetidas a múltiplos alinhamentos de sequência. As análises filogenéticas foram conduzidas usando Garli v.2.0. A inferência

filogenética foi realizada pelo método da Máxima Verossimilhança (ML) e os intervalos de confiança foram estimados por um algoritmo bootstrap aplicando 1.000 iterações, divididas em 4 execuções de 250 cada. A árvore é desenhada em escala, com os comprimentos dos ramos nas mesmas unidades que as distâncias evolutivas usadas para inferir a árvore filogenética. Os valores de bootstrap são mostrados em cada ramificação seguidos por valores de inferência bayesiana (IB), por exemplo. ML / IB.

As amostras do sistema nervoso central incluídas em parafina foram cortadas em seções de 5 µm e coradas com hematoxilina e eosina, e lidas em microscópio óptico para descrição dos achados histopatológicos.

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob o número 60/2017.

Na PCR realizada nas amostras do sistema nervoso, as amostras 369 e 490 foram positivas para BoHV5, e a identidade molecular foi confirmada por sequenciamento de fita dupla, que indicou similaridade de 99% –100% com pelo menos 20 sequências depositadas em GenBank (KY559403.1, KJ143571.1, KJ143569.1, KJ143567.1, KJ143564.1, KJ143563.1, KJ143562.1, KJ143561.1, KJ143557.1, KJ143557.1, KJ143556.1, KJ143555.1, KJ143555.1 .1, KJ143554.1, KJ143553.1, KJ143552.1, KJ143550.1, KJ143547.1, NC_005261.3, AY052396.1, KJ143551.1, entre outras).

Sequências de dois isolados, 369 e 490, pertencentes ao gene gC (Glicoproteína C) foram montadas no pacote Staden, gerando sequências de 154 e 157 pb, respectivamente. Após o Blast, 30 sequências de BoHV5 foram recuperadas do banco e duas sequências de *Bubaline alphaherpesvirus 1* e uma de *Bovine alphaherpesvirus 1* foram adicionadas às análises. O modelo evolutivo calculado foi HKY + F de acordo com o critério de informação Bayesiano (BIC).

A árvore filogenética construída (Fig. 2), tanto pelo método da verossimilhança quanto pelo Bayesiano, apresentou topologias similares, mas com valores de suporte pouco parecidos. Os isolados sequenciados no presente estudo foram agrupados com isolados de BoHV5 com 100% de bootstrap / probabilidade, sugerindo que o vírus está intimamente relacionado aos isolados de BoHV5.

Bovine alphaherpesvirus 5 é um importante patógeno de bovinos, com alta prevalência na América do Sul (Perez *et al.*, 2002). Contudo, apesar de sua importância e do papel crítico da gC no vírus biologia e suas implicações para diagnóstico e imunização sucesso, informações limitadas estão disponíveis em BoHV-1 / BoHV-5 59 gC. Foram encontradas via blast cerca de 30 sequências de BoHV-5, incluído sequências retiradas do genoma, cobrindo 157 pb, das sequenciadas no presente estudo, estão disponíveis no GenBank. Os resultados são similares aos achados por estudos anteriores (Maidana *et al.*, 2011; Traesel *et al.*, 2015). Contudo ainda faltam estudos específicos quanto a determinação de linhagens para o gene estudado (gC).

Como as amostras foram preservadas em solução de formalina a 20%, é possível que os resultados apresentados sejam subestimados, pois há limitações na técnica de detecção de material genético em amostras parafinadas, visto que o ácido nucléico sofre desnaturação quando fixado por um longo período ou quando o formaldeído não é tamponado (Crawford *et al.*, 1999). Arruda *et al.* (2010) observaram maior positividade para BoHV1 e BoHV5 em amostras preservadas em solução de formalina a 10% por menos de 40 dias. Enquanto isso, as amostras preservadas por mais tempo apresentaram menor positividade.

O histórico clínico dos animais positivos para BoHV5 consistia em apatia, sialorreia, inapetência, tremores de cabeça, cabeça baixa, ataxia, redução da acuidade visual, secreção nasal bilateral, respiração oligopneica associada à dispneia expiratória. O curso clínico dos animais acometidos foi de seis dias, evidenciando a alta letalidade do agente envolvido, o que está de acordo com os achados descritos por Aquino Neto *et al.* (2009). A variação dos sinais depende de fatores como a presença de doenças concomitantes, entre elas a polioencefalomalácia (David, 2002), que acentuam de maneira marcante as lesões de meningoencefalite, o estado imunológico dos animais (Belknap *et al.*, 1994) comprovado pela ação da imunidade passiva na proteção dos animais expostos ao vírus e da amostra viral.

Os achados histopatológicos consistiram em meningoencefalite não supurativa, multifocal, moderada, crônica, associada à polioencefalomalácia. Esses achados

corroboram com os estudos de Galiza *et al.* (2010), que também identificaram esse tipo de lesão nos animais acometidos. Um dos animais que apresentou as lesões foi diagnosticado com PEM, apresentando uma acentuada lesão de malácia. David (2002) sugere que os casos clínicos de reativação de infecções latentes de BoHV5, bem como a gravidade dos casos, estão associados ao desenvolvimento prévio de polioencefalomalacia. Em seus estudos (David, 2002), animais que desenvolverem simultaneamente polioencefalomalacia e meningoencefalite por BoHV5 apresentaram lesões de malácia mais pronunciadas.

Conforme demonstrado nos estudos de Pedraza e Alessi (2010), no qual se detectou uma positividade de 33,3% (5/15) para o BoHV5 em amostras de material parafinado com diagnóstico de meningoencefalite, a PCR se mostra como uma ferramenta importante não apenas para o diagnóstico de casos em curso, mas também por sua utilização em estudos retrospectivos sobre a ocorrência de doenças neurológicas a partir de banco de amostras.

Um dos animais que foram positivos à PCR para BoHV5, tinha o diagnóstico de polioencefalomalacia. O outro animal, que foi também confirmado como positivo para BoHV5, tinha nos seus assentamentos de prontuário a suspeita clínica de raiva, o que mostra a importância desta ferramenta, a PCR, no diagnóstico da infecção por BoHV5.

Vários estudos têm descrito que, entre os distúrbios neurológicos em bovinos, a meningoencefalite não supurativa é o principal achado histológico causado por doenças infecciosas (Galiza *et al.*, 2010; Queiroz *et al.*, 2018; Terra *et al.*, 2018). Um estudo realizado no estado da Paraíba, Brasil, descreve esta lesão associada à malacia. (Galiza *et al.*, 2010).

Embora a lesão característica da meningoencefalite não supurativa seja atribuída ao BoHV5, a mesma lesão também pode estar presente em alguns casos de infecção pelo BoHV1 devido ao seu tropismo pelo sistema nervoso central, bem como casos de raiva e febre catarral maligna (Barros *et al.*, 2006). Portanto, é necessário confirmar a infecção por meio de técnicas diagnósticas que permitam a distinção entre os tipos 1 e 5 de alfa-herpesvírus bovino.

A distribuição de enfermidades de origem neurológica pode variar devido às particularidades regionais de cada local onde ocorra, por esta razão se faz necessária a identificação dos agentes de circulação regional a fim de que as devidas ações de estratégias possam ser conduzidas para minimizar as perdas (Queiroz *et al.*, 2018). Somado a isso, a baixa frequência de relatos da infecção por BoHV5 está relacionada à dificuldade de identificação da causa pela similaridade dos sinais clínicos apresentados e pela dificuldade de realização de diagnósticos diferenciais. Isso é devido à variação de sinais clínicos ou pela falta de estrutura técnica dos laboratórios (Aquino Neto *et al.*, 2009) aliado ao desconhecimento de sua ocorrência na região ou das particularidades associadas à infecção pelo agente.

A confirmação por PCR da ocorrência do BoHV5 entre os casos de doenças neurológicas em bovinos mostra a importância dos testes moleculares para o diagnóstico definitivo, principalmente nos casos suspeitos de raiva, doença endêmica de bovinos na região Nordeste do Brasil.

References

- AQUINO NETO, H. M.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J. et al. Meningoencefalite por Herpesvirus bovino 5 em Minas Gerais: relato de caso clínico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 61, n. 1, p. 1-5, 2009.
- ARRUDA, L. P.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. et al. Detecção molecular de herpesvírus bovino 1 e 5 em amostras de encéfalo conservadas em formol e emblocadas em parafina provenientes de bovinos com doença neurológica. *Pesq. Vet. Bra.*, v. 30, n. 8, p. 646–650, 2010.
- BARROS C. L. S., DRIEMEIER D., DUTRA I. S.; LEMOS R. A. A. Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil. Montes Claros, Mg: Vallée, 2006. 207p.
- BELKNAP, E. B.; COLLINS, J. K.; AYERS, V. K.; SCHULTHEISS, P. C. Experimental infection of neonatal calves with neurovirulent bovine herpesvirus type 1.3. *Vet. Pathol.*, v. 31, p.358-365, 1994.
- CLAUS, M. P.; ALFIERI, A. F.; FOLGUERAS-FLATSCHART, A. V. et al. Rapid detection and differentiation of bovine herpesvirus 1 and 5 glycoprotein C in clinical specimens by multiplex-PCR. *J. Virol. Meth.*, v. 128, p. 183-188, 2005.
- CRAWFORD, T. B.; LI, H.; O'TOOLE, D. Diagnosis of malignant catarrhal fever by PCR using formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v. 11, p. 111-116, 1999.

- DAVID, N. *Associação de meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 com polioencefalomalacia*. 2002. 55p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- GALIZA, G. J. N.; SILVA, M. L. C. R.; DANTAS, A. F. M. et al. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesq. Vet. Bra.*, v. 30, n 3, p. 267-276, 2010.
- MAIDANA, S. S.; LADELFA, M. F.; PÉREZ, S.E. et al. Characterization of BoHV-5 field strains circulation and report of transient specific subtype of bovine herpesvirus 5 in Argentina. *BMC Vet. Res.*, v. 7, 8p, 2011.
- PEDRAZA, F. J.; ALESSI, A. C. Detection of bovine herpesvirus 5 (BoHV-5) in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine brain by nested PCR in Colombian cattle. *Rev. Colomb. Cienc. Pec.*, v. 23, n. 3, p. 292-298, 2010.
- PEREZ, S. E.; BRETSCHEIDER, G.; LEUNDA, M. R. et al. Primary infection, latency, and reactivation of bovine herpesvirus type 5 in the bovine nervous system. *Vet. Pathol.*, v.39, p.437-444, 2002.
- QUEIROZ, G. R. et al. Diagnóstico diferencial das doenças neurológicas dos bovinos no estado do Paraná. *Pesq. Vet. Bra.*, v. 38, n. 7, p. 1264-1277, 2018.
- RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. J.; XIE, D.; BAELE, G.; SUCHARD, M. A. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst Biol.*, v. 67, n. 5, p. 901-904, 2018.
- RISSI, D. R.; OLIVEIRA, F. N.; RECH, R. R. et al. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bra.*, v. 26, p.123-132, 2006.
- TERRA, J. P.; BLUME, G. R.; RABELO, R. E. et al. Neurological diseases of cattle in the state of Goiás, Brazil (2010-2017). *Pesq. Vet. Bra.*, v. 38, n. 9, p. 1752-1760, 2018.
- TRAESEL, C. K.; BERNARDES, L. M.; SPILKI, F. R. et al. Sequence analysis of the 5' third of glycoprotein C gene of South American bovine herpesviruses 1 and 5. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 48, n 5, p. 470–478, 2015.

CAPÍTULO 2: IMPACTOS ECONÔMICOS DA INFECÇÃO POR ALFAHERPESVIRUS BOVINO 1 NO BRASIL: METANÁLISE A PARTIR DE INDICADORES EPIDEMIOLÓGICOS

Impactos econômicos da infecção por *Bovine Alphaherpesvirus 1* no Brasil: metanálise a partir de indicadores epidemiológicos

Artigo aceito pelo periódico SEMINA: Ciências Agrárias. Formatado de acordo com as normas do periódico.

Impactos econômicos da infecção por *Bovine Alphaherpesvirus 1* no Brasil: metanálise a partir de indicadores epidemiológicos
Economic impacts of *Bovine Alphaherpesvirus 1* infection in Brazil: meta-analysis based on epidemiological indicators

Highlights

Foi identificada uma prevalência de 54,12% para os bovinos no Brasil;

A prevalência para os rebanhos nacionais foi de 88,53%;

Foi estimada a ocorrência de 258.779 abortos bovinos por ano;

O impacto anual à pecuária foi estimado em US\$ 48.402.244,00 devido aos abortos.

Resumo

Objetivou-se com o presente estudo realizar uma revisão sistemática para estimar os impactos econômicos da infecção por *Alfaherpesvirus Bovino 1* no Brasil a partir dos indicadores epidemiológicos por meio de uma metanálise. Foram usados descritores específicos para a recuperação de estudos a partir das bases Scopus, Pubmed, Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações e do Catálogo de Teses e Dissertações da Capes, selecionando-se aqueles que se enquadraram nos critérios de inclusão estabelecidos entre os anos 2000 e 2020. Os estudos selecionados foram submetidos à análise estatística descritiva utilizando-se os dados de prevalência como desfecho primário com intervalo de confiança de 95%, sendo realizado metanálise de efeito randômico e avaliadas as medidas de heterogeneidade, significância, magnitude do efeito e aferição do viés de publicação. Os custos e estimativas de aborto foram calculados com base na prevalência encontrada para BoAHV1 no Brasil e as características do agente como subtipos virais que provocam o aborto, período de ocorrência, taxa média de prenhez e morbidade aplicados aos animais suscetíveis e aos valores de reposição animal. Os resultados foram obtidos a partir de 49 estudos incluídos para metanálise, onde se verificou uma prevalência de BoAHV1 de 54,12% (IC95%: 49,07% – 59,26%) na população bovina e 88,53% (IC95%: 82,97% – 92,43%) para os rebanhos. A partir da fórmula estruturada, se estima que ocorram 258.779 abortos bovinos, que totalizam um prejuízo, apenas baseado na ocorrência do aborto, de US\$ 48.402.244,00 ao país. Destaca-se que em virtude dos prejuízos ocasionados, medidas de controle e erradicação mais rigorosas precisam ser implementadas a partir da elaboração de uma instrução normativa que contemple medidas de educação sanitária, vacinação, realização de exames para o trânsito e comércio de animais para que as infecções pelo BoAHV1 não continuem a impactar negativamente os produtores nacionais de forma econômica, produtiva e socialmente.

Palavras-chave: Revisão sistemática, IBR, aborto, custo, prevalência.

Abstract

The objective of this study was to carry out a systematic review to estimate the economic impacts of Bovine Alphaherpesvirus 1 infection in Brazil from epidemiological indicators through a meta-analysis. Specific descriptors were used for retrieving studies from the Scopus, Pubmed, Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações and Catálogo de Teses e Dissertações da Capes databases, selecting those that met the inclusion criteria established between the years 2000 and 2020. The selected studies were subjected to descriptive statistical analysis using prevalence data as the primary outcome with a 95% confidence interval, with a meta-analysis of random effect and measures of heterogeneity, significance, magnitude of the effect and measurement of the bias of Publication. Abortion costs and estimates were calculated based on the prevalence found for BoAHV1 in Brazil and the characteristics of the agent as viral subtypes that cause abortion, period of occurrence, average pregnancy rate and morbidity applied to susceptible animals and animal replacement values. The results were obtained from 49 studies included for meta-analysis, where there was a prevalence of BoAHV1 of 54.12% (95% CI: 49.07% - 59.26%) in the bovine population and 88.53% (95% CI: 82.97% - 92.43%) for herds. From the structured formula, it is estimated that 258,779 bovine abortions occur, which total a loss, based only on the occurrence of abortion, of US \$ 48,402,244.00 to the country. It is noteworthy that due to the losses caused, stricter control and eradication measures need to be implemented based on the elaboration of a normative instruction that includes health education measures, vaccination, tests for traffic and animal trade so that BoAHV1 infections do not continue to negatively impact national producers economically, productively and socially.

Keywords: Systematic review, IBR, abortion, cost, prevalence.

Introdução

As mudanças de hábitos alimentares das famílias têm levado a um aumento mundial da demanda por proteína de origem animal e o modo mais seguro de atender a essa demanda é pelo incremento nos serviços de vigilância sanitária que necessitarão de uma atuação mais veemente em virtude da intensificação dos meios de produção, visto que a estimativa de perdas, segundo a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), em detrimento de doenças animais são superiores a 20% (OIE, 2008). Com relação às doenças infecciosas, embora se saiba que as enfermidades virais ocasionam significativas perdas na pecuária bovina, seu impacto reprodutivo é subestimado (Wathes, Oguejiofor, Thomas & Cheng 2020).

O primeiro relato da infecção por alfa herpesvírus bovino 1 (BoAHV1) no Brasil data da década de 1960 (Galvão, Doria & Alice, 1962/1963) sendo realizado o seu isolamento mais de 15 anos depois (Alice, 1978). Desde então muitos estudos passaram a relatar a ocorrência deste agente nos rebanhos

bovinos brasileiros (Pituco, 1988; Lovato, Weiblen, Tobias & Moraes, 1995; Cerqueira et al., 2000; Poletto, Kreutz, Gonzales & Barcellos, 2004; Dias et al., 2008; Lima, Nogueira, Okuda, Stefano & Pituco, 2011; Oliveira, Lorenzetti, Alfieri & Lisbôa, 2015; Bezerra, Bezerra, Santos, Pereira & Silva, 2019; Haas et al., 2020). A forma de apresentação e a severidade das infecções e sua patogênese varia de acordo com a sua virulência, ademais se soma o fato de que o agente é capaz de estabelecer latência, contribuindo para a manutenção do BoAHV1 no rebanho por meio de animais assintomáticos que disseminam o vírus para os hospedeiros hígidos (Biswas, Bandyopadhyay, Dimri & Patra, 2013).

As infecções causadas pelo BoAHV1 ocasionam diversos quadros clínicos, dentre os quais desordens de caráter reprodutivo que podem variar desde alterações inflamatórias do trato genital dos animais acometidos até o desencadeamento de quadros clínicos respiratórios, oculares e neurológicos (Nandi, Kumar, Manohar & Chauhan, 2009; Graham, 2013). Uma vez presente no rebanho, ainda que de forma subclínica, a infecção tem sido associada à diminuição da performance produtiva dos animais acometidos (Statham, Randall & Archer, 2015) o que torna importante, para a correta implementação de medidas profiláticas, o conhecimento da prevalência do BoAHV1 em detrimento dos impactos socioeconômicos que a infecção pelo agente pode acarretar (Chen et al., 2018).

As perdas econômicas atribuídas ao BoAHV1 consistem em perda de peso, decréscimo na produção de leite, problemas de fertilidade como endometrite e repetição de cio, nascimento de animais fracos além de mortalidade embrionária e neonatal (Ata, Kocamüftüoğlu, Hasircioğlu, Kale & Gülay, 2012; Junqueira & Alfieri, 2006). Em decorrência dos impactos econômicos e prejuízos à saúde animal, muitos países europeus tem empregado esforços para controlar e erradicar as infecções pelo BoAHV1 desde a década de 1980 (Ackermann et al., 1990; Ackermann & Engels, 2006; Hage et al., 1998).

Para a instituição de programas de prevenção e controle das doenças o conhecimento dos fatores epidemiológicos que são particulares como dados de prevalência, fatores de risco, programa de profilaxia e o custo-benefício associado são fundamentais para a estimativa dos impactos econômicos e avaliação da melhor estratégia a ser implementada (Thrusfield, 2005).

Para demonstrar os impactos provocados pela infecção por diversos agentes infecciosos reprodutivos na pecuária bovina, vários estudos vem sendo conduzidos em todo mundo (Statham et al., 2015; Bennett, 2003; Macías-Rioseco et al., 2020; Ran et al., 2019; Reichel, Ayanegui-Alcérrea, Gondim, & Ellis, 2013; Sayers, 2017; Wathes et al., 2020) para alertar sobre os prejuízos ocasionados pelos mesmos e a importância dos serviços de atenção veterinária na promoção da saúde animal e melhora na qualidade de vida da população. Considerando os impactos econômicos, reprodutivos e sociais associados ao aborto provocado pelas enfermidades reprodutivas infecciosas somado ao fato de que o alfaherpesvirus bovino 1 é um agente abortivo amplamente disseminado nos rebanhos nacionais e não apresenta uma norma de contingenciamento sanitário, objetivou-se com essa revisão sistemática

calcular a prevalência do BoAHV1 no Brasil e estimar as perdas diretas associadas à ocorrência do aborto na espécie bovina.

Material e Métodos

Desenho do estudo

O presente estudo consiste em uma revisão sistemática da literatura que visa sintetizar os dados de prevalência do BoAHV1 em bovinos no Brasil e analisar, por meio de metanálise, os dados quantitativos de manuscritos disponíveis nas bases de dados selecionadas e da literatura cinzenta (como de teses, dissertações e listas de referências) para definir o custo do aborto em bovinos. O estudo foi conduzido de acordo com recomendações metodológicas do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Moher, Liberati, Tetzlaff & Altman, 2009).

Bases de dados e estratégia de busca

Para a pesquisa de estudos acerca da temática foram definidos os termos de busca combinados para cada uma das bases de dados, sendo utilizadas diferentes estratégias de busca, em virtude de que as diferentes bases utilizam algoritmos de busca distintos, sendo necessário realizar combinações diferentes dos principais termos indexadores do tema estudado. A pesquisa dos estudos foi realizada durante o quarto trimestre de 2020.

Para o Scopus foram usados os descritores: “(ALL ("Incidence") OR ALL ("Prevalence") OR ALL ("occurrence") OR ALL ("Epidemiology") OR ALL ("Prevalência") OR ALL ("ocorrência") OR ALL ("incidência") OR ALL ("epidemiologia")) AND (ALL ("Brazil") OR ALL ("Brasil")) AND ((TITLE-ABS-KEY ("Herpesvirus") OR TITLE-ABS-KEY ("Alfaherpesvirus") OR TITLE-ABS-KEY ("Alphaherpesvirus")) AND (TITLE-ABS-KEY ("bovine") OR TITLE-ABS-KEY ("Cattle") OR TITLE-ABS-KEY ("bovino")))) OR (TITLE-ABS-KEY ("BoHV-1" OR "BoHV1" OR "BHV-1" OR "HVB-1")) .” Já para o Pubmed se usou: ” ("Incidence" OR "Prevalence" OR "occurrence" OR "Epidemiology" OR “incidência” OR “prevalência” OR “Ocorrência” OR “epidemiologia”) AND ("Brazil" OR “Brasil”) AND ((("Herpesvirus" OR "alfaherpesvirus" OR "alphaherpesvirus") AND (("bovine" OR "Cattle" OR "bovino"))) OR ("BoHV-1" OR “BoHV1” OR “BHV-1” OR “HVB-1”)))”

Para a recuperação de teses e dissertações, no domínio da Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações se usou a combinação: “(Todos os campos: Incidence OR Prevalence OR occurrence OR Epidemiology OR prevalência OR ocorrência OR incidência OR Epidemiologia OR sorológico OR serological OR soroprevalência OR Seroprevalence E Todos os campos: Herpesvirus OR alfaherpesvirus OR alphaherpesvirus OR BoHV-1 OR BoHV1 OR BHV-1 OR HVB-1 E Todos os campos:bovine OR Cattle OR bovinos OR bovino)”. E para o Catálogo de Teses e Dissertações Capes:

“BoHV-1 OR herpesvirus AND bovino AND prevalência OR ocorrência OR incidência OR Epidemiologia OR soroprevalência”.

Crêterios de elegibilidade

Foram utilizados como cr terios de inclusão os manuscritos que tenham como desenhos estudos observacionais de prevalência ou que apontem como parte dos seus resultados a ocorrência, por meio de métodos de diagnóstico diretos e/ou indiretos em bovinos no Brasil, do alfaherpesvirus bovino 1 (BoAHV1). Os tipos de publica o incluídos consistem em artigos completos, artigos do tipo “short communication”, resumos apresentados em congressos, disserta es e teses. Não foram colocadas restri es quanto ao idioma dos estudos retornados.

Foram excluídos do estudo os manuscritos que não discriminaram a ocorrência do BoAHV1 na forma de estudos observacionais, estudos clínicos, estudos com outras espécies que não bovinos, estudos que não tenham como foco a pesquisa do agente de interesse ou a enfermidade por ele ocasionada, estudos realizados fora do Brasil, estudos que apresentam viés (como os realizados em rebanhos sabidamente positivos) e aqueles que pesquisam a presença do agente por meio da análise de amostras clínicas envolvendo o isolamento do mesmo. Após a recupera o dos manuscritos, foram selecionados aqueles publicados entre os anos 2000 e 2020.

