

ANTONIO FERNANDO BARBOSA BATISTA FILHO

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA
LÍNGUA AZUL EM BOVINOS NA MICRORREGIAO GARANHUNS,
PERNAMBUCO

GARANHUNS

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
RUMINANTES

ANTONIO FERNANDO BARBOSA BATISTA FILHO

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA
LÍNGUA AZUL EM BOVINOS NA MICRORREGIAO GARANHUNS,
PERNAMBUCO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes

Orientador: Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior

GARANHUNS
2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
RUMINANTES**

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA
LÍNGUA AZUL EM BOVINOS NA MICRORREGIAO GARANHUNS,
PERNAMBUCO**

Dissertação elaborada por

ANTONIO FERNANDO BARBOSA BATISTA FILHO

Aprovada em 21/07

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof. Dr. Leonildo Bento Galiza da Silva
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

A minha família, pelo eterno apoio dado nos momentos mais difíceis da minha vida e pelo apoio e confiança nas minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais (Fernando e Maria de Lourdes), pela educação, atenção, paciência e dedicação por toda minha vida.

Aos meus avós Celina Barbosa, Nair e Otacílio Almeida. Alberto Flávio, meu tio, conselheiro e companheiro por toda vida. Leidy Jane, Severina Almeida (*in Memoriam*) e Rodolfo Cavalcanti pelo suporte. Meus tios e primos, que mesmo não citados, não foram esquecidos.

Meu orientador, amigo e companheiro de shows, José Wilton Pinheiro Júnior, pela paciência, amizade e confiança.

Aos Professores: Daniel Brandespim, Gustavo Ferrer, Lucilene Simões, Marcos Renato, Daniela Oliveira, Taciana Ramalho, José Augusto, Carla Lopes e Flávia Menezes, pelas conversas, sorrisos e pelo apoio nas horas de necessidade.

Aos colegas de profissão e companheiros de laboratório, Bruna Soares, Jullyana Victor, Márcia Torres, Joab Carvalho, Paulo Jedyson, Roberta Patriota, Valéria Tenório, Poliana Araújo, Maiana Chaves, Rafael Otaviano, Francisco Pinheiro, Stephanie Gueiros, Joyce Patú, Flávia Ramalho, Robespierre Augusto, Érica Chaves, Adjane Dias, Karol Calado, Bruno Pajeú, Guilherme Marcolino.

Meus amigos Junior Mário, Gesika Silva, Pollyanne Oliveira, Jânio Brito, Jonas Borges, Marlos Rego, André França e Renata Cezar pela disposição para o trabalho, pela companhia e pelas risadas, sem vocês, nada teria funcionado e não teria graça.

Meus companheiros de shows, Everaldo Júnior, Artur Vicente, Fábio Santos, Maurício Valença, Valentim Júnior, Márcio Heliodoro, Hugo e Ricardo Magalhães, Sandro Lima, Wilfred Gadelha, Eduardo Holanda.

A todos que de certa forma contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Muito Obrigado!

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho analisar os aspectos epidemiológicos da infecção pelo Vírus da Língua Azul (VLA) em bovinos leiteiros na microrregião Garanhuns do Estado de Pernambuco, Brasil. Foram coletadas 384 amostras sanguíneas de bovinos fêmeas em idade reprodutiva, procedentes de 20 propriedades dos 19 municípios que compõem a região. As amostras foram submetidas ao teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA) para pesquisa de anticorpos Anti-VLA. Observou-se uma prevalência de 71,3% (274/384; IC – 66,5% - 75,7%) de animais positivos. Em relação ao número de focos, 100% (20/20) das propriedades apresentaram ao menos um animal positivo no teste sorológico. Os fatores de risco identificados foram: não realizar criação consorciada (OR = 3,2; p = 0,012); presença de áreas alagadas na propriedade (OR = 11,8; p = 0,001); não realizar controle de insetos (OR = 2,1; p = 0,033); rebanho aberto (OR = 2,1; p = 0,001); utilização de inseminação artificial (OR = 8,8; p = 0,003). Este é o primeiro registro da infecção pelo Vírus da Língua Azul em bovinos no estado de Pernambuco e a partir dos resultados obtidos conclui-se que a infecção encontra-se distribuída na região e sugere-se que medidas de controle baseadas no manejo higiênico-sanitário e biosseguridade sejam implementadas para evitar a propagação do vírus, assim como estudos epidemiológicos devem ser realizados com o objetivo de identificar os sorotipos que circulam na população de ruminantes.

Palavras-chave: fatores de risco, Língua Azul, ruminantes, VLA

ABSTRACT

This study aimed at analyzing the epidemiological aspects of Bluetongue Virus (BTV) infection on dairy cattle in Garanhuns micro-region, Pernambuco state, Brazil. 384 blood samples were collected from female cattle in reproductive age from 20 properties of 19 municipalities that compose the region. These samples were subject to immunodiffusion assay (AGID) to detect the presence of anti-BTV antibodies. There was a prevalence of 71.3% (274/384; CI – 66.5% - 75.7%) of positive animals. Regarding the foci numbers, 100% (20/20) of properties had at least one positive animal in the serum test. The risk factors identified were not performing intercropping breeding (OR = 3.2; $p = 0.012$), wetlands presence in the property (OR = 2.1; $p = 0.001$); artificial insemination using (OR = 8.8; $p = 0.003$). This is the first report of BTV infection on cattle in Pernambuco state and from the results suggest it is widespread. Thus, the suggested control measures based on hygienic-sanitary management and biosecurity are intended to prevent/to avoid virus spreading. Moreover, epidemiological studies should be performed in order to identify the serotypes circulating in ruminant population.