Sele o de estudos e extra o de dados

A sele o dos estudos foi realizada de forma independente por dois diferentes pesquisadores, onde as diferenças foram decididas por consenso entre as partes. A pesquisa foi realizada em quatro etapas alocadas nos cr terios de identifica o, sele o, elegibilidade e inclusão.

A primeira etapa consistiu em registrar o total de artigos retornados a partir dos termos definidos para realizar as buscas, sendo excluídos os manuscritos em duplicata. Na segunda etapa foi feita uma leitura dos títulos dos artigos excluindo-se aqueles que não contemplaram a área de estudo. A terceira etapa consistiu na leitura dos resumos dos artigos selecionados a partir dos títulos, sendo selecionados para a leitura os que tinham informa es de potencial interesse sobre a ocorrência do BoAHV1 em bovinos no Brasil. Por fim os manuscritos que apresentaram dados de prevalência foram lidos integralmente na quarta etapa, sendo excluídos, após essa leitura, os que não apresentaram informa es relevantes para compor o estudo e incluídos para análise os manuscritos de interesse a partir das listas de referências dos estudos selecionados.

Adicionalmente foram escrutinadas as listas de referências bibliográficas dos estudos selecionados após a quarta etapa para se ter uma maior abrangência dos manuscritos incluídos, uma vez que nem todos os estudos estavam necessariamente indexados às bases de dados selecionadas.

Análise estatística

Os dados qualitativos foram analisados por meio de estatística descritiva utilizando distribuição absoluta e relativa dos casos positivos para BoAHV1, utilizando-se os dados brutos da prevalência como desfecho primário com intervalo de confiança de 95%. Para o cálculo da prevalência, os artigos selecionados foram submetidos a uma metanálise de modelo randômico. A heterogeneidade foi avaliada pelo teste de Cochran Q (representado pelo qui-quadrado (χ^2) com significância de $P < 0,10$) e sua magnitude aferida através do I-quadrado (I^2) (Deeks, Higgins & Altman, 2020).

Para verificar a consistência dos dados dos estudos selecionados para compor essa revisão sistemática foi realizada uma análise de viés de publicação sendo construída por meio de um gráfico de funil. Neste modelo foi aplicado o teste de regressão de Egger para avaliar se a estimativa dos efeitos sofre ou não algum tipo de viés.

Cálculo do custo do aborto por BoAHV1

O custo do aborto por BoAHV1 no Brasil foi calculado tomando-se como parâmetros de referência o número de animais em risco ($n(v+nov)$), a taxa média de prenhez no rebanho (Pr), a prevalência do agente (Pv), a taxa de morbidade (Mb), o período de sua ocorrência em detrimento do agente pesquisado (PS), os subtipos virais do BoAHV1 (SV) e o custo incorrido do aborto calculado pelo custo de reposição de uma vaca prenhe menos o custo de uma vaca seca, adaptado de acordo com o modelo proposto Reichel et al. (2013). Para tanto se fez necessário primeiramente calcular o número de abortos atribuídos ao BoAHV1 (NBoAHV1) e a partir deste calcular o custo do aborto por BoAHV1 no Brasil conforme as fórmulas:

$$\text{Impacto econômico} \times \text{NBoAHV1} = (n(v+nov)) \times \text{Pr} \times \text{Pv} \times \text{Mb} \times \text{PS} \times \text{SV}$$

Resultados

O processo de escrutinação dos manuscritos encontra-se representado na Figura 1. Os manuscritos recuperados foram provenientes de bases de dados de artigos científicos e, como literatura cinzenta, de bancos de depósito de teses e dissertações a partir dos termos descritores. Das bases de dados de artigos científicos foram recuperados 40 estudos pelo Pubmed e 327 pelo Scopus, sendo as intersecções de buscas excluídas por duplicidade (35) totalizando 332 artigos recuperados. Em relação à literatura cinzenta, entre teses e dissertações, foram recuperados 94 manuscritos da Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD) e 35 do Catálogo de Teses e Dissertações da Capes que, excluídos os textos em duplicidade (17), resultaram em um total de 112 manuscritos, destes 43 teses e 69 dissertações o que somadas as diferentes bases resultou em 444 manuscritos recuperados no total na fase de identificação dos estudos.

Na etapa de Seleção, a partir do total de manuscritos identificados, foram excluídos 383 (295 artigos e 88 teses e dissertações) apenas pela leitura dos títulos, resultando em 61 manuscritos

selecionados para a leitura dos resumos, sendo dez destes excluídos após as leituras dos mesmos. Na etapa seguinte, de Elegibilidade, foram lidos na íntegra 51 manuscritos dos quais 20 foram excluídos após a leitura completa dos textos. Alguns estudos foram excluídos nessa etapa por redundância de informação sendo considerados apenas aqueles que foram publicados na forma de artigo científico provenientes de pesquisas em nível de mestrado ou doutorado sendo manuscritos de pós-graduação preteridos aos manuscritos publicados em periódicos.

Por fim, na etapa de Inclusão, todos os 31 estudos criteriosamente selecionados tiveram suas listas de referências escrutinadas para incluir na análise outros manuscritos que não foram abrangidos pelos descritores de buscas. Destes 31, 18 (58,06%) eram artigos científicos, cinco (16,12%) teses e oito (25,80%) dissertações. Após a leitura das listas, mais 18 estudos, todos na forma de artigos científicos, foram incluídos na revisão sistemática, totalizando 49 estudos compreendendo o intervalo de trabalhos publicados dos 2000 até 2020, conforme listados na Tabela 1.

Para os cálculos das prevalências e compuseram a análise 67.498 animais e 7.294 rebanhos. A análise dos estudos incluídos revelou uma heterogeneidade significativa dos estudos através do teste Q ($P < 0,001$) e I^2 ($I^2 = 99,32\%$) para o cálculo da prevalência por animal, sendo encontrados valores próximos para o cálculo da prevalência dos rebanhos ($P < 0,001$) e I^2 ($I^2 = 94,47\%$). Os resultados das assimetrias entre os estudos, para as diferentes inferências, população e rebanhos, estão representados nas Figura 2 e Figura 3, respectivamente, que, pelo teste de Egger, indicam não haver viés para o a distribuição de estudos de prevalência para a população de bovinos ($P > 0,05$) porém indicando a presença de viés para o estudo entre os rebanhos ($P < 0,05$).

A metanálise realizada para os estudos incluídos na revisão sistemática identificou uma prevalência agrupada através do modelo randômico para os bovinos, conforme Figura 4, de 54,21% (IC95%: 49,07% – 59,26%) e para os rebanhos (Figura 5) a prevalência foi de 88,53% (IC95%: 82,97% – 92,43%), ambas com heterogeneidade significativa ($P < 0,001$).

A partir dos dados dos estudos incluídos na metanálise e verificada a prevalência de 54,21%, este valor foi aplicado à fórmula modificada de Reichel et al. (2013) para o cálculo das perdas diretas ocasionadas pelo aborto por BoAHV1 em bovinos no Brasil. O número de fêmeas bovinas em idade reprodutiva ($n(v+nov)$) corresponde a, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2017), 59.670.476 cabeças; foi considerada uma taxa média de prenhez, baseada na literatura nacional, de 60% (Vaz & Lobato, 2010; Pereira et al., 2013; Rosa et al., 2017; Fernandes et al., 2019b; Pereira, Freitas Neto, Cordeiro, Silva & Figueiredo, 2020); a prevalência aqui apresentada; a taxa de morbidade que, de acordo com Constable, Hinchcliff, Done e Grünberg (2021), corresponde a uma faixa que varia de 8 a 30%, sendo utilizado o valor mínimo de 8% ou 0,08; o período de sua ocorrência, aqui considerado apenas o terço final da gestação (1/4 – considerando os meses de susceptibilidade no transcorrer de um

ano); e os subtipos virais que ocasionam aborto (2/3) de acordo com Flores (2017). De modo que o número de abortos atribuído ao BoAHV1 pode ser determinado como o produto da equação:

$$NBoAHV1 = (n(v+nov)) \times Pr \times Pv \times Mb \times PS \times SV = 258.779$$

Para o cálculo dos custos associados ao aborto, considerou-se o modelo adotado por Reichel et al. (2013), onde para a reposição de vacas leiteiras se considerou o valor médio de uma vaca prenhe (US\$ 1.000) subtraído de o valor de um animal com mesmo score (considerando a média de 450 quilos de peso vivo) vendido para abate (US\$ 750), o que equivale ao custo de US\$ 250 por aborto em animais leiteiros. Já para o cálculo do custo do aborto em animais de corte se considerou o valor preço de reposição de um bezerro desmamado na base de 165 kg (US\$ 458) menos o valor de abate de um animal de mesmo peso (US\$ 286), o que resulta em uma perda de US\$ 172 por aborto. Para a base de cálculo foi utilizado como referência as variações de preço da arroba do boi, do preço de reposição de bezerros e do valor médio de vacas prenhes no mês de dezembro de 2020 através da cotação de mercado disponíveis em propagandas e nos bancos de dados nacionais.

De acordo com o IBGE (2017) são ordenhadas no Brasil 11.506.788 vacas leiteiras. Subtraído do total de animais em idade reprodutiva em território nacional para o mesmo ano, tem-se 48.163.688 cabeças de vacas de corte em idade reprodutiva. Aplicando esses valores na fórmula anterior, se tem:

$$NBoAHV1(\text{Bov. Leit}) = (n(v+nov)) \times Pr \times Pv \times Mb \times PS \times SV = 49.902$$

$$NBoAHV1(\text{Bov. Cort}) = NBoAHV1 - NBoAHV1(\text{Bov. Leit}) = 208.877$$

A estimativa do impacto econômico ocasionado pelos abortos atribuídos ao BoAHV1 para as diferentes categorias pode ser definida como:

$$NBoAHV1(\text{Bov. Leit}) \times \text{Custo associado (Bov. Leit)} = 49.902 \times 250 = \text{US\$ } 12.475.500,00$$

$$NBoAHV1(\text{Bov. Cort}) \times \text{Custo associado (Bov. Cort)} = 208.877 \times 172 = \text{US\$ } 35.926.844,00$$

Logo, o impacto econômico do aborto por BoAHV1 no Brasil é da ordem de US\$ 48.402.244,00 considerando ambas as categorias de animais acometidos.

Discussão

Esta é a primeira metanálise de prevalência global da infecção por BoAHV1 em bovinos no Brasil, além de ser o primeiro estudo a propor um modelo para cálculo do impacto econômico do aborto em bovinos atribuído a este agente a partir da aplicação dos dados epidemiológicos associados ao BoAHV1.

Em decorrência da variação dos dados de prevalência e do número de estudos incluídos, os testes estatísticos para avaliar a heterogeneidade dos estudos foi significativa ($P < 0,001$). Para estimar a magnitude do efeito ou a variedade nas estimativas de efeito que se devem a heterogeneidade, foi empregado o teste de I^2 , cujo valor encontrado ($I^2 = 94,47\%$) indica considerável heterogeneidade dos

estudos incluídos ($75\% \leq I^2 \leq 100$) de acordo com Deeks et al. (2020). Esse fato se deve à ampla variação da distribuição das infecções por BoAHV1 em bovinos no Brasil.

Foram incluídos ao menos um estudo de 14 diferentes estados brasileiros. Um dos estudos (Lima et al., 2011) continha dados de outros 8 estados, totalizando 22 estados abrangidos na pesquisa. As prevalências dos estudos incluídos variaram de 9,3% (Zardo, 2017) a 86,28% (Okuda et al., 2006) para os animais e 27,88% (Miranda, 2012) a 100% em rebanhos (Alexandrino et al., 2011; Bezerra, Chaves, Sousa, Santos & Pereira, 2012; Bezerra et al., 2019; Fino, 2011; Freitas et al., 2014; Matos, 2004; Mineo, Alenius, Näslund, Montassier & Björkman, 2006; Okuda et al., 2006; Thompson et al., 2006; Tomich et al., 2009; Santos et al., 2014; Silva et al., 2019; Sousa, Bezerra, Chaves, Santos & Pereira, 2013). Esses dados evidenciam que o BoAHV1 se encontra amplamente distribuído nos rebanhos brasileiros, como se pode confirmar através da metanálise dos estudos incluídos para rebanhos e para os animais com 88,53% (IC95%: 82,97% – 92,43%) e 54,21% (IC95%: 49,07% – 59,26%) de prevalência, respectivamente, do período de 2000 a 2020.

A prevalência de BoAHV1 encontrada para os animais (54,21%; IC95%: 49,07% – 59,26%), considerado o seu intervalo de confiança, está de acordo com os valores de prevalência dos manuscritos de Alexandrino et al. (2011), Barbosa, Brito e Alfaia (2005), Cerqueira et al. (2000), Dias, Alfieri, Ferreira Neto, Gonçalves e Müller (2013), Pasqualotto, Sehnem e Winck (2015), Piovesan et al. (2013), Queiroz-Castro et al. (2019), Silva et al. (2019) e Tomich et al. (2009). Em um estudo similar que determinou a prevalência do BoAHV1 na China por meio de uma revisão sistemática com metanálise, Chen et al. (2018) identificaram uma prevalência de 40,0% em bovinos daquele país a partir de 41 manuscritos selecionados sendo amostrados no total 43.441 bovinos. Somados, os animais amostrados dos manuscritos elegíveis totalizaram 67.498 bovinos para compor a metanálise do presente estudo. Percebe-se que o impacto no Brasil, verificado pelos dados de maior prevalência, maior quantidade de estudos e maior população de bovinos amostradas, é maior que os dados apontados no estudo de Chen et al. (2018). Considerando a extensão do rebanho nacional associada à maior prevalência do BoAHV1 no Brasil, quando comparados ao do estudo de Chen et al. (2018), aprofundam-se ainda mais as consequências econômicas e produtivas, sobretudo sendo a pecuária bovina uma commodity e sendo a China um parceiro comercial e consumidor direto da carne bovina produzida no Brasil.

Já a prevalência da infecção por rebanhos (88,53%; IC95%: 82,97% – 92,43%) está de acordo com os manuscritos de Cerqueira et al. (2000), Fernandes et al. (2019), Melo, Leite, Lobato e Leite (2004) e Quincozes (2015). A quantidade de estudos que apresentou uma prevalência de rebanhos comparada ao verificado nesta metanálise está associada a uma maior predominância de rebanhos positivos. Haja vista que a mediana da prevalência apresenta o valor de 96,66%, esse alto valor e sua proximidade com os valores apontados da prevalência por rebanhos fortalecem as evidências que

BoAHV1 está amplamente distribuído nos rebanhos uma vez que mais da metade dos estudos apontam uma prevalência superior ao encontrado no presente manuscrito.

O teste de Egger indicou ausência de viés para os estudos de prevalência na população animal ($P > 0,05$), cujo gráfico de funil (Fig. 2) apresentou uma distribuição mais simétrica dos estudos incluídos com predominância dos mesmos no ápice, o que evidencia um menor erro padrão dos manuscritos selecionados. A ausência de viés para estudos de prevalência da infecção em animais decorre do fato das pesquisas de prevalência e fatores de risco considerarem os animais como unidade amostral, quando os rebanhos constituem o parâmetro mais assertivo para a análise dos fatores de risco em decorrência das especificidades de cada propriedade (como manejo reprodutivo, sanitário e alimentar particulares a cada uma).

O mesmo não foi constatado quando aplicado ao cálculo para se obter a prevalência nos rebanhos ($P < 0,05$). Isto pode ser atribuído porque ao se considerar as propriedades como unidades amostrais o número mínimo de rebanhos para compor um estudo de prevalência com erro de 5% e intervalo de confiança de 95% em uma população infinita, seria de cerca de 400. Dos 32 estudos considerados para o cálculo da prevalência de rebanhos, 26 amostraram menos de 100 propriedades, com mediana de 47 e variação de 2 a 2018 rebanhos amostrados por estudo. Considerando 100 propriedades como “n” amostral mínimo, erro de 5% e intervalo de confiança de 95%, cada estudo deveria ser realizado em uma população de até 134 propriedades por estado ou região estudada, o que explica o viés detectado pelo teste de Egger para o cálculo de prevalência do BoAHV1 por rebanhos. Verifica-se a presença de viés, na Fig. 3, pela assimetria no gráfico de funil, onde se observa alguns estudos deslocados para fora do eixo e mais próximos a base, evidenciando maior erro padrão de acordo com Begg e Berlin (1988).

Tomando-se por base os parâmetros de prevalência, número de animais em risco no país, morbidade, período de susceptibilidade, subtipos virais de BoAHV1 que estão mais estreitamente relacionados ao aborto e os parâmetros reprodutivos, foi projetado um quantitativo de 258.779 abortos e um impacto econômico à pecuária de US\$ 48.402.244,00. O valor aqui relacionado às perdas em detrimento dos abortos relacionados ao BoAHV1 está aquém dos valores apontados por Reichel et al. (2013) que relatam uma perda anual de US\$ 152,3 milhões em decorrência dos abortos relacionados à *Neospora caninum*.

Os valores são passíveis de sofrer flutuações em virtude da variação de preço dos animais nas diferentes regiões do país. É importante destacar que o impacto econômico aqui colocado diz respeito às perdas diretas relacionadas à ocorrência do aborto e aos gastos de reposição dos animais nesses casos. Ao se considerar que incorrem também perdas indiretas em virtude dos impactos negativos no crescimento e reprodução (Biswas et al., 2013) e as demais formas de apresentação das infecções

herpéticas como a respiratória, ocular, neurológica, genital e reprodutiva (Junqueira & Alfieri, 2006; Nandi et al., 2009), infere-se que os valores aqui apresentados representam apenas uma parte de um custo maior.

De acordo com Can, Ataseven e Yalçın (2016), significativas alterações produtivas e de desempenho podem também ocorrer em vacas infectadas mesmo que não apresentem sinais clínicos ou problemas reprodutivos, o que reforça que as perdas ocasionadas são superiores quando se considera apenas o aborto como única entidade nosológica. Ainda de acordo com os autores, os custos relacionados às perdas não associadas ao aborto caracterizados por diminuição na produção leiteira (US\$ 177) e diminuição do peso dos animais (US\$ 154) representam 65,0% (US\$ 331) dos custos totais relacionados aos casos em que ocorre aborto. Hage et al. (1998) indicaram haver uma significativa associação estatística entre os animais infectados pelo BoAHV1 e uma queda na produção leiteira nos primeiros 14 dias infecção. Van Schaik et al. (1999) quantificaram que durante um surto causado pelo BoAHV1 houve uma queda na produção de 0,92Kg de leite por animal por dia durante o período de nove semanas. De acordo com Statham et al. (2015), as perdas estimadas por diminuição da produção chegam a 1.000Kg de leite por lactação nos animais soropositivos em comparação com animais soronegativos. As estimativas de Can et al. (2016), considerando a probabilidade de aborto, são de que a infecção pelo BoAHV1 ocasione um impacto de US\$ 379 por animal infectado.

Os valores orçados no presente estudo fornecem uma estimativa basal dos impactos econômicos e sanitários ocasionados pelas perdas diretas (aborto) associadas à infecção pelo BoAHV1 em bovinos no Brasil. Ações mais enérgicas relativas às devidas medidas sanitárias devem ser melhor conduzidas na planificação de estratégias preventivas no tocante não somente às infecções por BoAHV1, como das demais doenças reprodutivas de caráter infeccioso, como a instituição de programas sanitários de prevenção e controle por parte dos órgãos de fiscalização e defesa sanitária animal. No que diz respeito ao BoAHV1, a confecção de panfletos educativos, a ministração de palestras, propagandas em rádio e demais meios de comunicação constituem bons meios de informar ao produtor sobre os impactos econômicos, os riscos e a necessidade de adoção das devidas medidas sanitárias. Somam-se às ações de educação sanitária a instituição de medidas restritivas ao trânsito e comércio animal como a exigência de atestados de vacinação para bovinos.

Destaca-se que os resultados estimados neste estudo não representam a totalidade dos impactos ocasionados pelas infecções herpéticas em bovinos no Brasil, ao considerar apenas as perdas de mensuração direta, como o aborto. Para além das fronteiras nacionais, uma vez que países da União Europeia direcionam esforços para o controle e erradicação do BoAHV1 desde os anos 80 (Ackermann & Engels, 2006) e considerando os mecanismos de proteção alfandegários que possam ser adotados por países de economia e defesa sanitária mais consolidadas, BoAHV1 poderá constituir um entrave, em um

futuro próximo, ao comércio de animais de origem nacional, ocasionando possíveis embargos à pecuária bovina.

Conclusão

De forma análoga à biologia, as infecções por BoAHV1 consistem em uma problemática latente no que tange às estratégias sanitárias de contenção do agente ao mesmo tempo em que representa um custo para os produtores, do pequeno ao grande, que necessita de maior atenção na planificação e manutenção de um sistema produtivo. É possível concluir que o BoAHV1 se apresenta amplamente disseminado nos rebanhos nacionais, como se pode verificar pelos números apresentados pelos mais diferentes estudos, ocasionando, de forma silenciosa, significativos impactos econômicos, produtivos e sociais aos produtores brasileiros.

É imprescindível para a profilaxia da infecção pelo BoAHV1 a implementação de um programa, na forma de uma normativa, que contemple desde campanhas educativas sobre o risco da infecção até a exigência de atestado de vacinação para o comércio e trânsito animal em território nacional. As informações acerca dos impactos econômicos e riscos sanitários associados às doenças reprodutivas infecciosas dos bovinos precisam chegar ao produtor para que uma mudança no cenário nacional se concretize a médio-longo prazo. Para isso as agências de defesa sanitária animal e as instituições de ensino superior são essenciais para a planificação, assistência, educação e fiscalização das medidas profiláticas adequadas à promoção de uma boa sanidade dos rebanhos bovinos nacionais.

Referências

- Ackermann, M., Belak, S., Bitsch, V., Edwards, S., Moussa, A., Rockborn, G., & Thiry, E. (1990). Round table on infectious bovine rhinotracheitis/ infectious pustular vulvovaginitis virus infection diagnosis and control. *Veterinary Microbiology*, 23(1-4), 361-363. doi: 10.1016/0378-1135(90)90167-T.
- Ackermann, M., & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology*, 113(3-4), 293-302. doi:10.1016/j.vetmic.2005.11.043
- Afonso, I. B., Amoril, J. G., Alexandrino, B., Buzinaro, M. G., Medeiros, A. S. R., & Samara, S. I. (2010) Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) nas dez regiões de planejamento do estado de Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 11(4), 892-898. doi: 10.5216/cab.v11i4.6318.
- Alexandrino, B., Dias, F. C., Oliveira, M. C., Affonso, I. B., Pereira, G. T., & SAMARA, S. I. (2011) Herpesvirus bovino associado à diarreia viral bovina e à leucose enzoótica bovina. *Ars Veterinaria*, 27(3), 168-174.

- Alice, F. J. (1978). Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, 38(4), 919-920.
- Arruda, E. F., Silva, T. I. B., Aragão, B. B., Castro, R. S., & Gomes, Y. A. (2019). Soroprevalence of bovine alphaherpesvirus type 1 (BoHV-1) and risk factors associated with dairy properties of the municipality of Senador Guiomard, Acre, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 86(e1362018), 1-6. doi: 10.1590/1808-1657001362018.
- Ata, A., Kocamüftüoğlu, M., Hasircioğlu, S., Kale, M., & Gülay, M. Ş. (2012). Investigation of Relationship Between BOVINE herpesvirus-1 (BHV-1) Infection and Fertility in Repeat Breeding Dairy Cows in Family-Type Small Dairy Farms. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(4), 579-583. doi: 10.9775/kvfd.2011.5893.
- Barbosa, A. C. V. C., Brito, W. M. E. D., & Alfaia, B. T. (2005). Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no Estado de Goiás, Brasil. *Ciência Rural*, 35(6), 1368-1373.
- Barbosa, V. M., Gondim, C. C., Nasciutti, N. R., Oliveira, P. M., Alfieri, A. A., Fritzen, J. T. T., Headley, S. A., Saut, A. M., Berssaneti, F. T., & Saut, J. P. E. (2019). Risk factors associated with viral infections (BoHV-1 and BVDV) in crossbreed dairy herds with reproductive failures, Uberlândia, MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71(4), 1243–1250. doi: 10.1590/1678-4162-10326.
- Becker, A. S., Rodrigues, M. G., Orlandin, J. R., Menezes, P. Q., Matos, C. A., Wilsmann, D. E., Viana, A. E., & Rodrigues, P. R. C. (2015). Anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1 e o vírus da diarreia viral bovina em bovinos vacinados e não vacinados da região sul do estado do Rio Grande do Sul. *Science and Animal Health*, 3(2), 209-220.
- Begg, C. B., & Berlin, J. A. (1988). Publication Bias: A Problem in Interpreting Medical Data. *Journal of the Royal Statistical Society. Series A*, 151(3), 419-463. doi: 10.2307/2982993.
- Bennett, R. (2003). The ‘Direct Costs’ of Livestock Disease: The Development of a System of Models for the Analysis of 30 Endemic Livestock Diseases in Great Britain. *Journal of Agricultural Economics*, 54(1), 55-71. doi: 10.1111/j.1477-9552.2003.tb00048.x.
- Bezerra, D. C., Chaves, N. P., Sousa, V. E., Santos, H. P., & Pereira, H. M. (2012). Fatores de risco associados à infecção pelo Herpesvírus Bovino Tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros da região Amazônica maranhense. *Arquivos do Instituto Biológico*, 79(1), 107-111.
- Bezerra, N. P. C., Bezerra, D. C., Santos, H. P., Pereira, H. M., & Silva, A. L. A. (2019). 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*, 13(1), 5–12. doi: 10.21708/avb.2019.13.1.7818.

- Biswas, S., Bandyopadhyay, S., Dimri, U., & Patra, P. H. (2013). Bovine herpes virus-1 (BHV-1) - a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis and prophylaxis. *Veterinary Quarterly*, 33(2), 68-81. doi: 10.1080/01652176.2013.799301.
- Campos, F. S., Franco, A. C., Hübner, S. O., Oliveira, M. T., Silva, A. D., Esteves, P. A., Roehe, P. M., & Rijsewijk, F. A. M. (2009). High prevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. *Veterinary Microbiology*, 139(1–2), 67–73. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.05.015.
- Can, M. F., Ataseven, V. S., & Yalçın, C. (2016). Estimation of production and reproductive performance losses in dairy cattle due to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) infection. *Veterinarski Arhiv*, 86(4), 499-513.
- Cerqueira, R. B., Carminati, R., Silva, J. M., Soares, G. C., Meyer, R., & Sardi, S. (2000). Serological survey for bovine herpesvirus 1 in cattle from different regions in the state of Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 37(6), 497-500. doi:10.1590/S1413-95962000000600014.
- Chen, X., Wang, X., Qi, Y., Wen, X., Li, C., Liu, X., & Ni, H. (2018). Meta-analysis of prevalence of bovine herpes virus 1 in cattle in Mainland China. *Acta Tropica*, 187, 37-43. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.07.024.
- Deeks, J. J., Higgins, J. P. T., & Altman, D. G. (2020). Chapter 10: Analysing data and undertaking meta-analyses. In: Higgins, J. P. T., Thomas, J., Chandler, J., Cumpston, M., Li, T., Page, M. J., Welch, V. A. (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.1* (updated September 2020). Cochrane, 2020. Available from <https://training.cochrane.org/handbook/current/chapter-10>.
- Dias, J. A., Alfieri, A. A., Médici, K. C., Freitas, J. C., Ferreira Neto, J. S., & Müller, E. E. (2008). Risk factors for bovine herpesvirus 1 infection in cattle herds in the West region of Parana State. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 28(3), 161–168.
- Dias, J. A., Alfieri, A. A., Ferreira Neto, J. S., Gonçalves, V. S. P., & Müller, E. E. (2013). Seroprevalence and Risk Factors of Bovine Herpesvirus 1 Infection in Cattle Herds in the State of Paraná, Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, 60(1), 39–47. doi: 10.1111/j.1865-1682.2012.01316.x.
- Dias, M. M. (2006). *Análise da soroprevalência do herpesvírus bovino tipo 1 e do cortisol sérico em diferentes situações de manejo no Rio Grande do Sul*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

- Evers, F. (2015). *Soroepidemiologia de agentes associados às doenças reprodutivas em bovinos leiteiros do noroeste do estado do Paraná*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil.
- Fernandes, L. G., Denwood, M. J., Santos, C. S. A. B., Alves, C. J., Pituco, E. M., Romaldini, A. H. C. N., Stefano, E., Nielsen, S. S., & Azevedo, S. S. (2019). 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*, 169. doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.104705.
- Fernandes, L. A. M., Figueredo, V. C. S., Bezerra, A. R. A., Murta, D. C. R. X., Murta, D. V. F., Souza, R. B., Caldas, L. A. F., Barbosa, L. K. G. (2019b). Taxa de prenhez em vacas leiteiras com uso de programa de IATF na região Norte de Minas Gerais. *Brazilian Journal of Development*, 5(11), 24811-24815.
- Fino, T. C. M. (2011). *Anticorpos contra Herpesvírus Bovino Tipo 1 (HVB-1) e Vírus da Diarréia Bovina a Vírus (BVDV) em rebanhos da raça Crioula Lageana no Planalto Catarinense*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.
- Flores, E. F. (2017). *Virologia Veterinária: Virologia Geral e Doenças Víricas*. 3. ed. Santa Maria: UFSM.
- Frاندoloso, R., Anziliero, D., Spagnolo, J., Kuse, N., Fiori, C., Scortegagna, G. T., Barcellos, L. J. G., & Kreutz, L. C. (2008). Prevalência de leucose enzoótica bovina, diarreia viral bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 9(4), 1102-1106.
- Freitas, E. J. P. (2016). *Características epidemiológicas da infecção de bovinos jovens de corte, em rebanhos com alto trânsito animal, para BoHV-1, BVDV, BTV e Leptospira spp. no Estado do Maranhão*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- Freitas, E. J. P., Lopes, C. E. R., Moura FILHO, J. M., Sá, J. S., Santos, H. P., & Pereira, H. M. (2014). Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(3), 1301-1310. doi: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n3p1301>.
- Galvão, C. L., Doria, J. D., & Alice, F. J. (1962/1963). Anticorpos neutralizantes para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos, em bovinos do Brasil. *Boletim do Instituto Biológico da Bahia*, 6(1), 15-25.
- Graham, D. A. (2013). Bovine herpes vírus-1 (BoHV-1) in cattle-a review with emphasis on reproductive impacts and the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. *Irish Veterinary Journal*, 66, 14. doi:10.1186/2046-0481-66-15.

- Haas, D. J., Barbieri, J. M., Freitas, E. J. P., Oliveira, M. S., Porto, B. R., Rodrigueus, R. O., Heinemann, M. B., Almeida, A. C., Lobato, Z. I. P., Dorneles, E. M. S., & Lage, A. P. (2020). Seroprevalence and intercurrence of reproductive pathogens in cattle from family farms in North of Minas Gerais, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 41(1), 145–158. doi: 10.5433/1679-0359.2020v41n1p145.
- Hage, J. J., Schukken, Y. H., Dijkstra, Th., Barkema, H. W., Van Valkengoed, P. H. R., & Wentik, G. H. (1998). Milk production and reproduction during a subclinical bovine herpesvirus 1 infection on a dairy farm. *Preventive Veterinary Medicine*, 34, 97-106. doi: 10.1016/S0167-5877(97)00088-3.
- Higgins, J. P. T., & Thompson, S. G. (2002). Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Statistics in Medicine*, 21(11), 1539–1558. doi:10.1002/sim.1186.
- Holz, C. L., Cibulski, S. P., Teixeira, T. F., Batista, H. B. C. R., Campos, F. S., Silva, F. S., Silva, R. J., Varela, A. P. M., Cenci, A., Franco, A. C., & Roehe, P. M. (2009). Seroprevalence of bovine herpesvirus types 1 and/or 5 in the state of Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29(9), 767–773.
- Junqueira, J. R. C., & Alfieri, A. A. (2006). Falhas na reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para as causas infecciosas. *Semina: Ciências Agrárias*, 27(2), 289-298.
- Junquiera, J. R. C., Freitas, J. C., Alfieri, A. F., & Alfieri, A. A. (2006). Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. *Semina: Ciências Agrárias*, 27(3), 471-480. doi: 10.5433/1679-0359.2006v27n3p471.
- Knapp G, & Hartung J. (2003). Improved tests for a random effects meta-regression with a single covariate. *Statistics in Medicine*, 22(17), 2693–710.
- Lima, F. A. B. (2017). *Infeção pelo alphaherpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina e Brucella abortus em fêmeas bovinas de corte abatidas em um frigorífico sob SIF no estado do Maranhão*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.
- Lima, M. S., Nogueira, A. H. C., Okuda, L. H., Stefano, E., & Pituco, E. M. (2011). Pesquisa de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 em bovinos no Brasil. *Biológico*, 73(2), 214-218.
- Lovato, L. T., Weiblen, R., Tobias, F. L., & Moraes, M. P. (1995). Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB 1): inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, 25(3), 425-430. doi: 10.1590/S0103-84781995000300017.
- Marcías-Rioseco, M., Silveira, C., Fraga, M., Casaux, L., Cabrera, A., Francia, M. E., Robello, C., Maya, L., Zaronelli, L., Suanes, A., Colina, R., Buschiazzo, A., Giannitti, F., & Riet-Correa, F. (2020). Causes of abortion in dairy cattle in Uruguay. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 40(5), 325-332. doi: 10.1590/1678-5150-PVB-6550.

- Matos, P. F. (2004). *Rinotraqueíte Infecçiosa dos Bovinos/Vulvovaginite Pustulosa Infecçiosa (IBR/IPV): prevalência e incidência em bovinos leiteiros criados em cinco microregiões no Estado da Bahia*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Médici, K. C., Alfieri, A. A., & Alfieri, A. F. (2000). Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. *Ciência Rural*, 30(2), 347-350.
- Melo, C. B., Leite, R. C., Lobato, Z. I. P., & Leite, R. C. (2004). Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 119(2–3), 97–105. doi:10.1016/j.vetpar.2003.12.002.
- Melo, C. B., Lobato, Z. I. P., Camargos, M. F., Souza, G. N., Martins, N. R. S., & Leite, R. C. (2002). Distribuição de anticorpos para herpesvírus 1 em rebanhos bovinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 54(6), 575-580. doi: 10.1590/S0102-09352002000600003.
- Mendes, M. B., Bittar, J. F. F., Pereira, W. A. B., Arduino, G. G. C., Bittar, E. R., Panetto, J. C. C., & Santos, J. J. (2009). Determinação da prevalência das principais doenças da reprodução no rebanho bovino da região de Uberaba-MG. *Ciência Animal Brasileira*, 1, 772-777.
- Mineo, T. W., Alenius, S., Näslund, K., Montassier, H. J., & Björkman, C. (2006). Distribution of antibodies against *Neospora caninum*, BVDV and BHV-1 among cows in Brazilian dairy herds with reproductive disorders. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 15(4), 188–192.
- Miranda, I. C. S. (2012). *Fatores Associados à Infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina e pelo Herpesvírus Bovino tipo 1 em rebanhos leiteiros da Mesoregião Centro-Oriental do Rio Grande do Sul*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., & Altman, D. G. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Medicine*. 6(7), e1000097. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>.
- Nandi, S., Kumar, M., Manohar, M., & Chauhan, R. S. (2009). Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 10(1), 85-98. doi: 10.1017/S1466252309990028.
- OIE - World Organization For Animal Health. (2008). *Feeding the world better by controlling animal diseases*. Editoriais from the Director General. Disponível em: https://www.oie.int/index.php?id=201&tx_ttnews%5Btt_news%5D=458&cHash=a54e062304#:~:text=With%20regard%20to%20livestock%20production,recent%20years%20is%20now%20stabilising. Acesso em: 20 dez. 2020. Acesso em: 20/12/2020.
- Okuda, L. H., Aguiar, D.M., Cavalcante, G. T., Stefano, E., Del Fava, C., Pituco, E. M., Labruma, M. B., Camargo, L. M. A., & Gennari, S. M. (2006). Inquérito soro-epidemiológico do herpesvírus

- bovino tipo 1 (BoHV-1) no município de Montenegro, estado de Rondônia, Brasil. **Biológico**, 68, 157-159.
- Oliveira, R. A. M., Lorenzetti, E., Alfieri, A. A., & Lisbôa, J. A. N. (2015). Prevalence of latent infection with BoHV-1 and BoHV-5 in beef cattle of Parana, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 67(5), 1217–1225. doi: 10.1590/1678-4162-7496.
- Pasqualotto, W., Sehnem, S., & Winck, C. A. (2015). Incidência de rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD) e leptospirose em bovinos leiteiros da região oeste de Santa Catarina - Brasil. *Revista de Agronegócio e Meio Ambiente*, 8(2), 249-270.
- Pereira, E. C. M. (2011). *Detecção sorológica e molecular do herpesvírus bovino 1 em estruturas ovarianas de fêmeas bovinas*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.
- Pereira, P. A. C., Ferreira, A. M., Carvalho, L. B., Verneque, R. S., Henry, M., & Leite, R. C. (2013). Comparação dos índices de eficiência reprodutiva por diferentes métodos em rebanhos bovinos leiteiros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65(5), 1383-1388.
- Pereira, E. T. N.; Freitas Neto, F. E.; Cordeiro, A. L. S.; Silva, L. M. T. & Figueiredo, Y. N. (2021). Avaliação do escore de cio e sua influência na taxa de concepção em vacas nelore no norte de Minas Gerais. *Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara*, 2(3), 32-45.
- Piovesan, M., Fernandes, M. H. V., Corrêa, R. A., Prado, M. H. J., Camargo, A. D., & Rodrigues, P. R. C. (2013). Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina e vírus da leucose enzoótica bovina na Região da Campanha do estado do Rio Grande do Sul. *Science and Animal Health*, 1(1), 38-49.
- Pituco, E. M. (1988). *Ocorrência da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em rebanhos bovinos criados nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná e Minas Gerais*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Poletto, R., Kreutz, L. C., Gonzales, J. C., & Barcellos, L. J. G. (2004). Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do municípios de Passo Fundo, RS. *Ciência Rural*, 34(2), 595-598.
- Queiroz-Castro, V. L. D., Costa, E. P., Alves, S. V. P., Guimarães, J. D., Dohanik, V. T., Santos, M. R., Souza, L. F. L., Ribeiro, C. G., Caldas, R. T., & Silva-Júnior, A. (2019). Detection of bovine herpesvirus 1 in genital organs of naturally infected cows. *Theriogenology*, 130, 125–129. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.03.003.

- Quincozes, C. G. (2005). *Prevalência e fatores de risco associados às infecções pelos herpesvírus bovino tipo 1 e 5 (BHV-1 e 5) e pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) nos rebanhos dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H. & Grünberg, W. (2021). *Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos e Caprinos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Ran, X., Chen, X., Ma, L., Wen, X., Zhai, J., Wang, M., Tong, X., Hou, G., & Ni, H. (2019). A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle in China. *Acta Tropica*, 190, 296-303. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.08.031.
- Reichel, M. P., Ayanegui-Alcérrea, M. A., Gondim, L. F. P., & Ellis, J. T. (2013). What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – The billion dollar question. *International Journal for Parasitology*, 43, 133-142. doi: 10.1016/j.ijpara.2012.10.022.
- Rosa, C. O., Morotti, F., Bonato, D. V.; Souza, A. K., Silva, C. B., Diniz, L. T. & Seneda, M. M. (2017). Comparação da taxa de concepção com a utilização ou não de um potencializador de sêmen na inseminação artificial em tempo fixo em bovinos. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, 15(2), 331-332.
- Santos, M. R., Ferreira, H. C. C., Santos, M. A., Saraiva, G. L., Tafuri, N. F., Santos, G. M., Tobias, F. L., Moreira, M. A. S., Almeida, M. R., & Silva Júnior, A. (2014). Antibodies against bovine herpesvirus 1 in dairy herds in the state of Espírito Santo, Brasil. *Revista Ceres*, 61(2), 280–283.
- Sayers, R. G. (2017). Associations between exposure to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) and milk production, reproductive performance, and mortality in Irish dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 1340-1352. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11113>.
- Silva, B. P., Soares, L. B. F., Macêdo, A. A., Oliveira, J. M. B., Aragão, B. B., Nascimento, S. A., & Pinheiro Júnior, J. W. (2019). Seroprevalence and risk factors for bovine herpesvirus type 1 and occurrence of bovine viral diarrhoea virus infections in dairy cows in Pernambuco. *Medicina Veterinária (Brazil)*, 13(3), 399–405. doi: 10.26605/medvet-v13n3-3302.
- Silva, F. S., Oliveira, J. M. B., Batista Filho, A. F. B., Ribeiro, C. P., Pituco, E. M. & Pinheiro Junior, J. W. (2015). Análise epidemiológica da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos no Estado de Pernambuco. *Acta Scientiae Veterinarie*, 43, 1324.
- Silva, M. C. O. P. (2011). *Soroprevalência do Herpesvírus Bovino tipo 1 e 5 no Estado de São Paulo, Brasil*. Dissertação de Mestrado, Instituto Biológico, São Paulo, SP, Brasil.

- Sousa, V. E., Bezerra, D. C., Chaves, N. P., Santos, H. P., Pereira, H. M. (2013). Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(1), 21-25.
- Sponchiado, D. (2014). *Prevalência dos principais vírus respiratórios em bovinos da raça holandesa, no Estado do Paraná*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, Brasil.
- Statham, J. M., Randall, L. V., & Archer, S. C. (2015). Reduction in daily milk yield associated with subclinical bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary Record*, 177, 339. doi: 10.1136/vr.103105.
- Thompson, J. A., Leite, R. M. H., Gonçalves, V. S. P., Leite, R. C., Bandeira, D. A., Herrmann, G. P., Moreira, E. C., Prado, P. E. F., Lobato, Z. I. P., Brito, C. P. T., & Page, A. P. (2006). 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*, 76, 290-301. doi: 10.1016/j.prevetmed.2006.05.010.
- Thrusfield, M. (2005). *Veterinary Epidemiology*. Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Tomich, R. G. P., Serra, C. V., Bomfim, M. R. Q., Campos, F. S., Lobato, Z. I. P., Pellegrin, A. O., Pellegrin, L. A., & Barbosa-Stancioli, E. F. (2009). Reproductive diseases serosurvey in dairy cattle from rural settlements of corumbá city, mato grosso do sul state, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 61(4), 986–991.
- Van Schaik, G., Shoukri, M., Martin, S. W., Schukken, Y. H., Nielen, M., Hage, J. J., & Dijkhuizen, A. A. (1999). Modelling the effect of na outbreak of bovine herpesvirus type 1 on herd-level milk production of Dutch dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 944–952. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75313-0.
- Vaz, R. Z., & Lobato, J. F. P. (2010). Efeito da idade de desmame no desempenho reprodutivo de novilhas de corte expostas à reprodução aos 13/15 meses de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39,(1), 142-150.
- Vieira, S., Brito, W. M. E. D., Souza, W. J., Alfaia, B. T., & Linhares, D. C. L. (2003). Anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (BHV-1) em bovinos do estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, 4(2), 131-137.
- Wathes, D. C., Oguejiofor, C. F., Thomas, C., & Cheng, Z. (2020). Importance of Viral Disease in Dairy Cow Fertility. *Engineering*, 6(1), 26-33. doi: 10.1016/j.eng.2019.07.020.
- Zardo, R. (2017). *Prevalência e variáveis associadas à infecção por BoHV-1, BVDV, Leptospira spp. e Neospora caninum em bovinos leiteiros no município de Novo Xingu-RS*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

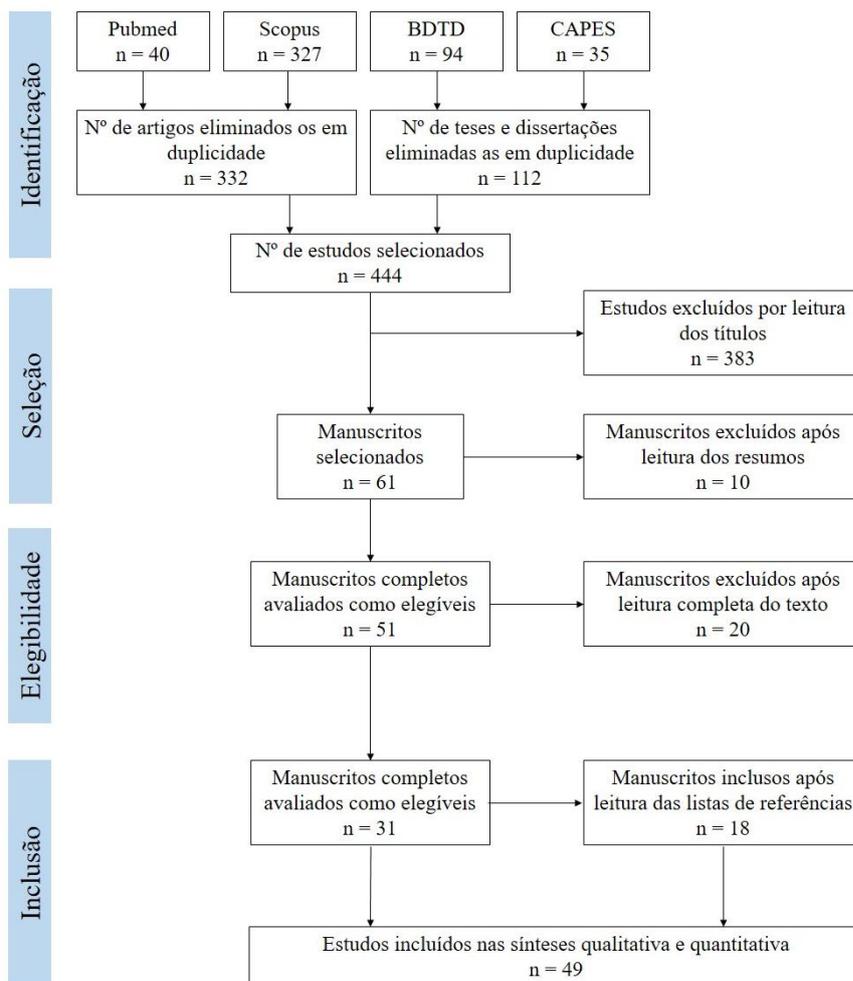


Fig. 1. Fluxograma de seleção dos estudos para inclusão na revisão sistemática

Tabela 1: Estudos selecionados para compor a revisão sistemática divididos por região

Autores	Região	Estado	População de animais			Propriedades		
			Bovinos	Positivos	%	Rebanhos	Positivos	%
Okuda et al. (2006)	N	RO	1988	1715	86,26	85	85	100
Arruda et al. (2019)	N	AC	180	110	61,11			
Cerqueira et al. (2000)	NE	BA	558	314	56,27	15	13	86,66
Matos (2004)	NE	BA	764	145	18,97	13	13	100
Thompson et al. (2006)	NE	PB	2343	1093	46,6	72	72	100
Bezerra et al. (2012)	NE	MA	920	656	71,3	92	92	100
Sousa et al. (2013)	NE	MA	160	108	67,5	4	4	100
Freitas et al. (2014)	NE	MA	1104	698	63,23	48	48	100
Silva et al. (2015)	NE	PE	380	302	79,5	20	20	100
Freitas (2016)	NE	MA	2455	753	30,67	86	67	77,91
Lima (2017)	NE	MA	364	313	85,96			
Fernandes et al. (2019)	NE	PB	2443	1584	64,8	478	418	87,4
Bezerra et al. (2019)	NE	MA	160	109	68,12	16	16	100
Silva et al. (2019)	NE	PE	356	188	52,8	18	18	100
Vieira et al. (2003)	CO	GO	790	656	83,03	90	87	96,66
Barbosa; Brito; Alfaia (2005)	CO	GO	6932	3596	51,87	894	881	98,54
Tomich et al. (2009)	CO	MS	352	179	50,85	4	4	100
Afonso et al. (2010)	CO	GO	660	558	84,54			
Melo et al. (2002)	SE	MG	997	318	31,89			
Melo et al. (2004)	SE	MG	476	162	34	15	13	86,66
Junqueira et al. (2006)	SE	SP	208	142	68,26			
Mineo et al. (2006)	SE	MG	230	172	74,78	2	2	100
Mendes et al. (2009)	SE	MG	126	101	80,15			
Alexandrino et al. (2011)	SE	MG;SP	278	152	54,67	5	5	100
Pereira (2011)	SE	MG	140	117	83,57			
Silva (2011)	SE	SP	6902	4856	70,35	1073		
Dias et al. (2013)	SE	PR	14803	7125	59	2018	1481	71,38
Santos et al. (2014)	SE	ES	1161	775	66,75	59	59	100
Barbosa et al. (2019)	SE	MG	264	165	62,5	20		
Queiroz-Castro et al. (2019)	SE	MG	75	41	54,7			
Haas et al. (2020)	SE	MG	476	231	48,6	46	45	97,5
Médice; Alfieri; Alfieri (2000)	S	PR	1235	540	43,72	81	75	92,59
Poletto et al. (2004)	S	RS	204	67	32,84	28	26	92,85
Quincozes (2005)	S	RS	1734	540	31,14	85	72	84,7
Dias (2006)	S	RS	1516	443	29,22	1		
Dias et al. (2008)	S	PR	1930			295	190	64,41
Franceloso et al. (2008)	S	RS	765			26	15	57,69
Campos et al. (2009)	S	RS	200	144	72			
Holz et al. (2009)	S	RS	2200	538	24,45	390		
Fino (2011)	S	SC	309	84	27,18	6	6	100
Miranda (2012)	S	RS				269	75	27,88
Piovesan et al. (2013)	S	RS	2794	1654	59,19	157		
Sponchiado (2014)	S	PR	714	159	22,3	26	17	65,3
Becker et al. (2015)	S	RS	1224	299	24,42	93		
Evers (2015)	S	PR	363	216	59,5	32	30	93,8
Oliveira et al. (2015)	S	PR	400	70	17,5	90	35	38,9
Pasqualotto et al. (2015)	S	SC	842	482	57,54	195		
Zardo (2017)	S	RS	258	24	9,3			
Lima et al. (2011)	BR	21 estados	4460	3079	69,03	317	250	78,86

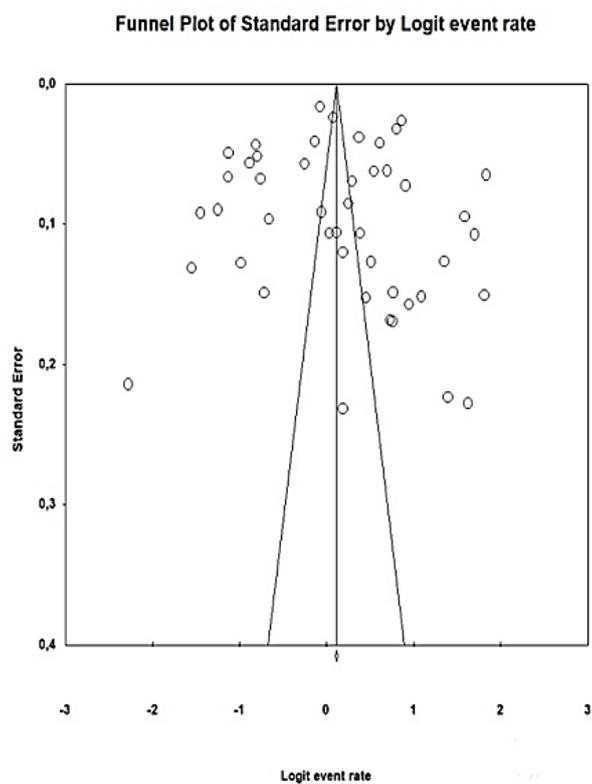


Fig. 2. Gráfico de funil apresentando distribuição assimétrica dos estudos de prevalência para do BoAHV1 dentre a população de bovinos no Brasil

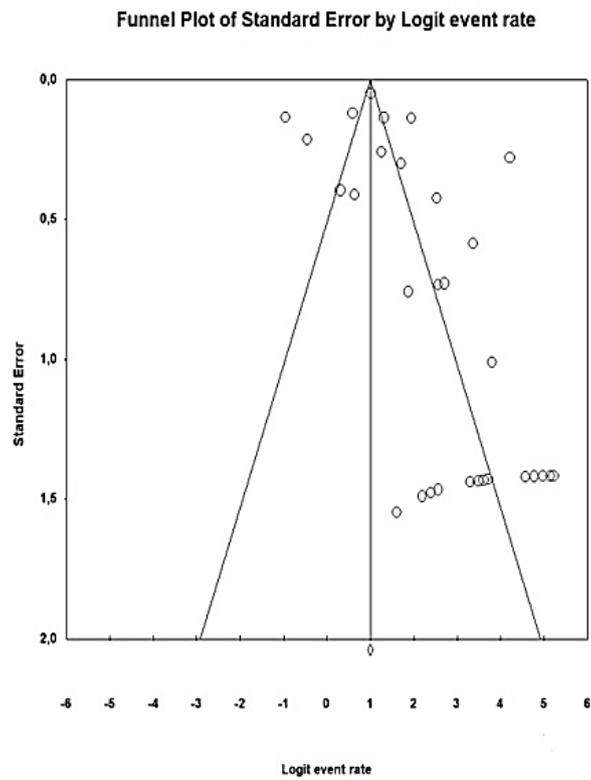


Fig. 3. Gráfico de funil apresentando distribuição assimétrica dos estudos de prevalência do BoAHV1 dentre os rebanhos de bovinos no Brasil

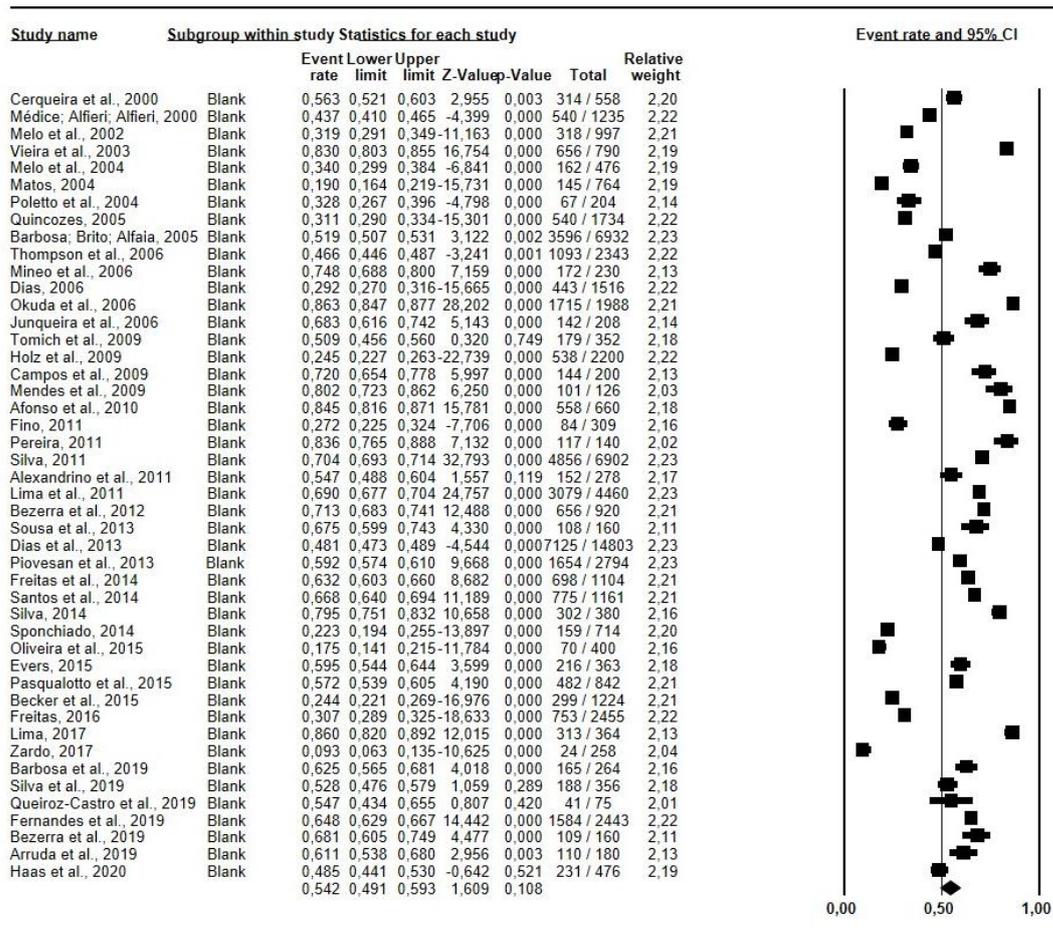


Fig. 4. Prevalência da infecção do BoAHV1 na população bovina no Brasil

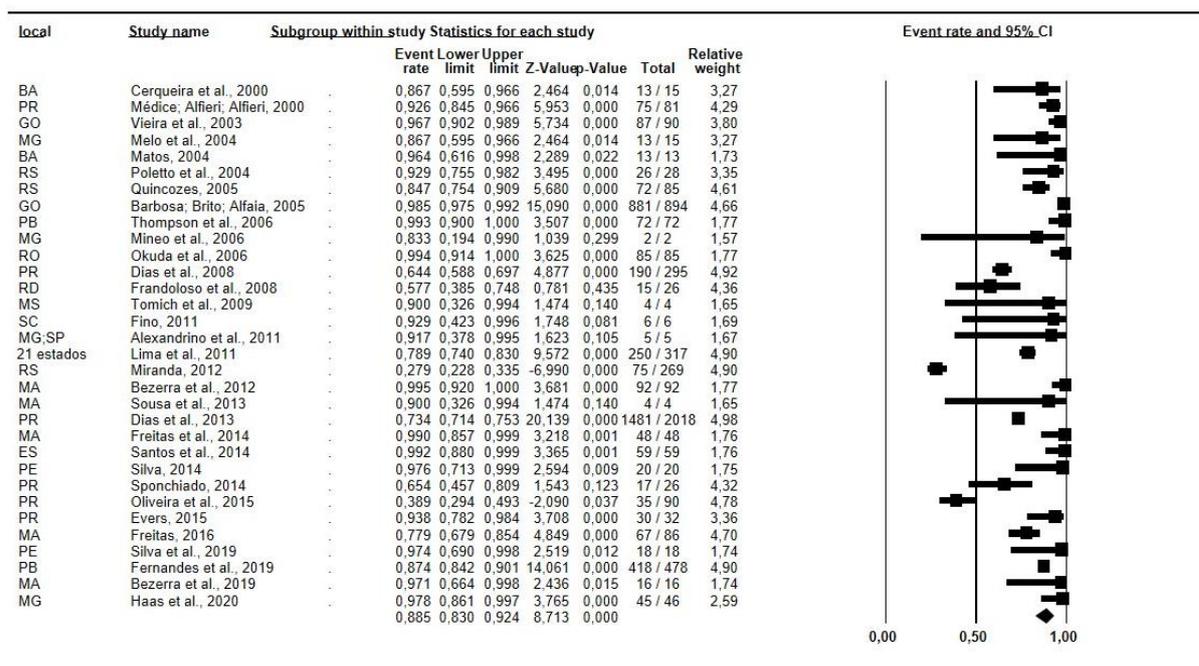


Fig. 5. Prevalência da infecção do BoAHV1 nos rebanhos bovinos no Brasil

CAPÍTULO 3: ALFAHERPESVÍRUS ISOLADOS EM BOVINOS COM QUADRO NEUROLÓGICO NA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL

Resumo

Objetivou-se com esta pesquisa isolar alfa herpesvírus (BoAHV1 e BoAHV5) em bovinos com quadro neurológico atendidos na Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE, no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2020. Para tanto foram coletados fragmentos de sistema nervoso central (SNC) de 81 animais que foram à óbito com quadro neurológico. As amostras foram coletadas em tubos contendo Meio Essencial Mínimo (MEM) adicionado de antibióticos e inoculadas em cultivo celular para observação de efeito citopático ao final de três passagens de células, com 72 horas de duração cada passagem. As amostras em cultivo celular, ao final das passagens, foram submetidas à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para identificação do alfa herpesvírus bovino 1 (BoAHV1) e alfa herpesvírus bovino 5 (BoAHV5), amplificando um produto de 364 e 159pb, respectivamente. Nenhum dos animais foi positivo para BoAHV5, porém 4,93% das amostras (4/81) foram positivas para BoAHV1 e dentre os animais em que o vírus foi isolado, foram constatados sinais como ataxia, cegueira, movimentos de pedalagem, alterações comportamentais que variaram de apatia à agitação, fasciculações musculares, hiperestesia e opistótono. Esse é o primeiro registro do isolamento de BoAHV1 em fragmentos de SNC de bovinos com quadro neurológico no estado de Pernambuco. Destaca-se a importância de se considerar a infecção por BoAHV1 como um dos diagnósticos diferenciais para os animais que apresentarem quadro clínico neurológico e ressalta-se a importância do uso das ferramentas de diagnóstico molecular, como a PCR, para uma melhor acurácia diagnóstica, visto que muitos dos diagnósticos de doenças neurológicas são inconclusivos.

Palavras-chave: Raiva, vírus da IBR, doença neurológica

INTRODUÇÃO

Desde o relato da ocorrência da encefalopatia espongiforme bovina, na metade da década de 80 (WELLS et al., 1987), que as doenças neurológicas ganharam maior destaque tanto pela questão de saúde pública, quanto pelas perdas agropecuárias e embargos sanitários (SANCHES et al., 2000; RIBAS et al., 2013). As doenças neurológicas constituem em um desafio para o clínico em detrimento não apenas da similaridade dos sinais como também frente à quantidade de causas, infecciosas ou não, que podem as ocasionar (QUEIROZ et al., 2018).

Casos de meningoencefalite não supurativa têm sido classicamente atribuídos ao alfa herpesvírus bovino 5 (BoAHV5) (RIET-CORREA et al., 2006; RISSI et al., 2008; GALIZA et al., 2010; BLUME et al., 2018; PUPIN et al., 2019), enquanto que o alfa herpesvírus bovino 1 tem sido historicamente associado a sinais clínicos restritos ao trato respiratório superior, alterações do trato reprodutivo e abortos na espécie bovina (MUYLKENS et al., 2007; NANDI et al., 2009). Contudo, há estudos que indicam o alfa herpesvírus bovino 1 (BoAHV1), vírus causador da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), como também responsável por quadros clínicos neurológicos em ruminantes (ROELS et al., 2000; PENNY et al., 2002; RISSI et al., 2008).

Bovine alpha herpesvirus 1 (BoAHV1) pertence a ordem *Hesperivirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alpha herpesvirinae*, gênero *Varicellovirus* (ICTV, 2018). A característica mais importante dos membros dessa família reside na capacidade de estabelecer latência no gânglio trigêmeo, permitindo que o vírus se perpetue no organismo animal por toda vida sendo reativado em períodos de queda de imunidade, permitindo sua perpetuação nos rebanhos bovinos acometidos (ENGELS; ACKERMANN, 1996; RAAPERI et al., 2014).

As infecções ocorrem em bovinos no mundo inteiro (PEREZ et al., 2002; ROMERO-SALAS et al., 2013), apresentando níveis de prevalência no Brasil que podem variar de 9,3% (ZARDO, 2017) a 86,2% (OKUDA et al., 2006), não dificilmente alcançando níveis de 100% de rebanhos acometidos pelo BoAHV1 (MATOS, 2004; THOMPSON et al., 2006; BEZERRA et al., 2012; SOUSA et al., 2013; BEZERRA et al., 2019; SILVA et al., 2019).

Em virtude da sua elevada prevalência na população bovina e sua associação ainda pouco relatada como agente causal de quadros clínicos neurológicos, quando comparada às formas clássicas de apresentação como a vulvovaginite pustular infecciosa (IVP), balanopostite pustular infecciosa (IBP), rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e abortos, objetivou-se com esta pesquisa relatar o isolamento do BoAHV1 como agente etiológico associado à bovinos com quadro neurológico.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob o número 60/2017

Área de estudo e amostragem

O estudo foi realizado na região intermediária de Caruaru a partir dos animais recebidos para atendimento da casuística na Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE, no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2020. Durante esse período, foram coletadas amostras de sistema nervoso central de 81 bovinos submetidos à necropsia.

Coleta de material biológico

Para compor o estudo foram utilizados fragmentos de sistema nervoso central de bovinos submetidos a exame de necropsia, com sinais clínicos neurológicos. Foram coletados fragmentos do gânglio trigêmeo, cerebelo, tálamo, telencéfalo e medula cervical – armazenados em *pool*. Todos os fragmentos foram armazenados em tubos Falcon de 15mL com Meio Essencial Mínimo (MEM), sendo mantidos congelados a -20°C para posterior análise.

Análise laboratorial

Isolamento Viral

As amostras coletadas foram processadas de acordo com o descrito por Claus et al. (2007) e observada a ocorrência de efeito citopático em células em meio de

cultura inoculadas e mantidas em microplacas de 24 poços com controle positivo – BoAHV1 (Los Angeles) e BoAHV5 (AA01) – e negativo, onde cada amostra foi inoculada em triplicata e avaliadas diariamente, sendo ao final de três passagens, cada uma com 72 horas, emitido diagnóstico positivo, quando verificada a ocorrência do efeito, ou negativo quando não houve efeito citopático, conforme descrito por Silva et al. (2007).

Extração de DNA e detecção do DNA genômico do BoAHV1

As amostras que apresentaram efeito citopático foram submetidas à extração de DNA usando o *kit* comercial “QIAamp DNA Stool Mini Kit” (Qiagen®), conforme o protocolo do fabricante. Para diferenciar entre o BoAHV1 e BoAHV5, após a extração do DNA das amostras, foi realizada a amplificação do mesmo conforme metodologia de Claus et al. (2007), usando as sequências de *primers* B1 (5'CAA CCG AGA CGG AAA GCT CC3' - nt 185-204); B5 (5'CGG ACG AGA CGC CCT TGG 3' - nt 322-339) e Bcon [5'AGT GCA CGT ACA GCG GCT CG 3' - nt 519-538 (BoHV1) e nt 461-480 (BoHV5)], amplificando produtos, por meio de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), de 364 e 159pb para, respectivamente, BoHV1 e BoHV5. Como controle positivo das reações utilizou-se o DNA dos referentes vírus – BoHV1 (Los Angeles) e BoHV5 (AA01) em cultivo celular, sendo o produto amplificado visualizado em eletroforese de gel de agarose a 2% corados *Blue Green* (LGCbio), visualizados através de luz ultravioleta e fotodocumentado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as amostras submetidas ao cultivo celular, 4,93% das amostras (4/81) apresentaram efeito citopático. As amostras que apresentaram efeito foram submetidas à PCR para o BoAHV1 e BoAHV5, sendo confirmadas as quatro amostras isoladas para BoAHV1. Esse é o primeiro registro do isolamento de BoAHV1 em fragmentos de Sistema Nervoso Central de bovinos com quadro neurológico no estado de Pernambuco.

As amostras isoladas eram referentes a quatro bovinos (4/81) que apresentaram sinais clínicos neurológicos como ataxia, cegueira, movimentos de pedalagem, alterações comportamentais que variaram de apatia à agitação, fasciculações musculares, hiperestesia e opistótono. Em 100% dos casos que se isolou BoAHV1 na forma infecciosa, observou-se associação com outras enfermidades, tais como: como raiva (1), hepatite/nefrite bacteriana (1), anaplasmoses (1) e encefalite/endocardite bacteriana (1), o que demonstra a natureza oportunista do agente.

Silva et al. (2007) identificaram 40 amostras de BoAHV como responsável por ocasionar quadros respiratórios, reprodutivos e neurológicos em bovinos, sendo que dentre estes, 26 casos estavam associados exclusivamente a doença neurológica sendo cinco amostras (19,3%) de BoAHV1 isolados ou detectados do encéfalo de bovinos, evidenciando o papel do BoAHV1 no desencadeamento de quadros clínicos neurológicos dentre os animais portadores desta condição (5/26) devido à infecções herpéticas.

Dentre os 81 animais analisados neste estudo, 30 foram positivos para a raiva confirmados por exames histopatológicos, imunofluorescência ou por bioensaio. Outros estudos identificaram a ocorrência concomitante de infecções com o vírus rábico, tanto por BoAHV5 (SPILKI et al., 2003), quanto por BoAHV1 (BATISTA et al., 2010). Não é possível afirmar até que ponto as infecções herpéticas podem ser reativadas por infecções concomitantes como a raiva, diferentemente do descrito por Batista et al. (2010), pois o curso clínico pode não ser suficiente a ponto de se ter uma efetiva reativação viral o que permitiria a detecção de partículas infecciosas no encéfalo.

Um dos animais com resultado positivo para o isolamento do BoAHV (424/19) e diagnosticado com encefalite bacteriana, era um garrote Jersey de um ano de idade, que apresentou, além dos sinais neurológicos, sinais de caráter respiratório como cansaço, secreção nasal, polipneia e creptações pulmonares. Esse animal havia sido comprado há 15 dias de uma propriedade localizada no estado de Santa Catarina. O animal apresentava apenas claudicação e se alimentava bem, sendo medicado com diclofenaco durante cinco dias sem apresentar melhora. Após entrar em decúbito,

apresentou fraqueza dos membros torácicos e sem apetite, o animal veio a óbito em 24 horas após a entrada para atendimento.

Os sinais clínicos apresentados pelo animal 424/19 são compatíveis com os apresentados por aqueles acometidos pela infecção por BoAHV1, uma vez que esse agente pode causar sinais de doença respiratória, reprodutiva e neurológica (NANDI et al., 2009; RISSI et al., 2008). Penny et al. (2002) descrevem a ocorrência de um quadro de comprometimento do trato respiratório superior e sinais clínicos neurológicos concomitantes associados ao BoAHV1 em bovinos de corte neonatos, destacando que essa condição pode se fazer presente em um pequeno percentual de animais acometidos.

Destaca-se no histórico do animal a procedência de uma região onde há relatos da ocorrência de quadros clínicos neurológicos associados à BoAHV1 (SILVA et al., 2007; RISSI et al., 2008; BATISTA et al., 2010). O transporte já foi relatado como fator estressante e associado à reativação viral da latência (THIRY et al., 1987), o que pode estar associado não necessariamente ao desencadeamento dos sinais neurológicos, mas à manutenção de um estado imunologicamente depressor que propicie o agravamento das lesões com consequente apresentação dos sinais clínicos. De acordo com Marin et al. (2015) é provável que os mecanismos imunológicos nos sítios de replicação primária ou nos primeiros estágios de replicação no cérebro desempenhem um papel na determinação da taxa de replicação e disseminação do BoAHV-1 no tecido neurológico.

Outros estudos também identificaram BoAHV1 como agente associado ao desenvolvimento de quadros clínicos neurológicos (ROELS et al., 2000; RISSI et al., 2008; BATISTA et al., 2010). Embora não comumente associado às lesões encefálicas, BoAHV1 tem um papel ainda subestimado no que diz respeito ao desenvolvimento de tais quadros, dada a sua clássica associação com sinais clínicos respiratórios e reprodutivos, conforme documentado pela literatura (MUYLKENS et al., 2007; NANDI et al., 2009; GRAHAM, 2013).

No Brasil a raiva é uma das principais infecções responsáveis por quadros clínicos neurológicos em bovinos (ARRUDA et al., 2016; GALIZA et al., 2010; LEMOS,

2005; PUPIN et al., 2019; RIBAS et al., 2013; RISSI et al., 2010; TERRA et al., 2018), desta forma, faz-se necessário que não somente as infecções herpéticas, incluindo pelo BoAHV1, sejam consideradas no diagnóstico diferencial da raiva como também que ferramentas de diagnóstico mais precisas, como o uso de PCR, sejam utilizadas com maior frequência para o correto diagnóstico, uma vez que boa parte das enfermidades neurológicas são inconclusivas (LEMOS, 2005; RIBAS et a., 2013).

CONCLUSÃO

Uma vez que foram isoladas partículas virais infecciosas de BoAHV1 de bovinos com sinais clínicos neurológicos, reforça-se a necessidade da inclusão desse agente no diagnóstico das doenças neurológicas. Dentro desse contexto, reitera-se a importância da utilização da PCR como método diagnóstico auxiliar na rotina laboratorial.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, F. P.; LIMA, H. C. G.; RONDELLI, L. A. S.; MORAES, L. G.; PESCADOR, C. A.; COLODEL, E. M. Caracterização morfológica de doenças do sistema nervoso central em bovinos no estado de Mato Grosso, Brasil, 2005-2014. In: Resumos ENDESA. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**. v. 14, n. 2, p. 86-87, 29 ago. 2016.
- BATISTA, H. B. C. R.; SCHMIDT, E.; SPILKI, F. R.; FRANDO, A. C.; ROEHE, P. M. 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**, v. 62, n 5, p. 1023-1028, 2010.
- BEZERRA, D. C.; CHAVES, N. P.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Fatores de risco associados à infecção pelo Herpesvírus Bovino Tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros da região Amazônica maranhense. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 1, p. 107-111, 2012.
- BEZERRA, N. P. C.; BEZERRA, D. C.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M.; SILVA, A. L. A. 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, p. 5–12, 2019. doi: 10.21708/avb.2019.13.1.7818.

BLUME, G. R.; SILVA, L. F.; BORGES, J. R. J.; NAKAZATO, L.; TERRA, J. P.; RABELO, R. E.; VULCANI, V. A. S.; SANT'ANA, F. J. F. Caracterização etiológica, epidemiológica e clínico-patológica da meningoencefalite por herpesvírus bovino em bovinos no Estado de Goiás. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38, n. 5, p. 902–912, 2018.

CLAUS, M. P.; ALVIERI, A. F.; MÉDICI, K. C.; LUNARDI, M.; ALFIERI, A. A. Bovine herpesvirus 5 detection by virus isolation in cell culture and multiplex-pcr in central nervous system from cattle with neurological disease in brazilian herds. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 38, p. 485-490, 2007.

ENGELS, M; ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminat herpesvirus infections. **Veterinary Microbiology**. v. 53, p. 3-15, 1996.

GALIZA, G. J. N.; SILVA, M. L. C. R.; DANTAS, A. F. M.; SIMÕES, S. D. V.; RIET-CORREA, F. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 30, n 3, p. 267-276, 2010.

GRAHAM, D. A. Bovine Herpes vírus-1 (BoHV-1) in cattle – a review with emphasis on reproductive impacts na the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. **Irish Veterinary Journal**. v. 66, p. 1-15, 2013.

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses: Taxonomy. [S. l.], 2018. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/>. Acesso em: 16 mar. 2021.

LEMONS, R. A. A. **Enfermidades dos sistema nervoso de bovinos de corte das regiões centro-oeste e sudeste do Brasil**. 2005. 150 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, SP. 2005.

MARIN, M. S.; LEUNDA, M. R.; VERNA, A. E.; MORÁN, P. E.; ODEÓN, A. C.; PÉREZ, S. E. Distribution of bovine herpesvirus type 1 in the nervous system of experimentally infected calves, **The Veterinary Journal**, n. 209, p. 82-86, 2015.

MATOS, P. F. **Rinotraqueíte Infeciosa dos Bovinos/Vulvovaginite Pustulosa Infeciosa (IBR/IPV): prevalência e incidência em bovinos leiteiros criados em cinco microregiões no Estado da Bahia**. Orientador: Eduardo Harry Birgel. 2004. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

MUYLKENS, B.; THIRY, J.; KIRTEN, P.; SCHYNTS, F. THIRY, F. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**. v. 38, p. 181-209, 2007.

NANDI, S.; KUMAR, M.; MANOHAR, M.; CHAUCHAN, R. S. Bovine herpes vírus infection in cattle. **Animal Health Research Reviews**. v. 10, n. 1, p. 85-89, 2009.

OKUDA, L. H.; AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G. T.; STEFANO, E.; DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; LABRUMA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Inquérito soro-epidemiológico do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) no município de Montenegro, estado de Rondônia, Brasil. **Biológico**, v. 68, supl., p. 157,159, 2006.

- PENNY C. D.; HOWIE, F.; NETTLETON, P. F.; SCHOCK, A. Upper respiratory disease and encephalitis in neonatal beef calves caused by bovine herpesvirus type 1. **Veterinary Record**, v. 151, p. 89-91, 2002.
- PEREZ, S. E.; BRETSCHEIDER, G.; LEUNDA, M. R.; OSORIO, E. A.; FLORES, E. F.; ODEÓN, A. C. Primary Infection, Latency, and Reactivation of Bovine Herpesvirus Type 5 in the Bovine Nervous System. **Veterinary Pathology**. v. 39, p. 437-444, 2002.
- PUPIN, R. C.; LEAL, P. V.; PAULA, J. P. L.; GUIZELINI, C. C.; MÖCK, T. B. M.; LEMOS, R. A. A.; GOMES, D. C. Cattle diseases in Mato Grosso do Sul, Brazil: a 24-year survey (1995-2018). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 39, n. 9, p. 686-695, 2019.
- QUEIROZ, G. R.; OLIVEIRA, R. A. M.; FLAIBAN, K. K. M. C.; DI SANTIS, G. W.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; HEADLEY, S. A.; ALFIERI, A. A.; LISBÔA, J. A. N. Diagnóstico diferencial das doenças neurológicas dos bovinos no estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 7, p. 1264-1277, 2018.
- RAAPERI, K.; ORRO, T.; VILTROP, A. Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. **The Veterinary Journal**. v. 201, p. 249-256, 2014.
- RIBAS, N. L. K. S.; CARVALHO, R. I.; SANTOS, A. C.; VALENÇOELA, R. A.; GOUVEIA, A. F.; CASTRO, M. B.; MORI, A. E.; LEMOS, R. A. A. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 33, n. 10, p.1183-1194, 2013.
- RIET-CORREA, G.; DUARTE, M. D.; BARBOSA, J. D.; OLIVEIRA, C. M. C.; CERQUEIRA, V. D.; BRITO, M. F.; RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Herpesvírus bovino-5 no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 26, n. 1, p. 44-46, 2006.
- RISSI, D. R.; PIEREZAN, F.; SILVA, M. S.; FLORES, E. F.; BARROS, C. S. L. Neurological disease in cattle in southern Brazil associated with Bovine herpesvirus infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 20, p. 346-349, 2008.
- RISSI, D. R.; PIEREZZAN, F.; OLIVEIRA-FILHO, J. C.; LUCENA, R. B.; CARMO, P. M. S.; BARROS, C. S. L. Abordagem diagnóstica das principais doenças do sistema nervoso de ruminantes e equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 11, p. 958-967, 2010.
- ROELS, S.; CHARLIER, G.; VANOPDENBOSCH, E.; LETELLIER, C.; KERKHOFS, P.; MEYER, G.; SCHYNTS, F.; THIRY, E. Natural case of bovine herpesvirus 1 meningoencephalitis in an adult cow. **Veterinary Record**, v. 146, p.586–588, 2000.
- ROMERO-SALAS, D.; AHUJA-AGUIRRE, C.; MONTIEL-PALACIOS, F.; GARCÍA-VÁZQUEZ, Z.; CRUZ-ROMERO, A.; AGUILAR-DOMÍNGUEZ, M. Seroprevalence and risk factors associated with infectious bovine rhinotracheitis in unvaccinated cattle in southern Veracruz, Mexico. **African Journal of Microbiology Research**. v. 7, n. 17, p. 1716-1722, 2013.

SANCHES, A. W. D.; LANGOHR, I. M.; STIGGER, A. L.; BARROS, C. S. L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 3, p.113-118, 2000.

SILVA, B. P.; SOARES, L. B. F.; MACÊDO, A. A.; OLIVEIRA, J. M. B.; ARAGÃO, B. B.; NASCIMENTO, S. A.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W. Seroprevalence and risk factors for bovine herpesvirus type 1 and occurrence of bovine viral diarrhoea virus infections in dairy cows in Pernambuco. **Medicina Veterinária (Brazil)**, v. 13, n. 3, p. 399–405, 2019. doi: 10.26605/medvet-v13n3-3302

SILVA, M. S.; BRUM, M. C. S.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Identificação e diferenciação de herpesvírus bovino tipo 1 e 5 isolados de amostras clínicas no centro do Brasil, Argentina e Uruguai (1987-2006). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 27, n. 10, p. 403-408, 2007.

SOUSA, V. E.; BEZERRA, D. C.; CHAVES, N. P.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.35, n. 1, p.21-25, 2013.

SPIPKI, F.R.; FRANCO, A.C.; TEIXEIRA, M.B.; ESTEVES, P. A.; SCHAEFER, R.; SCHMIDT, E.; LEMOS, R. A.; ROEHE, P. M. Bovine herpesvírus type 5 (BHV-5) in a calf with rabies 1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, p.1-4, 2003.

TERRA, J. P.; BLUME, G. R.; RABELO, R. E.; MEDEIROS, J. T.; ROCHA, C. G. N.; CHAGAS, I. N.; AGUIAR, M. S.; SANT'ANA, F. J. F. Neurological diseases of cattle in the state of Goiás, Brazil (2010-2017). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38, n. 9, p. 1752-1760, 2018.

THOMPSON, J. A.; LEITE, R. M. H.; GONÇALVES, V. S. P.; LEITE, R. C.; BANDEIRA, D. A.; HERRMANN, G. P.; MOREIRA, E. C.; PRADO, P. E. F.; LOBATO, Z. I. P.; BRITO, C. P. T.; PAGE, A. P. 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. 76, p. 290-301, 2006. doi: 10.1016/j.prevetmed.2006.05.010.

THIRY, E.; SALIKI, J.; BUBLOT, M.; PASTORET, P. P. Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transport. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious diseases**. v. 10, n. 1, p. 59-63, 1987.

WELLS, G. A.; SCOTT, A. C.; JOHNSON, C. T.; GUNNING, R. F. HANCOCK, R. D.; JEFFREY, M. DAWSON, M. BRADLEY, R. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. **Veterinary Record**, v. 121, p. 419-420, 1987. doi: 10.1136/vr.121.18.419.

ZARDO, R. **Prevalência e variáveis associadas à infecção por BoHV-1, BVDV, *Leptospira* spp. e *Neospora caninum* em bovinos leiteiros no município de Novo Xingu-RS**. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado em Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A infecção em bovinos por BoAHV1 e BoAHV5 é negligenciada em detrimento de outras enfermidades que acometem os bovinos, sobretudo na região Nordeste do Brasil onde a raiva segue como uma das principais enfermidades neurológicas de ruminantes. Ainda colocados como de relevância secundária, com relação aos agravos em potencial que podem ocasionar, os alfa herpesvírus referidos precisam ser entendidos como potenciais patógenos que ocasionam sinais neurológicos em ruminantes, como demonstrado nesta pesquisa onde foram identificados animais acometidos com sinais clínicos neurológicos tanto pelo BoAHV1 quanto pelo BoAHV5. Além disso, sua alta ocorrência nos rebanhos nacionais somada à sua capacidade de estabelecer latência e reativar deste estado, faz com que os animais acometidos eliminem partículas virais para outros animais, e, portanto permaneçam como fontes de infecção, sejam na condição de doentes ou portadores, responsáveis pela ocorrência enzoótica da doença, que se somam, dentre outras formas de apresentação clínica, às causas de aborto, ocasionando perdas aos produtores e representa um impacto não somente no contexto da microeconomia, mas também em certos aspectos sociais de difícil mensuração.

É necessário destacar a importância da PCR como ferramenta auxiliar na diferenciação tanto de BoAHV1 quanto de BoAHV5. Por último e não menos importante, enfatiza-se a importância da adoção de medidas mais concisas na forma de políticas sanitárias com a elaboração de normativas sanitárias de proteção à sanidade animal.

**ANEXO 1: ARTIGO ACEITO PELA REVISTA ARQUIVO BRASILEIRO
DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

Communication

[Comunicação]

Meningoencephalitis caused by *Bovine alphaherpesvirus 5* in Pernambuco, Brazil

[Meningoencefalite causada pelo Bovine alphaherpesvirus 5 em Pernambuco, Brasil]

B. Pajeú e Silva¹, R.P.B. Melo¹, A.Q. Andrade Neto², J.F.P. Cajueiro², R.C Alves³,
A.F.M. Dantas³, J.A.B. Afonso², J.W. Pinheiro Junior¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE – Recife, PE

²Clínica de Bovinos de Garanhuns – Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE – Garanhuns, PE

³Centro de Saúde e Tecnologia Rural – Universidade Federal de Campina Grande – Patos, PB

Bovine alphaherpesvirus 5 (BoHV5) is responsible for triggering a typical neurological condition, which has a high mortality rate in cattle up to 8 years of age (Barros *et al.*, 2006; Rissi *et al.*, 2006). The most important characteristic of BoHV5 lies in its ability to establish latency in the trigeminal ganglion, allowing the virus to perpetuate itself in the animal organism for a lifetime, being reactivated in periods of decreased immunity (Perez *et al.*, 2002).

The main clinical signs associated with the infection caused by this agent include deep prostration, pressure of the head against objects, runny nostrils, involuntary movements, nystagmus, opisthotonus, and staggering, culminating in death between 4 and 10 days (Rissi *et al.*, 2006).

BoHV5 has a worldwide distribution, but its occurrence is geographically limited to South America, mainly to Brazil and Argentina (Perez *et*

al., 2002). Although its occurrence is described in Brazil, where it is considered one of the three main causative agents of neurological diseases in cattle (Queiroz *et al.*, 2018; Terra *et al.*, 2018), studies about its occurrence in the Northeast region are lacking, despite evidence of its presence (Galiza *et al.*, 2010). The objective of this study was to report the occurrence of BoHV5 in cattle with neurological signs in the period from 2012 to 2016 in the state of Pernambuco.

Samples of the central nervous system (cerebellum, pituitary, rete mirabile, brain stem, telencephalon, medulla, and thalamus) embedded in paraffin from 32 cattle with neurological clinical signs were analyzed. These animals were submitted to necropsy at the Clínica de Bovinos de Garanhuns of the Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE), coming from 12 municipalities located in the Intermediate Region of Caruaru, Pernambuco (Fig. 1), between the years 2012 and 2016.

Recebido em 19 de agosto de 2020

Aceito em 18 de maio de 2021

E-mail: bruno_pajeu@hotmail.com

Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.73, n.4, p.989-994, 2021

For DNA extraction, the ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System kit (Promega®) was used, following the manufacturer's specifications. For each animal, DNA extraction was performed with a tissue pool of 20 micrometers (µm) containing four histological sections (5µm each) of paraffinized material blocks from different parts of the central nervous system. The extracted material was frozen at -20°C for further analysis.

The purity and concentration of the DNA were analyzed by using a spectrophotometer (Multiskan GO, Thermo Scientific®), and its concentration was adjusted to 100ng/µL. The

reaction was carried out using the primers Bcon (5'-AGT GCA CGT ACA GCG GCT CG-3'. 461–480) and BoHV5 (5'-CGG ACG AGA CGC CCT TGG-3' nt. 322–339), amplifying a 159-bp product of the glycoprotein C gene (Claus *et al.*, 2005). The reactions were carried out using 6.25 µL of GoTaq® Green Master Mix (Promega®), 0.5 µL of each primer in the concentration of 10 µM, 2.75 µl of ultrapure water, and 2.5 µl of DNA. The reaction was performed in a thermal cycler T100™ Thermal Cycler (Bio Rad®) under the following thermal profile: initial denaturation at 95°C for 3 min, followed by 40 cycles at 95°C (1 min), 58°C (1 min), and 72°C (1 min) and a final extension for 7 min at 72°C.

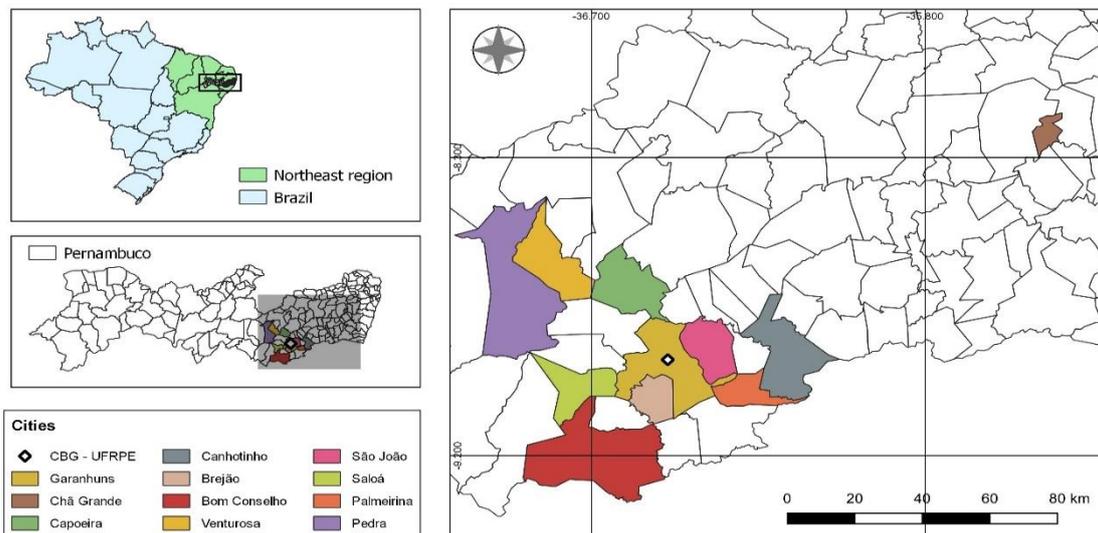


Figure 1. Municipalities of origin of the animals.

The amplified products were detected by electrophoresis on a 2% agarose gel, stained with Blue Green (LGC®), visualized through ultraviolet light, and photo documented. The positive control was obtained by DNA extraction of the reference strain BoHV5 (AA01) cultivated in Madin-Darby bovine kidney (MDBK) cell culture. For sequencing, gel bands of positive amplified products were purified using the commercial kit MEGAquick-spin™ Plus Total Fragment DNA Purification Kit (iNtRON Biotechnology®). The ABI 3500 Genetic

Analyzer sequencer (Applied Biosystems) was used, and the reactions were performed bi-directionally using the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), and the conditions of polymerization were carried out in 96-well plates, according to the manufacturer's instructions. The results obtained by the sequencing were evaluated using the Staden Package 4.1.4 (Gene Codes Corporation, USA) and analyzed for similarity to sequences using the Basic Alignment Search Tools (BLAST) of the GenBank database through the National Center

for Biotechnology Information (NCBI) website in order to investigate the correspondence of species identification.

Initially, a blast was made using the sequences generated in this study against the database to recover all sequences related to BoHV5. The recovered sequences were then aligned, and the evolutionary model was calculated. A Bayesian inference was made considering the calculated evolutionary model, with 5×10^7 generations of the Markov Monte Carlo chain (three hot and one cold chain), and the trees were sampled every 1,000 generations. Tracer (Rambaut *et al.*, 2018) was used to view the inference results (Fig. 2).

The samples of the central nervous system embedded in paraffin were cut into sections of 5 μ m and stained with hematoxylin and eosin and read in an optical microscope to describe the histopathological findings.

This research was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Universidade Federal Rural de Pernambuco under license No. 60/2017.

In the PCR performed on the samples of the nervous system, samples 369 and 490 were positive for BoHV5, and the molecular identity was confirmed by double-stranded sequencing, which indicated a similarity of 99%–100% with at least 20 sequences deposited in GenBank (KY559403.1, KJ143571.1, KJ143569.1, KJ143567.1, KJ143564.1, KJ143563.1, KJ143562.1, KJ143561.1, KJ143557.1, KJ143557.1, KJ143556.1, KJ143555.1, KJ143555.1 .1, KJ143554.1, KJ143553.1, KJ143552.1, KJ143550.1, KJ143547.1, NC_005261.3, AY052396.1, KJ143551.1, among others).

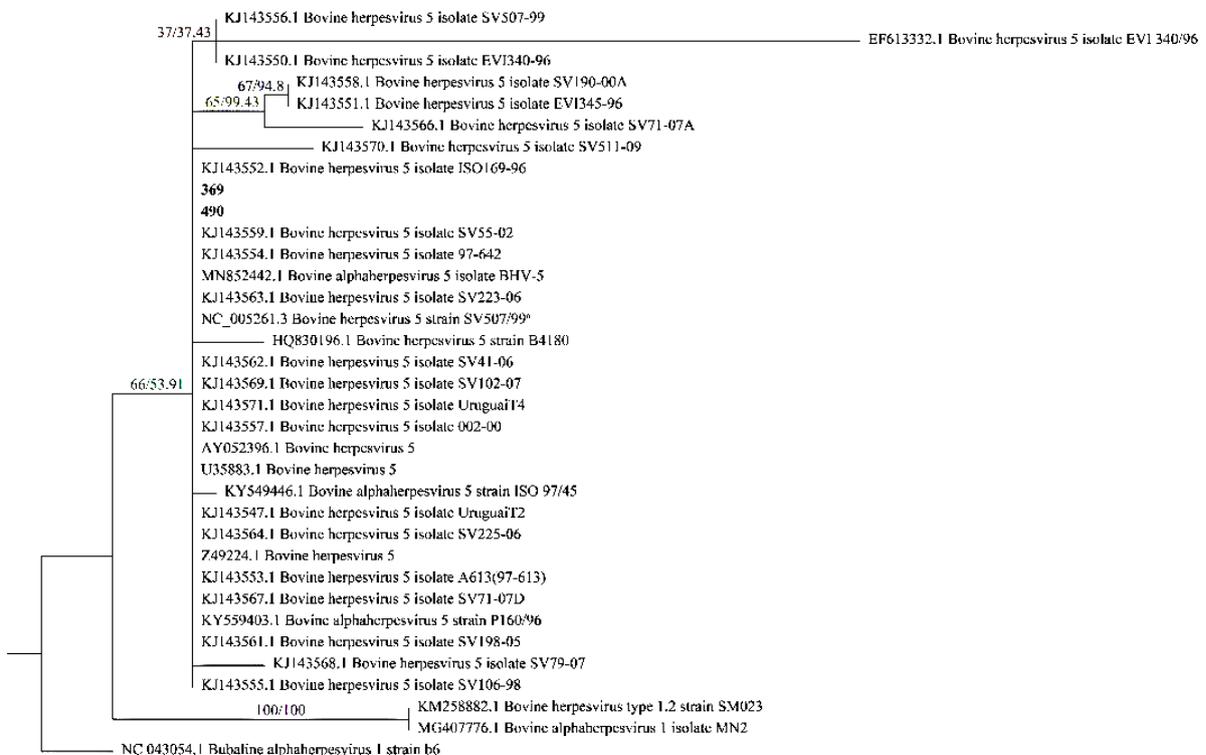


Figure 2. Phylogenetic analysis. The nucleotide sequences of the gC genes were edited for 157 bp fragments, using MEGAX. These sequences, along with the nucleotide sequences representative of BoHV1 and BoHV5 available in the public domain (GenBank) were submitted for multiple sequence alignments. Phylogenetic analyzes were conducted using Garli v.2.0. Phylogenetic inference was performed using the Maximum Likelihood (ML) method and the confidence intervals were estimated by a bootstrap algorithm applying 1,000 iterations, divided into 4 runs of 250 each. The tree is drawn to scale, with the lengths of the branches in the same units as the evolutionary distances used to infer the phylogenetic tree. Bootstrap values are shown on each branch followed by Bayesian inference (IB) values, eg. ML / IB.

Sequences of two isolates, 369 and 490, belonging to the gC gene (Glycoprotein C) were assembled using the Staden package, generating sequences of 154 and 157 bp, respectively. After the blast, 30 BoHV5 sequences were recovered from the bank and two *Bubaline alphaherpesvirus 1* and one *Bovine alphaherpesvirus 1* sequence were added to the analyzes. The evolutionary model calculated was HKY + F according to the Bayesian information criterion (BIC).

The phylogenetic tree built (Fig. 2), both for the likelihood method and for Bayesian, presented similar topologies, but with support values that are not very similar. The isolates sequenced in the present study were grouped with BoHV5 isolates with 100% bootstrap/probability suggesting that the virus is closely related to BoHV5 isolates.

Bovine alphaherpesvirus 5 is an important cattle pathogen, with high prevalence in South America (Perez *et al.*, 2002). However, despite its importance and the critical role of gC in viral biology and its implications for diagnosis, limited information is available on the gC of both viruses (BoHV1 / BoHV5). Available on GenBank, about 30 sequences of BoHV-5 were found via blast, including sequences taken from the genome, covering 157 bp, of those sequenced in the present study. The results are similar to those found in previous studies (Maidana *et al.*, 2011; Traesel *et al.*, 2015). However, specific studies are still lacking regarding the determination of strains for the studied gene (gC).

As the samples were preserved in 20% formalin solution, it is possible that the results presented may be underestimated because there are limitations to the technique for detecting genetic material in paraffinized samples, given that the nucleic acid undergoes denaturation when fixed for a long period or when the formaldehyde is not buffered (Crawford *et al.*, 1999). Arruda *et al.* (2010) observed a greater positivity for BoHV1 and BoHV5 in samples preserved in 10% formalin solution for less than 40 days. Meanwhile, the samples preserved for a longer period showed a lower positivity.

The clinical history of animals positive for BoHV5 consisted of apathy, sialorrhea, inappetence, head tremors, low head, ataxia, reduced visual acuity, bilateral nasal discharge, and oligopneic breathing associated with expiratory dyspnea. The clinical course of the affected animals was 6 days, showing the high lethality of the involved agent, which is in accordance with the findings described by Aquino Neto *et al.* (2009). The variation of signs depends on factors such as the presence of concomitant diseases, including polioencephalomalacia (David, 2002), which markedly accentuate the lesions of meningoencephalitis, and the immune status of the animals (Belknap *et al.*, 1994) proved by the action of passive immunity in the protection of animals exposed to the virus, and the viral sample.

Histopathological findings consisted of non-suppurative, multifocal, moderate, chronic meningoencephalitis associated with polioencephalomalacia. These findings

corroborate the studies by Galiza *et al.* (2010), who also identified this type of injury in the affected animals. One of the animals that presented with lesions was diagnosed with polioencephalomalacia, showing a marked malacia lesion. David (2002) suggested that the clinical cases of reactivation of latent BoHV5 infections, as well as the severity of the cases, are associated with the previous development of polioencephalomalacia. In his studies (David, 2002), animals that developed both polioencephalomalacia and meningoencephalitis due to BoHV5 showed more pronounced malacia lesions.

As demonstrated in the study by Pedraza and Alessi (2010), in which 33.3% (5/15) positivity for BoHV5 was detected in samples of paraffin material diagnosed with meningoencephalitis, PCR is an important tool not only for the diagnosis of ongoing cases, but also for its use in retrospective studies on the occurrence of neurological diseases from a sample bank.

One of the animals that were positive by PCR for BoHV5 was diagnosed with polioencephalomalacia. The other animal, which was also confirmed as positive for BoHV5, had clinical suspicion of rabies in its medical records, which shows the importance of this tool, PCR, in the diagnosis of BoHV5 infection.

Several studies have described that among the neurological disorders of cattle, non-suppurative

Confirmation by PCR of the BoHV5 occurrence among cases of neurological diseases in cattle shows the importance of molecular tests for definitive diagnosis, mainly for suspected cases of rabies, an endemic disease of cattle in the Brazilian Northeast region.

meningoencephalitis is the main histological finding caused by infectious diseases (Galiza *et al.*, 2010; Queiroz *et al.*, 2018; Terra *et al.*, 2018). A study carried out in Paraíba state, Brazil, describes this lesion associated with malacia (Galiza *et al.*, 2010).

Although the characteristic lesion of non-suppurative meningoencephalitis is attributed to BoHV5, the same lesion can also be present in some cases of infection by BoHV1 due to its tropism by the central nervous system, as well as cases of rabies and malignant bluetongue (Barros *et al.*, 2006). Therefore, it is necessary to confirm the infection by diagnostic techniques that allow the distinction between types 1 and 5 of bovine alphaherpes virus.

The distribution of diseases of neurological origin can vary due to regional particularities. For this reason, it is necessary to identify the agents of regional circulation such that appropriate strategies can be conducted to minimize losses (Queiroz *et al.*, 2018). In addition, the low frequency of disease reports caused by BoHV5 is related to the difficulty in identifying the cause due to the similarity of the clinical signs and the difficulty in performing differential diagnoses. This is due to the multiple signs or lack of technical structure in the laboratories (Aquino Neto *et al.*, 2009) added to the lack of knowledge of BoHV5 occurrence in the region or the particularities associated with the infection by the agent.

Keywords: PCR, paraffinized samples, neurological disease, BoHV5, SNC

RESUMO

Objetivou-se descrever a ocorrência do Bovine alphaherpesvirus 5 (BoHV5) como causa de meningoencefalite não supurativa em bovinos do estado de Pernambuco, Brasil. Para tanto, 32 amostras de sistema nervoso embebidas em parafina foram obtidas de animais acometidos por doenças neurológicas atendidos na Clínica de Bovinos de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CBG-UFRPE), entre 2012 e 2016. As amostras foram analisadas quanto à presença do gene da glicoproteína C do BoHV5 por reação em cadeia da polimerase (PCR). Dois animais (6,25%) tiveram resultado positivo à PCR, e sua análise de sequenciamento indicou 100% de similaridade para o BoHV5. Os resultados histopatológicos desses dois animais revelaram lesões multifocais de meningoencefalite não supurativa associada à polioencefalomalácia, presença de corpúsculos de inclusão basofílicos, infiltração de células de Gitter e presença de manguitos perivasculares. A PCR se mostra uma importante ferramenta para diferenciação das infecções por BoHV5 de outras enfermidades neurológicas de bovinos, especialmente a raiva.

Palavras-chave: PCR, amostras em parafina, doença neurológica, BoHV5, SNC

REFERENCES

- AQUINO NETO, H.M.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J. *et al.* Meningoencefalite por Herpesvirus bovino 5 em Minas Gerais: relato de caso clínico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, p.1-5, 2009.
- ARRUDA, L.P.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. *et al.* Detecção molecular de herpesvírus bovino 1 e 5 em amostras de encéfalo conservadas em formol e embocadas em parafina provenientes de bovinos com doença neurológica. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.30, p.646-650, 2010.
- BARROS, C.L.S.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I.S.; LEMOS, R.A.A. *Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil*. Montes Claros, MG: Vallée, 2006. 207p.
- BELKNAP, E.B.; COLLINS, J.K.; AYERS, V.K.; SCHULTHEISS, P.C. Experimental infection of neonatal calves with neurovirulent bovine herpesvirus type 1.3. *Vet. Pathol.*, v.31, p.358-365, 1994.
- CLAUS, M.P.; ALFIERI, A.F.; FOLGUERAS-FLATSCHART, A.V. *et al.* Rapid detection and differentiation of bovine herpesvirus 1 and 5 glycoprotein C in clinical specimens by multiplex-PCR. *J. Virol. Methodol.*, v.128, p.183-188, 2005.
- CRAWFORD, T.B.; LI, H.; O'TOOLE, D. Diagnosis of malignant catarrhal fever by PCR using formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.11, p.111-116, 1999.
- DAVID, N. *Associação de meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 com polioencefalomalácia*. 2002. 55f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- GALIZA, G.J.N.; SILVA, M.L.C.R.; DANTAS, A.F.M. *et al.* Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.30, p.267-276, 2010.
- MAIDANA, S.S.; LADELFA, M.F.; PÉREZ, S.E. *et al.* Characterization of BoHV-5 field strains circulation and report of transient specific subtype of bovine herpesvirus 5 in Argentina. *BMC Vet. Res.*, v.7, 8p, 2011.
- PEDRAZA, F.J.; ALESSI, A.C. Detection of bovine herpesvirus 5 (BoHV-5) in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine brain by nested PCR in Colombian cattle. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu.*, v.23, p.292-298, 2010.

PEREZ, S.E.; BRETSCHEIDER, G.; LEUNDA, M.R. *et al.* Primary infection, latency, and reactivation of bovine herpesvirus type 5 in the bovine nervous system. *Vet. Pathol.*, v.39, p.437-444, 2002.

QUEIROZ, G.R.; OLIVEIRA, R.A.M.; FLAIBAM, K.M.C. *et al.* Diagnóstico diferencial das doenças neurológicas dos bovinos no estado do Paraná. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.38, p.1264-1277, 2018.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A.J.; XIE, D.; BAELE, G.; SUCHARD, M.A. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst Biol.*, v.67, p.901-904, 2018.

RISSI, D.R.; OLIVEIRA, F.N.; RECH, R.R. *et al.* Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.26, p.123-132, 2006.

TERRA, J.P.; BLUME, G.R.; RABELO, R.E. *et al.* Neurological diseases of cattle in the state of Goiás, Brazil (2010-2017). *Pesqui. Vet. Bras.*, v.38, p.1752-1760, 2018.

TRAESEL, C.K.; BERNARDES, L.M.; SPILKI, F.R. *et al.* Sequence analysis of the 5' third of glycoprotein C gene of South American bovine herpesviruses 1 and 5. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.48, p.470-478, 2015.

**ANEXO 2: ARTIGO ACEITO PELA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS
AGRÁRIAS**

Economic impacts of *Bovine alphaherpesvirus 1* infection in Brazil: Meta-analysis based on epidemiological indicators

Impactos econômicos da infecção por *Bovine alphaherpesvirus 1* no Brasil: Metanálise a partir de indicadores epidemiológicos

Bruno Pajeú e Silva^{1*}; Breno Bezerra Aragão¹; José Wilton Pinheiro Junior²

Highlights:

A prevalence of 54.12% was identified in cattle in Brazil.

The prevalence in herds was 88.53%.

The occurrence of 258,779 bovine abortions per year was estimated.

The annual impact on livestock was estimated at US\$48,402,244.00 due to abortions.

Abstract: This study aimed to conduct a systematic review to estimate the economic impact of *Bovine alphaherpesvirus 1* (BoAHV1) infection in Brazil using epidemiological indicators through a meta-analysis. Specific descriptors were used to retrieve studies from the Scopus, PubMed, Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações, and Catálogo de Teses e Dissertações da Capes databases, selecting those that met the inclusion criteria established between the years 2000 and 2020. The selected studies were subjected to descriptive statistical analysis using prevalence data as the primary outcome with a 95% confidence interval (CI) with a meta-analysis of random effects and measures of heterogeneity, significance, magnitude of the effect, and measurement of publication bias. Abortion costs and estimates were calculated based on the prevalence of BoAHV1 infection in Brazil and the characteristics of the agent as viral subtypes that cause abortion, period of occurrence, average pregnancy rate, and morbidity applied to susceptible animals and animal replacement values. The results were obtained from 49 studies included for meta-analysis where a prevalence of BoAHV1 infection of 54.12% (95% CI: 49.07%–59.26%) in the bovine population and 88.53% (95% CI: 82.97%–92.43%) was present. From the structured formula, it is estimated that 258,779 bovine abortions occur, which causes a total loss, based only on the occurrence of abortion, of US \$ 48,402,244.00 to the country. It is noteworthy that because of the losses caused, strict control and eradication measures need to be implemented based on the elaboration of normative instruction that includes health education measures, vaccination, tests for traffic, and animal trade so that BoAHV1 infections do not continue to negatively impact national producers economically, productively, and socially.

Key words: Systematic review. IBR. Abortion. Cost. Prevalence.

Resumo: Objetivou-se com o presente estudo realizar uma revisão sistemática para estimar os impactos econômicos da infecção por Alfaherpesvirus Bovino 1 no Brasil a partir dos indicadores epidemiológicos por meio de uma metanálise. Foram usados descritores específicos para a recuperação de estudos a partir das bases Scopus, Pubmed, Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações e do Catálogo de Teses e Dissertações da Capes, selecionando-se aqueles que se enquadraram nos critérios

¹ Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE, Brazil. E-mail: bruno_pajeu@hotmail.com, breno.aragao100@hotmail.com.

² Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE, Brazil. E-mail: wiltonjrufpe@gmail.com

* Author for correspondence

de inclusão estabelecidos entre os anos 2000 e 2020. Os estudos selecionados foram submetidos à análise estatística descritiva utilizando-se os dados de prevalência como desfecho primário com intervalo de confiança de 95%, sendo realizado metanálise de efeito randômico e avaliadas as medidas de heterogeneidade, significância, magnitude do efeito e aferição do viés de publicação. Os custos e estimativas de aborto foram calculados com base na prevalência encontrada para BoAHV1 no Brasil e as características do agente como subtipos virais que provocam o aborto, período de ocorrência, taxa média de prenhez e morbidade aplicados aos animais suscetíveis e aos valores de reposição animal. Os resultados foram obtidos a partir de 49 estudos incluídos para metanálise, onde se verificou uma prevalência de BoAHV1 de 54,12% (IC95%: 49,07% – 59,26%) na população bovina e 88,53% (IC95%: 82,97% – 92,43%) para os rebanhos. A partir da fórmula estruturada, se estima que ocorram 258.779 abortos bovinos, que totalizam um prejuízo, apenas baseado na ocorrência do aborto, de US\$ 48.402.244,00 ao país. Destaca-se que em virtude dos prejuízos ocasionados, medidas de controle e erradicação mais rigorosas precisam ser implementadas a partir da elaboração de uma instrução normativa que contemple medidas de educação sanitária, vacinação, realização de exames para o trânsito e comércio de animais para que as infecções pelo BoAHV1 não continuem a impactar negativamente os produtores nacionais de forma econômica, produtiva e socialmente.

Palavras-chave: Revisão sistemática. IBR. Aborto. Custo. Prevalência.

Introduction

Changes in the eating habits of families have led to a worldwide increase in the demand for animal protein; the safest way to meet this demand is by increasing sanitary surveillance services. This will require a more vehement action due to the intensification of means of production, since the estimated loss, according to the World Organization for Animal Health (OIE), to the detriment of animal diseases is greater than 20% (World Organization for Animal Health [OIE], 2008). Regarding infectious diseases, although viral diseases cause significant losses in cattle ranching, their reproductive impact is underestimated (Wathes, Oguejiofor, Thomas, & Cheng, 2020).

The first report of infection by *Bovine alphaherpesvirus 1* (BoAHV1) in Brazil dates to the 1960s (Galvão, Doria, & Alice, 1962/1963), and its isolation was carried out more than 15 years later (Alice, 1978). Since then, many studies have reported the occurrence of this agent in Brazilian cattle herds (Pituco, 1988; Lovato, Weiblen, Tobias, & Moraes, 1995; Cerqueira et al., 2000; Poletto, Kreutz, Gonzales, & Barcellos, 2004; J. A. Dias et al., 2008; M. S. Lima, Nogueira, Okuda, Stefano, & Pituco, 2011; Oliveira, Lorenzetti, Alfieri, & Lisbôa, 2015; N. P. C. Bezerra, Bezerra, Santos, Pereira, & Silva, 2019; Haas et al., 2020). The form of presentation and severity of infections and their pathogenesis varies according to BoAHV1 virulence, in addition to the fact that the agent is able to establish latency, contributing to the maintenance of BoAHV1 infection in the herd through asymptomatic animals that spread the virus in healthy hosts (Biswas, Bandyopadhyay, Dimri, & Patra, 2013).

Infections caused by BoAHV1 cause several clinical conditions, among which are reproductive disorders that can range from inflammatory changes in the genital tract of affected animals to the onset of respiratory, ocular, and neurological clinical conditions (Nandi, Kumar, Manohar, & Chauhan, 2009; Graham, 2013). Once present in the herd, albeit subclinically, the infection has been associated with a decreased productive performance of affected animals (Statham, Randall, & Archer,

2015), which makes it important for the correct implementation of prophylactic measures to determine the prevalence of BoAHV1 infection in detriment of the socioeconomic impacts that the infection can cause (Chen et al., 2018).

The economic losses attributed to BoAHV1 infection consist of weight loss, decreased milk production, fertility problems, such as endometritis and heat repetition, the birth of weak animals, and embryo and neonatal mortality (Ata, Kocamüftüoğlu, Hasircioğlu, Kale, & Gülay, 2012; Junqueira, & Alfieri, 2006). As a result of economic impacts and damage to animal health, many European countries have been making efforts to control and eradicate BoAHV1 infections since the 1980s (Ackermann et al., 1990; Ackermann & Engels, 2006; Hage et al., 1998).

For the institution of disease prevention and control programs, knowledge of epidemiological factors, such as prevalence data, risk factors, prophylaxis programs, and the associated cost-benefit, are essential for estimating economic impacts and evaluating the best strategy to be implemented (Thrusfield, 2005).

To demonstrate the impact of infection by various reproductive infectious agents in cattle raising, several studies have been conducted worldwide (Statham et al., 2015; Bennett, 2003; Macías-Rioseco et al., 2020; Ran et al., 2019; Reichel, Ayanegui-Alcérrea, Gondim, & Ellis, 2013; Sayers, 2017; Wathes et al., 2020) to warn about the damage caused by them and the importance of veterinary attention services in promoting animal health and improving the quality of life of the population. Considering the economic, reproductive, and social impacts associated with abortion caused by infectious reproductive diseases, adding to the fact that BoAHV1 is an abortive agent widely disseminated in national herds and does not present a sanitary contingency norm, this systematic review aimed to calculate the prevalence of BoAHV1 infection in Brazil and estimate the direct losses associated with the occurrence of abortion in bovine species.

Material and Methods

Study design

This study consists of a systematic review aimed to synthesize BoAHV1 infection prevalence data in cattle in Brazil and analyze, through meta-analysis, the quantitative data from manuscripts available in selected databases and from the gray literature (theses, dissertations, and reference lists) to define the cost of abortion in cattle. The study was conducted following the methodological recommendations of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Moher, Liberati, Tetzlaff, & Altman, 2009).

Databases and search strategy

For the research on the subject, the combined search terms were defined for each of the

databases using different search strategies, as the different databases use different search algorithms, requiring different combinations of the main indexing terms of the studied topic. In addition, a survey of studies was conducted during the fourth quarter of 2020.

For Scopus, the following descriptors were used: “(ALL ("Incidence") OR ALL ("Prevalence") OR ALL ("occurrence") OR ALL ("Epidemiology") OR ALL ("Prevalência") OR ALL ("ocorrência") OR ALL ("incidência") OR ALL ("epidemiologia")) AND (ALL ("Brazil") OR ALL ("Brasil")) AND ((TITLE-ABS-KEY ("Herpesvirus") OR TITLE-ABS-KEY ("Alfaherpesvirus") OR TITLE-ABS-KEY ("Alphaherpesvirus")) AND (TITLE-ABS-KEY ("bovine") OR TITLE-ABS-KEY ("Cattle") OR TITLE-ABS-KEY ("bovino"))) OR (TITLE-ABS-KEY ("BoHV-1" OR "BoHV1" OR "BHV-1" OR "HVB-1")).” For PubMed, the following were used: “("Incidence" OR "Prevalence" OR "occurrence" OR "Epidemiology" OR “incidência” OR “prevalência” OR “Ocorrência” OR “epidemiologia”) AND ("Brazil" OR “Brasil”) AND ((("Herpesvirus" OR "alfaherpesvirus" OR "alphaherpesvirus") AND (("bovine" OR "Cattle" OR "bovino"))) OR ("BoHV-1" OR “BoHV1” OR “BHV-1” OR “HVB-1”)))”.

For the recovery of theses and dissertations, in the domain of the Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações, the following combination was used: “(Todos os campos: Incidence OR Prevalence OR Occurrence OR Epidemiology OR prevalência OR ocorrência OR incidência OR Epidemiologia OR sorológico OR serological OR soroprevalência OR Seroprevalence E Todos os campos: Herpesvirus OR alfaherpesvirus OR alphaherpesvirus OR BoHV-1 OR BoHV1 OR BHV-1 OR HVB-1 E Todos os campos:bovine OR Cattle OR bovinos OR bovino)”. In addition, for the Catálogo de Teses e Dissertações Capes, the following was used: “BoHV-1 OR herpesvirus AND bovino AND prevalência OR ocorrência OR incidência OR Epidemiologia OR soroprevalência”.

Eligibility criteria

The inclusion criteria were observational prevalence studies as designed or that point to the occurrence, through direct and/or indirect diagnostic methods in cattle in Brazil, of BoAHV1 infection as part of their results. The types of publications included consisted of full articles, "short communication" articles, abstracts presented at conferences, dissertations, and theses. No restrictions were placed on the language of the returned studies.

Was excluded manuscripts that did not discriminate the occurrence of BoAHV1 infection and those in the form of observational studies, clinical studies, studies with species other than cattle, studies that did not focus on the research of the agent of interest or the disease caused by it, studies conducted outside Brazil, studies that showed bias, such as those conducted in herds known to be positive, and those that investigated the presence of the agent through the analysis of clinical samples involving its isolation. After recovering the manuscripts, those published between 2000 and 2020 were selected.

Selection of studies and data extraction

The selection of studies was carried out independently by two different researchers, where the differences were decided by consensus between the parties. The research was carried out in four stages: identification, selection, eligibility, and inclusion criteria.

The first step consisted of registering the total number of articles returned from the terms defined to perform the searches, excluding manuscripts in duplicate. In the second stage, the titles of the articles were read, excluding those that did not cover the study area. The third step consisted of reading the abstracts of articles selected from the titles selected for reading those with information of potential interest about the occurrence of BoAHV1 infections in cattle in Brazil. Finally, the manuscripts that presented prevalence data were read in full in the fourth stage. Thereafter, those that did not present relevant information to compose the study were excluded, and the manuscripts of interest were included for analysis from the reference lists of the selected studies.

Additionally, bibliographic reference lists of selected studies were scrutinized after the fourth stage to have great coverage of the included manuscripts since not all studies were necessarily indexed in the selected databases.

Statistical analysis

Qualitative data were analyzed using descriptive statistics, using an absolute and relative distribution of positive cases for BoAHV1 infection, using raw prevalence data as the primary outcome with a 95% confidence interval (CI). To calculate the prevalence, the selected articles were subjected to a random model meta-analysis. Heterogeneity was assessed using Cochran's Q test, represented by the chi-square (χ^2) test, with a significance of $P < 0.10$, and its magnitude measured by the I-square (I^2) test (Deeks, Higgins, & Altman, 2019).

To check the consistency of the data from the studies selected for this systematic review, an analysis of publication bias was performed using a funnel chart. In this model, Egger's regression test was applied to assess whether the estimation of the effects presented bias or not.

Calculation of the cost of abortion owing to BoAHV1 infection

The cost of abortion owing to BoAHV1 infection in Brazil was calculated by taking as reference parameters the number of animals at risk ($n(v+nov)$), the average pregnancy rate in the herd (Pr), the prevalence of the agent (Pv), the morbidity rate (Mb), the period of its occurrence to the detriment of the researched agent (PS), the viral subtypes of BoAHV1 (SV), and the abortion cost incurred calculated by the replacement cost of a pregnant cow minus the cost of a dry cow, adapted according to the proposed model Reichel et al. (2013). To do so, it was first necessary to calculate the number of abortions attributed to BoAHV1 infection (NBoAHV1) and then calculate the cost of abortion

per BoAHV1 infection in Brazil according to the following formula:

$$\text{Economic impact} \times \text{NBoAHV1} = (n(v+\text{nov})) \times \text{Pr} \times \text{Pv} \times \text{Mb} \times \text{PS} \times \text{SV}$$

Results and Discussion

The manuscript's scrutiny process is shown in Figure 1. The retrieved manuscripts were derived from databases of scientific articles and, like gray literature, from theses and dissertation deposit banks based on the descriptor terms. From the databases of scientific articles, 40 studies were retrieved from PubMed and 327 from Scopus, with the intersections of searches excluded by duplication (35), totaling 332 retrieved articles. Regarding the gray literature between theses and dissertations, 94 manuscripts from the Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD) and 35 from the Catálogo de Teses e Dissertações da Capes were retrieved. Excluding duplicate texts (17) resulted in a total of 112 manuscripts: 43 theses and 69 dissertations, which were added to the different databases, resulting in 444 manuscripts retrieved in total in the identification phase of the study.

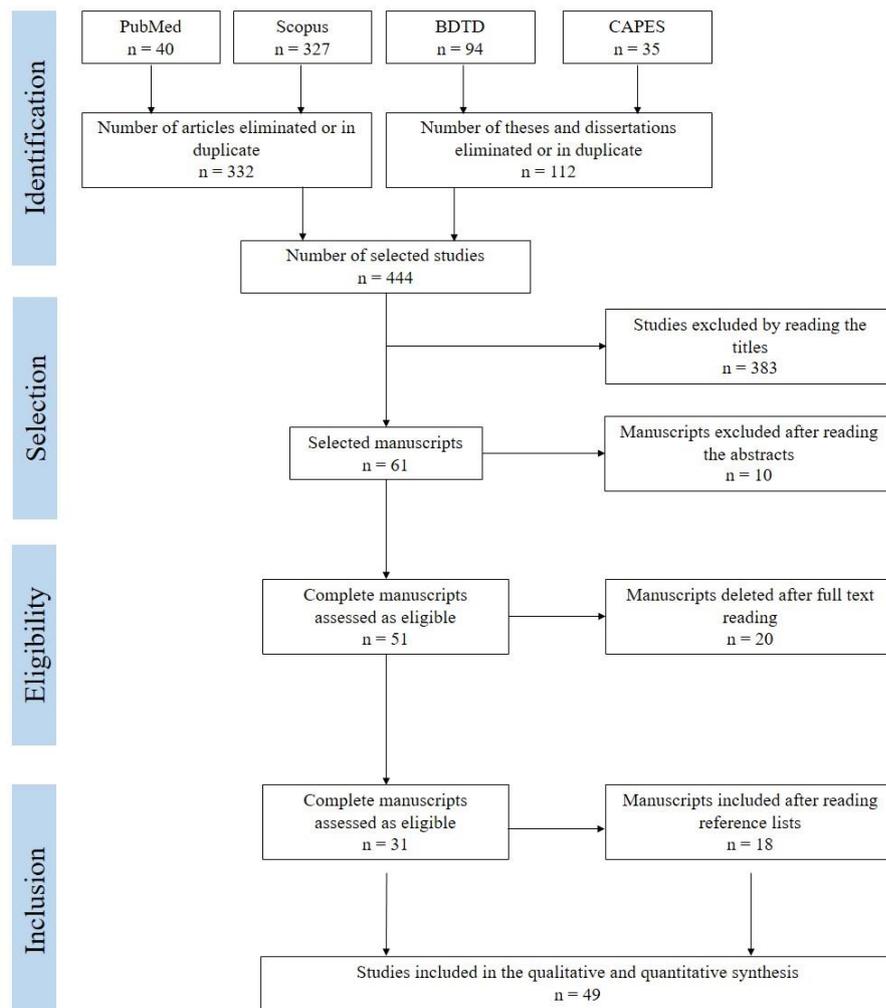


Figure 1. Study selection flowchart for inclusion in the systematic review.

In the selection stage, from the total identified manuscripts, 383 (295 articles and 88 theses and dissertations) were excluded by reading the titles, resulting in 61 manuscripts selected for reading the abstracts, 10 of which were excluded after reading the same. In the next step, eligibility, 51 manuscripts were read in full, of which 20 were excluded after the complete reading of the texts. Some studies were excluded at this stage because of the redundancy of information; only those published as scientific articles from research at the master's or doctoral levels were considered, with postgraduate manuscripts being deprecated to manuscripts published in journals.

Finally, in the inclusion stage, all 31 carefully selected studies had their reference lists scrutinized to include in the analysis of other manuscripts not covered by the search descriptors. Of these 31 studies, 18 (58.06%) were scientific articles, 5 (16.12%) were theses, and 8 (25.80%) were dissertations. After reading the lists, another 18 studies, all in the form of scientific articles, were included in the systematic review, totaling 49 studies covering an interval of published works from 2000 to 2020, as listed in Table 1.

Table 1
Studies selected to compose the systematic review divided by region

Authors	Region	State	Animal population			Properties		
			Cattle	Positives	%	Herds	Positives	%
Okuda et al. (2006)	N	RO	1988	1715	86.26	85	85	100
Arruda, Silva, Aragão, Castro and Gomes (2019)	N	AC	180	110	61.11			
Cerqueira et al. (2000)	NE	BA	558	314	56.27	15	13	86.66
Matos (2004)	NE	BA	764	145	18.97	13	13	100
Thompson et al. (2006)	NE	PB	2343	1093	46.6	72	72	100
D. C. Bezerra, Chaves, Sousa, Santos and Pereira (2012)	NE	MA	920	656	71.3	92	92	100
Sousa, Bezerra, Chaves, Santos and Pereira (2013)	NE	MA	160	108	67.5	4	4	100
Freitas et al. (2014)	NE	MA	1104	698	63.23	48	48	100
F. S. Silva et al. (2015)	NE	PE	380	302	79.5	20	20	100
Freitas (2016)	NE	MA	2455	753	30.67	86	67	77.91
F. A. B. Lima (2017)	NE	MA	364	313	85.96			
L. G. Fernandes et al. (2019a)	NE	PB	2443	1584	64.8	478	418	87.4
N. P. C. Bezerra et al. (2019)	NE	MA	160	109	68.12	16	16	100
B. P. Silva et al. (2019)	NE	PE	356	188	52.8	18	18	100
Vieira, Brito, Souza, Alfaia and Linhares (2003)	CO	GO	790	656	83.03	90	87	96.66
A. C. V. C. Barbosa, Brito and Alfaia (2005)	CO	GO	6932	3596	51.87	894	881	98.54
Tomich et al. (2009)	CO	MS	352	179	50.85	4	4	100
Afonso et al. (2010)	CO	GO	660	558	84.54			
Melo et al. (2002)	SE	MG	997	318	31.89			
Melo, Leite, Lobato and Leite (2004)	SE	MG	476	162	34	15	13	86.66

Junqueira, Freitas, Alfieri and Alfieri (2006)	SE	SP	208	142	68.26			
Mineo, Alenius, Näslund, Montassier and Björkman (2006)	SE	MG	230	172	74.78	2	2	100
Mendes et al. (2009)	SE	MG	126	101	80.15			
Alexandrino et al. (2011)	SE	MG;SP	278	152	54.67	5	5	100
E. C. M. Pereira (2011)	SE	MG	140	117	83.57			
M. C. O. P. Silva (2011)	SE	SP	6902	4856	70.35	1073		
J. A. Dias, Alfieri, Ferreira-Neto, Gonçalves and Müller (2013)	SE	PR	14803	7125	59	2018	1481	71.38
Santos et al. (2014)	SE	ES	1161	775	66.75	59	59	100
V. M. Barbosa et al. (2019)	SE	MG	264	165	62.5	20		
Queiroz-Castro et al. (2019)	SE	MG	75	41	54.7			
Haas et al. (2020)	SE	MG	476	231	48.6	46	45	97.5
Médici, Alfieri and Alfieri (2000)	S	PR	1235	540	43.72	81	75	92.59
Poletto et al. (2004)	S	RS	204	67	32.84	28	26	92.85
Quincozes (2005)	S	RS	1734	540	31.14	85	72	84.7
M. M. Dias (2006)	S	RS	1516	443	29.22	1		
J. A. Dias et al. (2008)	S	PR	1930			295	190	64.41
Frndoloso et al. (2008)	S	RS	765			26	15	57.69
Campos et al. (2009)	S	RS	200	144	72			
Holz et al. (2009)	S	RS	2200	538	24.45	390		
Fino (2011)	S	SC	309	84	27.18	6	6	100
Miranda (2012)	S	RS				269	75	27.88
Piovesan et al. (2013)	S	RS	2794	1654	59.19	157		
Sponchiado (2014)	S	PR	714	159	22.3	26	17	65.3
Becker et al. (2015)	S	RS	1224	299	24.42	93		
Evers (2015)	S	PR	363	216	59.5	32	30	93.8
Oliveira et al. (2015)	S	PR	400	70	17.5	90	35	38.9
Pasqualotto, Sehnem and Winck (2015)	S	SC	842	482	57.54	195		
Zardo (2017)	S	RS	258	24	9.3			
M. S. Lima et al. (2011)	BR	21 states	4460	3079	69.03	317	250	78.86

Abbreviations: N: North; NE: Northeast; CO: Middle West; SE: Southeast; S: South, BR: Brazil; RO: Rondônia; AC: Acre; BA: Bahia; PB: Paraíba; MA: Maranhão; PE: Pernambuco; GO: Goiás; MS: Mato Grosso do Sul; MG: Minas Gerais; SP: São Paulo; PR: Paraná; ES: Espírito Santo; RS: Rio Grande do Sul; SC: Santa Catarina.

To calculate the prevalence, 67,498 animals and 7,294 herds were included in the analysis. The analysis of the included studies revealed a significant heterogeneity of the studies using the Q test ($P < 0.001$ and $I^2 = 99.32\%$) to calculate the prevalence per animal, with similar values being found to calculate the prevalence of herds ($P < 0.001$ and $I^2 = 94.47\%$). The results of asymmetries between the studies for different inferences, population, and herds, are represented in Figure 2 and Figure 3, respectively. The Egger test indicated no bias in the distribution of prevalence studies for the population of cattle ($P > 0.05$) but indicated the presence of bias for the studies among herds ($P < 0.05$).

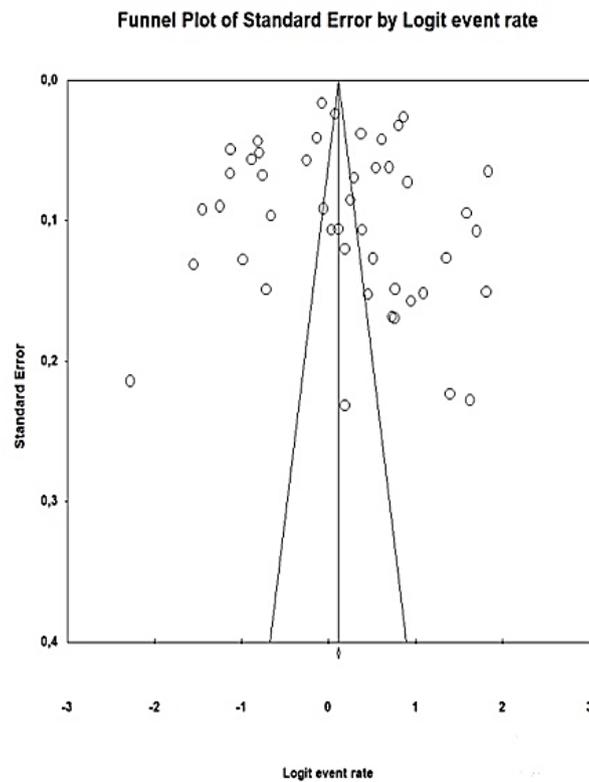


Figure 2. Funnel graph showing the asymmetric distribution of the prevalence studies of *Bovine alphaherpesvirus 1* infection among the bovine population in Brazil.

The meta-analysis performed for the studies included in the systematic review identified a pooled prevalence through the random model for cattle and herds, as shown in Figure 4 and Figure 5, respectively, of 54.21% (95%CI: 49.07% – 59.26%) and 88.53% (95%CI: 82.97 – 92.43%), respectively, both with significant heterogeneity ($P < 0.001$).

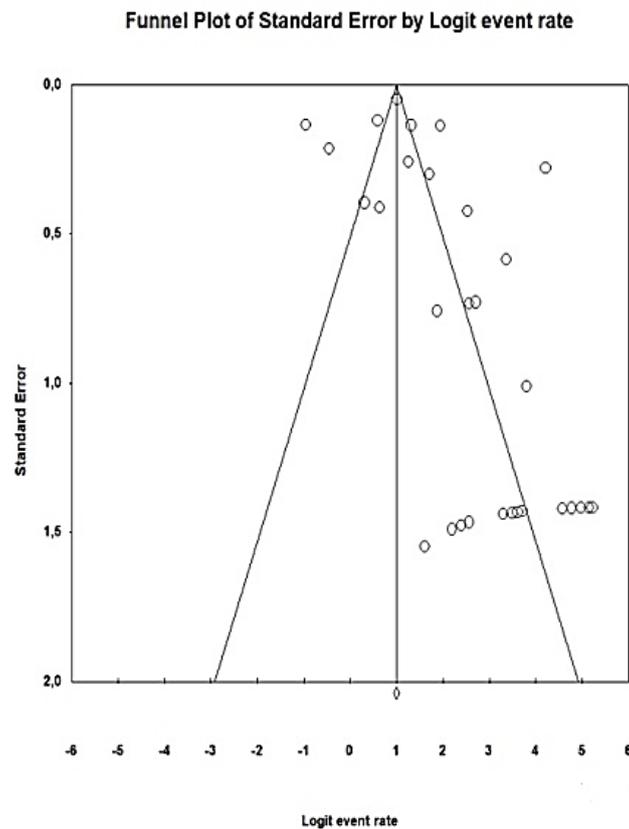


Figure 3. Funnel graph showing the asymmetric distribution of studies on the prevalence of *Bovine alphaherpesvirus 1* infection among cattle herds in Brazil.

Based on the data from the studies included in the meta-analysis and verifying the prevalence of 54.21%, this value was applied to the modified formula of Reichel et al. (2013) to calculate the direct losses caused by abortions owing to BoAHV1 infections in cattle in Brazil. The number of female bovines of reproductive age ($n(v+nov)$) corresponded to, according to the Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE] (2017), 59,670,476 heads; an average Pr of 60% (Vaz & Lobato, 2010; P. A. C. Pereira et al., 2013; Rosa et al., 2017; L. A. M. Fernandes et al., 2019b; E. T. N. Pereira, Freitas, Cordeiro, Silva, & Figueiredo, 2020) was considered based on the national literature; the Pv presented here; the Mb that, according to Constable, Hinchcliff, Done e Grünberg (2021), corresponded to a range that varied from 8 to 30%, being used the minimum value of 8% or 0.08; the PS considered only the final third of pregnancy ($1/4$ – considering the months of susceptibility during a year); and the SV of BoAHV1 that caused abortion ($2/3$) according to Flores (2017). Thus, the number of abortions attributed to BoAHV1 infections could be determined using the following equation:

$$N_{BoAHV1} = (n(v+nov)) \times Pr \times Pv \times Mb \times PS \times SV = 258,779$$

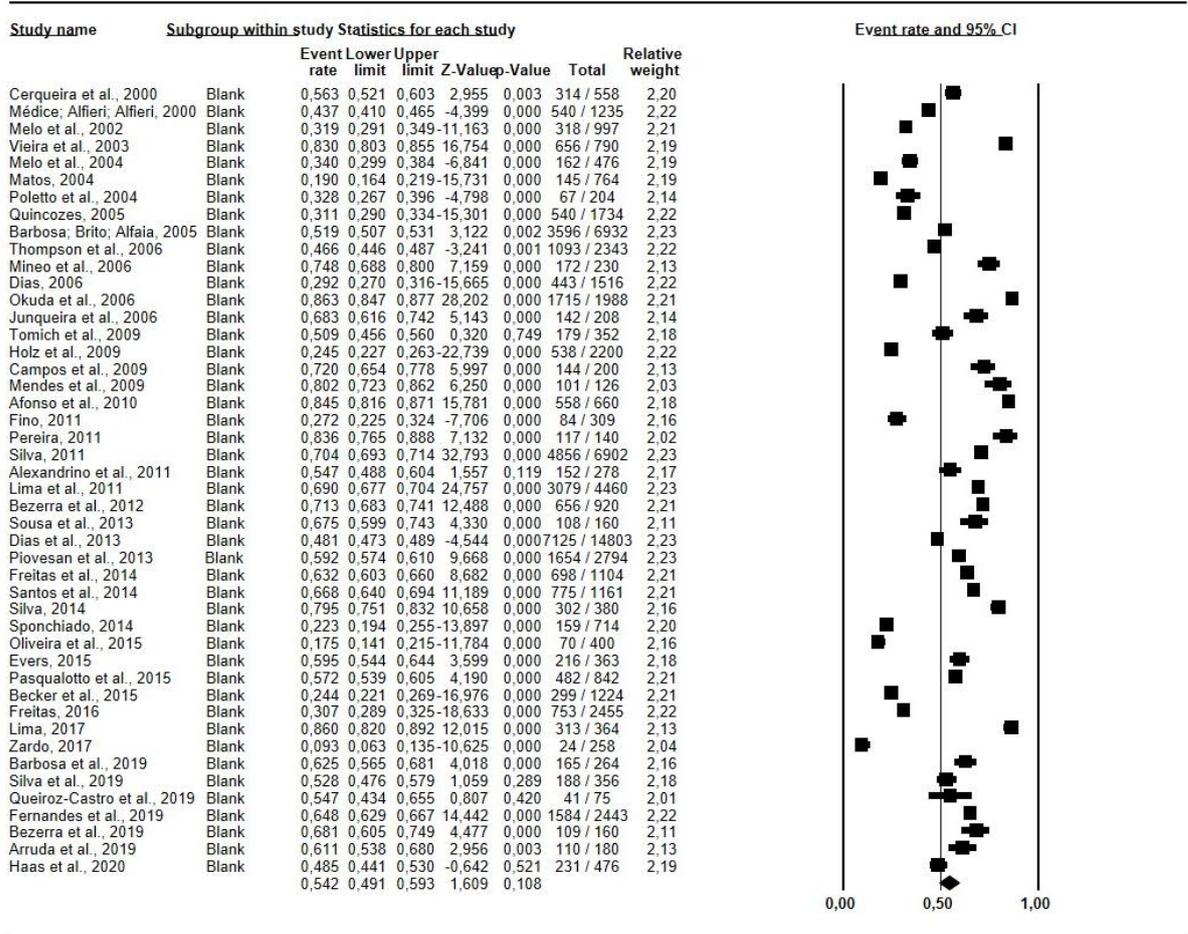


Figure 4. Prevalence of *Bovine alphaherpesvirus 1* infection in the bovine population in Brazil.

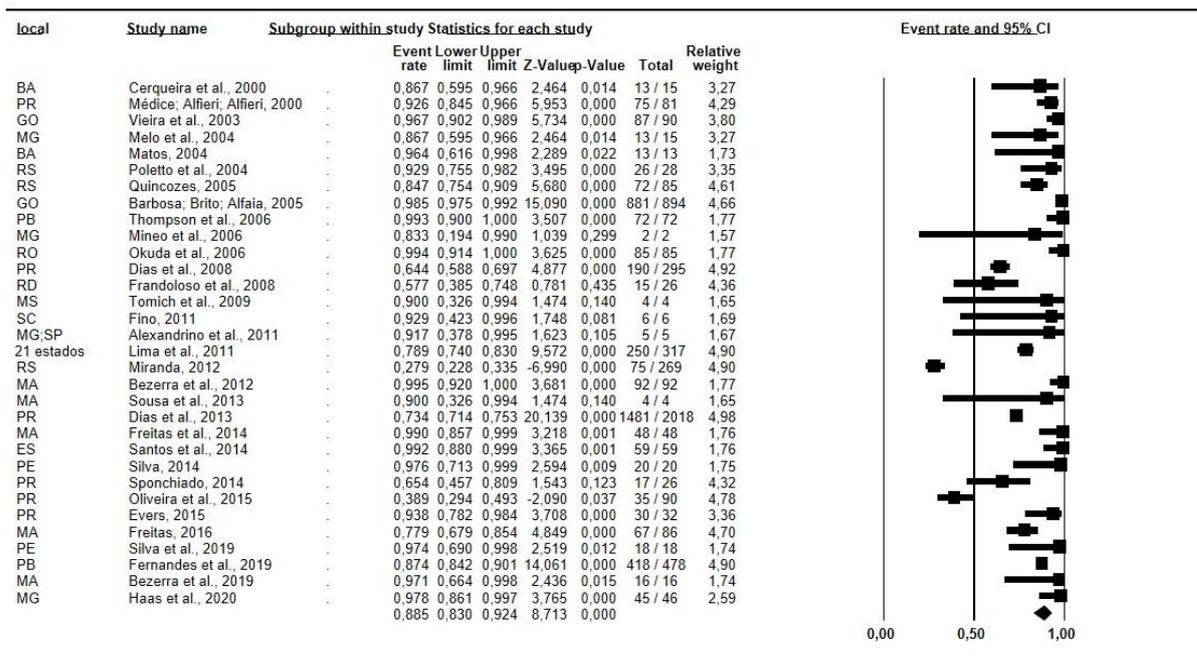


Figure 5. Prevalence of *Bovine alphaherpesvirus 1* infection in cattle herds in Brazil.

To calculate the costs associated with abortion, the model adopted by Reichel et al. (2013) was considered, and for the replacement of dairy cows, the average value of a pregnant cow (US\$ 1,000) was subtracted from the value of an animal with the same score (considering the average of 450 kg of live weight) sold for slaughter (US\$750), which equates to a cost of US\$250 per abortion in dairy animals. To calculate the cost of abortion in beef animals, the replacement price of a weaned calf was calculated as 165 kg (US\$ 458) less than the slaughter value of an animal of the same weight (US\$ 286), which resulted in a loss of \$172 per abortion. For the calculation basis, the variations in the price of the ox's arroba, the replacement price of calves, and the average value of pregnant cows in December 2020 were used as a reference through the market quotation available in advertisements and national databases.

According to the IBGE (2017), 11,506,788 dairy cows were milked in Brazil. Subtracted from the total number of animals of reproductive age in the national territory for the same year, it has 48,163,688 heads of beef cows of reproductive age. Applying these values to the previous formula, we have:

$$\text{NBoAHV1(dairy cattle)} = (n(v+\text{nov})) \times \text{Pr} \times \text{Pv} \times \text{Mb} \times \text{PS} \times \text{SV} = 49,902$$

$$\text{NBoAHV1 (beef cattle)} = \text{NBoAHV1} - \text{NBoAHV1 (dairy cattle)} = 208,877$$

The estimate of the economic impact caused by abortion attributed to BoAHV1 for the different categories can be defined as follows:

$$\text{NBoAHV1 (dairy cattle)} \times \text{associated cost (dairy cattle)} = 49,902 \times 250 = \text{US\$ } 12,475,500.00$$

$$\text{NBoAHV1 (beef cattle)} \times \text{associated cost (beef cattle)} = 208,877 \times 172 = \text{US\$ } 35,926,844.00$$

Therefore, the economic impact of abortion owing to BoAHV1 infection in Brazil is on the order of US\$ 48,402,244.00, considering both categories of affected animals.

This study is the first meta-analysis of the global prevalence of BoAHV1 infection in cattle in Brazil; it is also the first study to propose a model for calculating the economic impact of abortion in cattle owing to BoAHV1 infections based on the application of epidemiological data associated with BoAHV1.

Due to the variation in prevalence data and the number of studies included, statistical tests to assess the heterogeneity of the studies were significant ($P < 0.001$). Therefore, to estimate the magnitude of the effect or the variety of effect estimates due to the heterogeneity, the I^2 test was used, whose value was found $I^2 = 94.47\%$, indicating considerable heterogeneity of the included studies ($75\% \leq I^2 \leq 100$) according to Deeks et al. (2019). This is due to the wide variation in the distribution of BoAHV1 infection in cattle in Brazil.

At least one study from 14 different Brazilian states was included. In addition, one of the studies (M. S. Lima et al., 2011) contained data from eight other states, totaling 22 states covered in the survey. The prevalence of the included studies ranged from 9.3% (Zardo, 2017) to 86.28% (Okuda et

al., 2006) for animals and 27.88% (Miranda, 2012) to 100% for herds (Alexandrino et al., 2011; D. C. Bezerra et al., 2012; N. P. C. Bezerra et al., 2019; Fino, 2011; Freitas et al., 2014; Matos, 2004; Mineo et al., 2006; Okuda et al., 2006; Thompson et al., 2006; Tomich et al., 2009; Santos et al., 2014; B. P. Silva et al., 2019; Sousa et al., 2013). These data show that BoAHV1 is widely distributed in Brazilian herds, as can be confirmed through the meta-analysis of the included studies for herds and animals with 88.53% (95%CI: 82.97% – 92.43%) and 54.21% (95%CI: 49.07% – 59.26%), respectively, from 2000 to 2020.

The prevalence of BoAHV1 infections found in animals (54.21%; 95%CI: 49.07% – 59.26%), considering the CI, is following the prevalence values observed in studies by Alexandrino et al. (2011), A. C. V. C. Barbosa et al. (2005), Cerqueira et al. (2000), J. A. Dias et al. (2013), Pasqualotto et al. (2015), Piovesan et al. (2013), Queiroz-Castro et al. (2019), B. P. Silva et al. (2019) and Tomich et al. (2009). In a similar study that determined the prevalence of BoAHV1 infection in China through a systematic review with meta-analysis, Chen et al. (2018) identified a prevalence of 40.0% in cattle from that country from 41 selected manuscripts with a total sample of 43,441 cattle. Together, the animals sampled from eligible manuscripts totaled 67,498 bovines to compose the meta-analysis of this study. It is noted that the impact in Brazil, verified by the data of higher prevalence, larger number of studies, and larger population of sampled cattle, is greater than the data pointed out in the study by Chen et al. (2018). Considering the size of the national herd associated with the higher prevalence of BoAHV1 infections in Brazil compared to the study by Chen et al. (2018), the economic and productive consequences are further deepened, especially since cattle raising is a commodity and China is a commercial partner and direct consumer of beef produced in Brazil.

The prevalence of infection in herds (88.53%; 95%CI: 82.97% – 92.43%) is in agreement with the findings of Cerqueira et al. (2000), L. G. Fernandes et al. (2019), Melo et al. (2004) and Quincozes (2005). The number of studies that showed a higher prevalence of herds compared to that found in this meta-analysis is associated with a great predominance of positive herds. Given that the median prevalence is 96.66%, this high value and its proximity to the indicated values of prevalence per herd strengthens the evidence that BoAHV1 is widely distributed in herds since more than half of the studies point to a prevalence higher than that found in the present study.

Egger's test indicated no bias for prevalence studies in the animal population ($P > 0.05$), and the funnel graph (Figure 2) showed a symmetrical distribution of the included studies, with their predominance at the apex which indicated a smaller standard error of the selected manuscripts. The absence of bias in studies on the prevalence of infection in animals is because prevalence and risk factor surveys consider animals as sampling units when herds are the most assertive parameter for the analysis of risk factors due to the specificity of each property, such as reproductive, sanitary, and feeding management particular to each one.

The same was not observed when applied to the calculation to obtain the prevalence in herds

($P < 0.05$). This can be attributed to the fact that when considering the properties as sampling units, the minimum number of herds required to compose a prevalence study, with 5% error and 95% CI in an infinite population, would be approximately 400. Of the 32 studies considered to calculate the prevalence of herds, 26 sampled less than 100 properties, with a median of 47 and a range from 2 to 2018 herds sampled per study. Therefore, considering 100 properties as a minimum “n” sample, 5% error, and 95% CI, each study should be carried out in a population of up to 134 properties per state or region studied, which explains the bias detected by the Egger test to calculate the prevalence of BoAHV1 in herds. In Figure 3, the presence of bias is verified by the asymmetry in the funnel graph, where some studies can be observed displaced out of the axis and closer to the base, showing a high standard error according to Begg and Berlin (1988).

Based on the parameters of prevalence, the number of animals at risk in the country, morbidity, period of susceptibility, and viral subtypes of BoAHV1 that are more closely related to abortion and reproductive parameters, were projected 258,779 abortions and an economic impact on livestock of US\$ 48,402,244.00. This value is related to loss to the detriment of abortion related to BoAHV1 infections is below the values pointed out by Reichel et al. (2013), who reported an annual loss of US\$152.3 million from abortions related to *Neospora caninum* infections.

These values are subject to fluctuations due to variations in the price of animals in different regions of the country. It is important to highlight that the economic impact mentioned here concerns the direct losses related to the occurrence of abortion and the expenses associated with the replacement of animals in these cases. Considering that indirect losses also occur due to negative impacts on growth and reproduction (Biswas et al., 2013) and other forms of presentation of herpetic infections, such as respiratory, ocular, neurological, genital, and reproductive (Junqueira & Alfieri, 2006; Nandi et al., 2009), it is inferred that the values presented here represent only a part of a higher cost.

According to Can, Ataseven and Yalçın (2016), significant changes in production and performance can also occur in infected cows, even if they do not show clinical signs or reproductive problems, which reinforces that the losses caused are high when considering only abortion as a single nosological entity. According to the authors, costs related to losses not associated with abortion, characterized by decreased milk production (US\$177) and animal weight (US\$154), represent 65.0% (US\$331) of the total costs related to cases where abortion occurred. Hage et al. (1998) indicated a statistically significant association between animals infected with BoAHV1 and a drop in milk production during the first 14 days of infection. Van Schaik et al. (1999) found that during an outbreak caused by BoAHV1, there was a drop in the production by 0.92 kg per animal per day for 9 weeks. According to Statham et al. (2015), estimated losses due to decreased production reach 1,000 kg of milk per lactation in seropositive animals compared to seronegative animals. According to Can et al. (2016), considering the probability of abortion, infection with BoAHV1 causes an impact of US\$ 379 per infected animal.

The values budgeted in this study provide a basal estimate of the economic and sanitary impacts caused by direct losses (abortion) associated with BoAHV1 infection in cattle in Brazil. Energetic actions related to appropriate sanitary measures should be carried out in the planning of preventive strategies with regard not only to BoAHV1 infection but also to other reproductive diseases of an infectious nature, such as the institution of sanitary prevention and control programs by the agencies of inspection and animal health protection. Regarding BoAHV1, the production of educational pamphlets, the delivery of lectures, radio advertisements, and other means of communication are good means of informing producers about the economic impacts, risks, and the need to adopt appropriate sanitary measures. In addition to health education actions, the institution of restrictive measures for animal transit and trade, such as the requirement of vaccination certificates for cattle, are necessary.

It is noteworthy that the results estimated in this study do not represent the totality of the impacts caused by herpetic infections in cattle in Brazil when considering only direct measurement losses, such as abortion. Nevertheless, beyond national borders, European Union countries have directed efforts toward the control and eradication of BoAHV1 infection since the 1980s (Ackermann & Engels, 2006), and considering the customs protection mechanisms that can be adopted by economy and defense countries are consolidated, BoAHV1 infections can constitute an obstacle, in the near future, to the trade of animals of national origin, causing possible embargoes on cattle raising.

Conclusion

Analogous to biology, BoAHV1 infections are a latent problem concerning sanitary strategies to contain the agent, while at the same time representing a cost for producers, from small to large, who need attention in planning and maintenance of a production system. Therefore, it can be concluded that BoAHV1 is widely disseminated in national herds, as can be seen from the numbers presented by different studies, silently causing significant economic, productive, and social impacts on Brazilian producers.

It is essential for the prophylaxis of infection by BoAHV1 to implement a program in the form of normative instruction, which covers educational campaigns on the risk of infection to the requirement of a vaccination certificate for trade and animal transit in the national territory. In addition, information about the economic impacts and health risks associated with infectious reproductive diseases in cattle needs to reach the producer so that a change in the national scenario can materialize in the medium-to-long-term. For this, animal health defense agencies and higher education institutions are essential for the planning, assistance, education, and inspection of adequate prophylactic measures to promote good health in national bovine herds.

References

- Ackermann, M., & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology*, *113*(3-4), 293-302. doi: 10.1016/j.vetmic.2005.11.043
- Ackermann, M., Belak, S., Bitsch, V., Edwards, S., Moussa, A., Rockborn, G., & Thiry, E. (1990). Round table on infectious bovine rhinotracheitis/ infectious pustular vulvovaginitis virus infection diagnosis and control. *Veterinary Microbiology*, *23*(1-4), 361-363. doi: 10.1016/0378-1135(90)90167-T
- Afonso, I. B., Amoril, J. G., Alexandrino, B., Buzinaro, M. G., Medeiros, A. S. R., & Samara, S. I. (2010). Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) nas dez regiões de planejamento do estado de Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, *11*(4), 892-898. doi: 10.5216/cab.v11i4.6318
- Alexandrino, B., Dias, F. C., Oliveira, M. C., Affonso, I. B., Pereira, G. T., & Samara, S. I. (2011). Herpesvirus bovino associado à diarreia viral bovina e à leucose enzoótica bovina. *Ars Veterinaria*, *27*(3), 168-174. doi: <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2011v27n3p168-174>
- Alice, F. J. (1978). Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, *38*(4), 919-920.
- Arruda, E. F., Silva, T. I. B., Aragão, B. B., Castro, R. S., & Gomes, Y. A. (2019). Soroprevalence of bovine alphaherpesvirus type 1 (BoHV-1) and risk factors associated with dairy properties of the municipality of Senador Guimard, Acre, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, *86*(e1362018), 1-6. doi: 10.1590/1808-1657001362018
- Ata, A., Kocamüftüoğlu, M., Hasircioğlu, S., Kale, M., & Gülay, M. Ş. (2012). Investigation of relationship between bovine herpesvirus-1 (BHV-1) infection and fertility in repeat breeding dairy cows in family-type small dairy farms. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *18*(4), 579-583. doi: 10.9775/kvfd.2011.5893
- Barbosa, A. C. V. C., Brito, W. M. E. D., & Alfaia, B. T. (2005). Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no Estado de Goiás, Brasil. *Ciência Rural*, *35*(6), 1368-1373. doi: 10.1590/S0103-84782005000600022
- Barbosa, V. M., Gondim, C. C., Nasciutti, N. R., Oliveira, P. M., Alfieri, A. A., Fritzen, J. T. T.,... Saut, J. P. E. (2019). Risk factors associated with viral infections (BoHV-1 and BVDV) in crossbreed dairy herds with reproductive failures, Uberlândia, MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, *71*(4), 1243-1250. doi: 10.1590/1678-4162-10326
- Becker, A. S., Rodrigues, M. G., Orlandin, J. R., Menezes, P. Q., Matos, C. A., Wilsmann, D. E.,... Rodrigues, P. R. C. (2015). Anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1 e o vírus da diarreia viral bovina em bovinos vacinados e não vacinados da região sul do estado do Rio Grande do Sul. *Science and Animal Health*, *3*(2), 209-220. doi: 10.15210/sah.v3i2.5610
- Begg, C. B., & Berlin, J. A. (1988). Publication bias: a problem in interpreting medical data. *Journal of the Royal Statistical Society. Series A*, *151*(3), 419-463. doi: 10.2307/2982993
- Bennett, R. (2003). The 'direct costs' of livestock disease: the development of a system of models for the analysis of 30 endemic livestock diseases in Great Britain. *Journal of Agricultural Economics*, *54*(1), 55-71. doi: 10.1111/j.1477-9552.2003.tb00048.x
- Bezerra, D. C., Chaves, N. P., Sousa, V. E., Santos, H. P., & Pereira, H. M. (2012). Fatores de risco associados à infecção pelo Herpesvírus Bovino Tipo 1 em rebanhos bovinos leiteiros da região Amazônica maranhense. *Arquivos do Instituto Biológico*, *79*(1), 107-111.

- Bezerra, N. P. C., Bezerra, D. C., Santos, H. P., Pereira, H. M., & Silva, A. L. A. (2019). 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*, 13(1), 5-12. doi: 10.21708/avb.2019.13.1.7818
- Biswas, S., Bandyopadhyay, S., Dimri, U., & Patra, P. H. (2013). Bovine herpes virus-1 (BHV-1) - a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis and prophylaxis. *Veterinary Quarterly*, 33(2), 68-81. doi: 10.1080/01652176.2013.799301
- Campos, F. S., Franco, A. C., Hübner, S. O., Oliveira, M. T., Silva, A. D., Esteves, P. A.,... Rijsewijk, F. A. M. (2009). High prevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. *Veterinary Microbiology*, 139(1-2), 67-73. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.05.015
- Can, M. F., Ataseven, V. S., & Yalçın, C. (2016). Estimation of production and reproductive performance losses in dairy cattle due to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) infection. *Veterinarski Arhiv*, 86(4), 499-513.
- Cerqueira, R. B., Carminati, R., Silva, J. M., Soares, G. C., Meyer, R., & Sardi, S. (2000). Serological survey for bovine herpesvirus 1 in cattle from different regions in the state of Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 37(6), 497-500. doi: 10.1590/S1413-95962000000600014
- Chen, X., Wang, X., Qi, Y., Wen, X., Li, C., Liu, X., & Ni, H. (2018). Meta-analysis of prevalence of bovine herpes virus 1 in cattle in Mainland China. *Acta Tropica*, 187(nº), 37-43. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.07.024
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Grünberg, W. (2021). *Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos e caprinos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Deeks, J. J., Higgins, J. P. T., & Altman, D. G. (2019). Chapter 10: Analysing data and undertaking meta-analyses. In J. P. T. Higgins, J. Thomas, J. Chandler, M. Cumpston, T. Li, M. J. Page, & V. A. Welch (Ed.), *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 6.1* (updated September 2020). Chichester (UK): John Wiley & Sons. Retrieved from <https://training.cochrane.org/handbook/current/chapter-10>
- Dias, J. A., Alfieri, A. A., Ferreira-Neto, J. S., Gonçalves, V. S. P., & Müller, E. E. (2013). Seroprevalence and risk factors of bovine herpesvirus 1 infection in cattle herds in the State of Paraná, Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, 60(1), 39-47. doi: 10.1111/j.1865-1682.2012.01316.x
- Dias, J. A., Alfieri, A. A., Médici, K. C., Freitas, J. C., Ferreira, J. S., Neto, & Müller, E. E. (2008). Risk factors for bovine herpesvirus 1 infection in cattle herds in the West region of Parana State. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 28(3), 161-168. doi: 10.1590/S0100-736X2008000300006
- Dias, M. M. (2006). *Análise da soroprevalência do herpesvírus bovino tipo 1 e do cortisol sérico em diferentes situações de manejo no Rio Grande do Sul*. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
- Evers, F. (2015). *Soroepidemiologia de agentes associados às doenças reprodutivas em bovinos leiteiros do noroeste do estado do Paraná*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil.
- Fernandes, L. A. M., Figueredo, V. C. S., Bezerra, A. R. A., Murta, D. C. R. X., Murta, D. V. F., Souza, R. B.,... Barbosa, L. K. G. (2019b). Taxa de prenhez em vacas leiteiras com uso de programa de

- IATF na região Norte de Minas Gerais. *Brazilian Journal of Development*, 5(11), 24811-24815. doi: 10.34117/bjdv5n11-161
- Fernandes, L. G., Denwood, M. J., Santos, C. S. A. B., Alves, C. J., Pituco, E. M., Romaldini, A. H. C. N.,... Azevedo, S. S. (2019a). 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*, 169, 104705. doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.104705
- Fino, T. C. M. (2011). *Anticorpos contra herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1) e vírus da diarréia bovina a vírus (BVDV) em rebanhos da raça Crioula Lageana no Planalto Catarinense*. Dissertação de mestrado, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.
- Flores, E. F. (2017). *Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas* (3a ed.). Santa Maria: UFSM.
- Frاندoloso, R., Anziliero, D., Spagnolo, J., Kuse, N., Fiori, C., Scortegagna, G. T.,... Kreutz, L. C. (2008). Prevalência de leucose enzoótica bovina, diarréia viral bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 9(4), 1102-1106.
- Freitas, E. J. P. (2016). *Características epidemiológicas da infecção de bovinos jovens de corte, em rebanhos com alto trânsito animal, para BoHV-1, BVDV, BTV e Leptospira spp. no Estado do Maranhão*. Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- Freitas, E. J. P., Lopes, C. E. R., Moura, J. M., Fº., Sá, J. S., Santos, H. P., & Pereira, H. M. (2014). Frequência de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos de corte não vacinados. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(3), 1301-1310. doi: 10.5433/1679-0359.2014v35n3p1301
- Galvão, C. L., Doria, J. D., & Alice, F. J. (1962/1963). Anticorpos neutralizantes para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos, em bovinos do Brasil. *Boletim do Instituto Biológico da Bahia*, 6(1), 15-25.
- Graham, D. A. (2013). Bovine herpes vírus-1 (BoHV-1) in cattle-a review with emphasis on reproductive impacts and the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. *Irish Veterinary Journal*, 66(1), 14. doi: 10.1186/2046-0481-66-15
- Haas, D. J., Barbieri, J. M., Freitas, E. J. P., Oliveira, M. S., Porto, B. R., Rodrigueus, R. O.,... Lage, A. P. (2020). Seroprevalence and intercurrentence of reproductive pathogens in cattle from family farms in North of Minas Gerais, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 41(1), 145-158. doi: 10.5433/1679-0359.2020v41n1p145
- Hage, J. J., Schukken, Y. H., Dijkstra, T. H., Barkema, H. W., Van Valkengoed, P. H. R., & Wentik, G. H. (1998). Milk production and reproduction during a subclinical bovine herpesvirus 1 infection on a dairy farm. *Preventive Veterinary Medicine*, 34(2-3), 97-106. doi: 10.1016/S0167-5877(97)00088-3
- Holz, C. L., Cibulski, S. P., Teixeira, T. F., Batista, H. B. C. R., Campos, F. S., Silva, F. S.,... Roehle, P. M. (2009). Seroprevalence of bovine herpesvirus types 1 and/or 5 in the state of Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29(9), 767-773. doi: 10.1590/S0100-736X2009000900014
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (2017). Censo Agropecuário 2017: SIDRA: Sistema IBGE de Recuperação Automática. Retrieved from

<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuário/censo-agropecuário-2017>.

- Junqueira, J. R. C., & Alfieri, A. A. (2006). Falhas na reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para as causas infecciosas. *Semina: Ciências Agrárias*, 27(2), 289-298. doi: 10.5433/1679-0359.2006v27n2p289
- Junquiera, J. R. C., Freitas, J. C., Alfieri, A. F., & Alfieri, A. A. (2006). Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com BoHV-1, BVDV e *Leptospira hardjo*. *Semina: Ciências Agrárias*, 27(3), 471-480. doi: 10.5433/1679-0359.2006v27n3p471.
- Lima, F. A. B. (2017). *Infecção pelo alphaherpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina e Brucella abortus em fêmeas bovinas de corte abatidas em um frigorífico sob SIF no estado do Maranhão*. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.
- Lima, M. S., Nogueira, A. H. C., Okuda, L. H., Stefano, E., & Pituco, E. M. (2011). Pesquisa de anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1 em bovinos no Brasil. *Biológico*, 73(2), 214-218.
- Lovato, L. T., Weiblen, R., Tobias, F. L., & Moraes, M. P. (1995). Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB 1): inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, 25(3), 425-430. doi: 10.1590/S0103-84781995000300017
- Macías-Rioseco, M., Silveira, C., Fraga, M., Casaux, L., Cabrera, A., Francia, M. E.,... Riet-Correa, F. (2020). Causes of abortion in dairy cattle in Uruguay. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 40(5), 325-332. doi: 10.1590/1678-5150-PVB-6550.
- Matos, P. F. (2004). *Rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/vulvovaginite pustulosa infecciosa (IBR/IPV): prevalência e incidência em bovinos leiteiros criados em cinco microrregiões no Estado da Bahia*. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Médici, K. C., Alfieri, A. A., & Alfieri, A. F. (2000). Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. *Ciência Rural*, 30(2), 347-350. doi: 10.1590/S0103-84782000000200025
- Melo, C. B., Leite, R. C., Lobato, Z. I. P., & Leite, R. C. (2004). Infection by Neospora caninum associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 119(2-3), 97-105. doi: 10.1016/j.vetpar.2003.12.002.
- Melo, C. B., Lobato, Z. I. P., Camargos, M. F., Souza, G. N., Martins, N. R. S., & Leite, R. C. (2002). Distribuição de anticorpos para herpesvírus 1 em rebanhos bovinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 54(6), 575-580. doi: 10.1590/S0102-09352002000600003
- Mendes, M. B., Bittar, J. F. F., Pereira, W. A. B., Arduino, G. G. C., Bittar, E. R., Panetto, J. C. C., & Santos, J. J. (2009). Determinação da prevalência das principais doenças da reprodução no rebanho bovino da região de Uberaba-MG. *Ciência Animal Brasileira*, (Suppl. 1), 772-777.
- Mineo, T. W., Alenius, S., Näslund, K., Montassier, H. J., & Björkman, C. (2006). Distribution of antibodies against Neospora caninum, BVDV and BHV-1 among cows in Brazilian dairy herds with reproductive disorders. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 15(4), 188-192. doi:
- Miranda, I. C. S. (2012). *Fatores Associados à Infecção pelo vírus da diarreia viral bovina e pelo herpesvírus bovino tipo 1 em rebanhos leiteiros da Mesorregião Centro-Oriental do Rio Grande do Sul*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., & Altman, D. G. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Medicine*, 6(7), e1000097. doi: 10.1371/journal.pmed.1000097
- Nandi, S., Kumar, M., Manohar, M., & Chauhan, R. S. (2009). Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 10(1), 85-98. doi: 10.1017/S1466252309990028
- Okuda, L. H., Aguiar, D. M., Cavalcante, G. T., Stefano, E., Del Fava, C., Pituco, E. M.,... Gennari, S. M. (2006). Inquérito soro-epidemiológico do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) no município de Montenegro, estado de Rondônia, Brasil. *Biológico*, 68(Suppl.), 157-159.
- Oliveira, R. A. M., Lorenzetti, E., Alfieri, A. A., & Lisbôa, J. A. N. (2015). Prevalence of latent infection with BoHV-1 and BoHV-5 in beef cattle of Parana, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 67(5), 1217-1225. doi: 10.1590/1678-4162-7496
- Pasqualotto, W., Sehnem, S., & Winck, C. A. (2015). Incidência de rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD) e leptospirose em bovinos leiteiros da região oeste de Santa Catarina - Brasil. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, 8(2), 249-270. doi: 10.17765/2176-9168.2015v8n2p249-270
- Pereira, E. C. M. (2011). *Detecção sorológica e molecular do herpesvírus bovino 1 em estruturas ovarianas de fêmeas bovinas*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.
- Pereira, E. T. N., Freitas, F. E., Neto, Cordeiro, A. L. S., Silva, L. M. T., & Figueiredo, Y. N. (2020). Avaliação do escore de cio e sua influência na taxa de concepção em vacas nelore no norte de Minas Gerais. *Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara*, 2(3), 32-45. doi: 10.46636/recital.v2i3.129
- Pereira, P. A. C., Ferreira, A. M., Carvalho, L. B., Verneque, R. S., Henry, M., & Leite, R. C. (2013). Comparação dos índices de eficiência reprodutiva por diferentes métodos em rebanhos bovinos leiteiros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 65(5), 1383-1388. doi: 10.1590/S0102-09352013000500016
- Piovesan, M., Fernandes, M. H. V., Corrêa, R. A., Prado, M. H. J., Camargo, A. D., & Rodrigues, P. R. C. (2013). Anticorpos contra o herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina e vírus da leucose enzoótica bovina na Região da Campanha do estado do Rio Grande do Sul. *Science and Animal Health*, 1(1), 38-49. doi: 10.15210/sah.v1i1.2609
- Pituco, E. M. (1988). *Ocorrência da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em rebanhos bovinos criados nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná e Minas Gerais*. Dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Poletto, R., Kreutz, L. C., Gonzales, J. C., & Barcellos, L. J. G. (2004). Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do municípios de Passo Fundo, RS. *Ciência Rural*, 34(2), 595-598. doi: 10.1590/S0103-84782004000200043
- Queiroz-Castro, V. L. D., Costa, E. P., Alves, S. V. P., Guimarães, J. D., Dohanik, V. T., Santos, M. R.,... Silva, A., Jr. (2019). Detection of bovine herpesvirus 1 in genital organs of naturally infected cows. *Theriogenology*, 130, 125-129. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.03.003
- Quincozes, C. G. (2005). *Prevalência e fatores de risco associados às infecções pelos herpesvírus bovino tipo 1 e 5 (BHV-1 e 5) e pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) nos rebanhos dos*

municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí. Dissertação de mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

- Ran, X., Chen, X., Ma, L., Wen, X., Zhai, J., Wang, M.,... Ni, H. (2019). A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle in China. *Acta Tropica*, 190, 296-303. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.08.031
- Reichel, M. P., Ayanegui-Alcérrea, M. A., Gondim, L. F. P., & Ellis, J. T. (2013). What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. *International Journal for Parasitology*, 43(2), 133-142. doi: 10.1016/j.ijpara.2012.10.022
- Rosa, C. O., Morotti, F., Bonato, D. V., Souza, A. K., Silva, C. B., Diniz, L. T., & Seneda, M. M. (2017). Comparação da taxa de concepção com a utilização ou não de um potencializador de sêmen na inseminação artificial em tempo fixo em bovinos. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, 15(Suppl. 2), 331-332. doi: 10.7213/cienciaanimal.v15iSuppl%202.17412
- Santos, M. R., Ferreira, H. C. C., Santos, M. A., Saraiva, G. L., Tafuri, N. F., Santos, G. M.,... Silva, A., Jr. (2014). Antibodies against bovine herpesvirus 1 in dairy herds in the state of Espírito Santo, Brasil. *Revista Ceres*, 61(2), 280-283. doi: 10.1590/S0034-737X2014000200017
- Sayers, R. G. (2017). Associations between exposure to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) and milk production, reproductive performance, and mortality in Irish dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 1340-1352. doi: 10.3168/jds.2016-11113
- Silva, B. P., Soares, L. B. F., Macêdo, A. A., Oliveira, J. M. B., Aragão, B. B., Nascimento, S. A., & Pinheiro, J. W., Jr. (2019). Seroprevalence and risk factors for bovine herpesvirus type 1 and occurrence of bovine viral diarrhoea virus infections in dairy cows in Pernambuco. *Medicina Veterinaria (Brazil)*, 13(3), 399-405. doi: 10.26605/medvet-v13n3-3302
- Silva, F. S., Oliveira, J. M. B., Batista, A. F. B., Fº., Ribeiro, C. P., Pituco, E. M., & Pinheiro, J. W., Jr. (2015). Análise epidemiológica da infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em bovinos no Estado de Pernambuco. *Acta Scientiae Veterinarie*, 43, 1324.
- Silva, M. C. O. P. (2011). *Soroprevalência do herpesvírus bovino tipo 1 e 5 no estado de São Paulo, Brasil*. Dissertação de mestrado, Instituto Biológico, São Paulo, SP, Brasil.
- Sousa, V. E., Bezerra, D. C., Chaves, N. P., Santos, H. P., & Pereira, H. M. (2013). Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(1), 21-25.
- Sponchiado, D. (2014). *Prevalência dos principais vírus respiratórios em bovinos da raça holandesa, no estado do Paraná*. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, Brasil.
- Statham, J. M., Randall, L. V., & Archer, S. C. (2015). Reduction in daily milk yield associated with subclinical bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary Record*, 177(13), 339. doi: 10.1136/vr.103105
- Thompson, J. A., Leite, R. M. H., Gonçalves, V. S. P., Leite, R. C., Bandeira, D. A., Herrmann, G. P.,... Page, A. P. (2006). 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*, 76(3-4), 290-301. doi: 10.1016/j.prevetmed.2006.05.010

- Thrusfield, M. (2005). *Veterinary epidemiology*. Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Tomich, R. G. P., Serra, C. V., Bomfim, M. R. Q., Campos, F. S., Lobato, Z. I. P., Pellegrin, A. O.,... Barbosa-Stancioli, E. F. (2009). Reproductive diseases serosurvey in dairy cattle from rural settlements of corumbá city, mato grosso do sul state, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61(4), 986-991. doi: 10.1590/S0102-09352009000400029
- Van Schaik, G., Shoukri, M., Martin, S. W., Schukken, Y. H., Nielen, M., Hage, J. J., & Dijkhuizen, A. A. (1999). Modelling the effect of an outbreak of bovine herpesvirus type 1 on herd-level milk production of Dutch dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 82(5), 944-952. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75313-0
- Vaz, R. Z., & Lobato, J. F. P. (2010). Efeito da idade de desmame no desempenho reprodutivo de novilhas de corte expostas à reprodução aos 13/15 meses de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1), 142-150. doi: 10.1590/S1516-35982010000100019
- Vieira, S., Brito, W. M. E. D., Souza, W. J., Alfaia, B. T., & Linhares, D. C. L. (2003). Anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (BHV-1) em bovinos do estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, 4(2), 131-137.
- Wathes, D. C., Oguejiofor, C. F., Thomas, C., & Cheng, Z. (2020). Importance of viral disease in dairy cow fertility. *Engineering*, 6(1), 26-33. doi: 10.1016/j.eng.2019.07.020
- World Organization for Animal Health (2008). *Feeding the world better by controlling animal diseases*. Editorials from the Director General. Retrieved from https://www.oie.int/index.php?id=201&tx_ttnews%5Btt_news%5D=458&cHash=a54e062304#:~:text=With%20regard%20to%20livestock%20production,recent%20years%20is%20now%20stabilising.
- Zardo, R. (2017). *Prevalência e variáveis associadas à infecção por BoHV-1, BVDV, Leptospira spp. e Neospora caninum em bovinos leiteiros no município de Novo Xingu-RS*. Dissertação de mestrado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.