Keywords: risk factors, bluetongue, ruminants, BTV

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1: Dados da prevalência da Língua Azul em bovinos em nove 17
Unidades Federativas do Brasil

LISTA DE FIGURAS

Revisão de Literatura

Figura 1: Ciclo epidemiológico do VLA 18

Artigo

Figura 1: Distribuição espacial da prevalência da infecção pelo VLA em rebanhos bovinos da microrregião Garanhuns, Pernambuco, 2015 43

LISTA DE QUADROS

Artigo

- Quadro 1: Análise dos fatores de risco associados à infecção pelo VLA em rebanhos bovinos da microrregião Garanhuns, Pernambuco, 2015. 41

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 | OBJETIVOS | 15 |
| | 2.1. Geral | 15 |
| | 2.2 Específicos | 15 |
| 3 | REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| | 3.1. Etiologia | 16 |
| | 3.2. Epidemiologia | 17 |
| | 3.3. Patogenia | 20 |
| | 3.4. Sinais clínicos e achados necroscópicos | 21 |
| | 3.5. Diagnóstico | 22 |
| | 3.6. Prevenção e Controle | 23 |
| 4 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 25 |
| 5 | ARTIGO CIENTÍFICO | 32 |
| 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 44 |
| 7 | APÊNDICE A: Questionário Investigativo | 45 |
| 8 | APÊNDICE B: Termo de Autorização | 48 |
| 9 | ANEXO A: Normas para publicação em periódico: Pesquisa Veterinária Brasileira | 49 |
| 10 | Licença para uso de animais em pesquisa | 50 |

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro no cenário mundial. O Brasil é detentor do segundo maior rebanho efetivo do mundo, com cerca de 200 milhões de cabeças. Além disso, desde 2004, assumiu a liderança nas exportações, com 20,0% da carne exportada e vendas em mais de 180 países (BRASIL, 2014).

O estado de Pernambuco destaca-se como o segundo maior produtor de leite da região Nordeste, sendo a 8º maior produção do país, mas dentre todos os outros estados, possui a maior taxa de crescimento da produção láctea no Brasil, com 173,0% de elevação em relação aos últimos dez anos (SEBRAE, 2010). A microrregião Garanhuns, interior de Pernambuco, possui rebanho bovino estimado em 239.786 animais, correspondendo a 13,1% do rebanho dessa espécie no estado, sendo a população de ruminantes geral de 311.121, incluindo além dos bovinos, bubalinos, caprinos e ovinos (IBGE, 2013).

Uma das principais causas de perdas econômicas e de preocupação para o bovinocultor é a ocorrência de abortos, pois envolve perda de um animal, atraso na concepção e prejuízo para a saúde da fêmea (ORLANDO, 2013). Além disso, outros distúrbios reprodutivos são responsáveis por perdas econômicas, tais como: repetição de cio, nascimento de bezerros com alterações teratogênicas, fetos mumificados e crias fracas (PELEGRIN et al., 1997).

Os distúrbios reprodutivos são classificados em não infecciosos e infecciosos (JUNQUEIRA; ALFIERI, 2010). Os não-infecciosos, geralmente são ocasionados por fatores tóxicos, como intoxicações por produtos químicos ou plantas tóxicas; mudanças no padrão endocrinológico e falhas de manejo (NASCIMENTO et al., 2010). Já os distúrbios infecciosos podem ser de origem bacteriana, fúngica, viral ou protozoária (GIVENS; MARLEY, 2008). A Língua Azul (LA) ou *Bluetongue* destaca-se pelo impacto negativo para bovinocultura (KHAIR et al., 2014)

A LA é uma arbovirose que acomete bovinos, caprinos, ovinos e ruminantes silvestres causada pelo Vírus da Língua Azul (VLA) e transmitida por insetos hematófagos do gênero *Culicoides* (WILSON et al., 2008).

É considerada uma enfermidade infecciosa, não contagiosa, de notificação obrigatória presente na lista da Organização Mundial de Saúde Animal, podendo apresentar impactos socioeconômicos ou sanitários, repercutindo no comércio internacional de animais e produtos de origem animal (OIE, 2008).

As restrições impostas por países importadores de produtos derivados de bovinos e ovinos, em função da imposição de testes para a exportação de animais e sêmen, bem como as próprias perdas diretas nos rebanhos afetados, causam um grande impacto econômico para o Brasil, porém não são encontrados dados econômicos a esse respeito na literatura (SCOLARI et al., 2011).

O impacto dessa enfermidade sobre a economia da Holanda foi de 32 milhões de euros em 2006, ultrapassando valores superiores a 160 milhões entre 2007 a 2008, incluindo gastos com mão de obra, serviços de médicos veterinários e descarte de animais, além das perdas com restrições mercadológicas (VELTHUIS et al., 2010). O controle da LA só será possível se estudos epidemiológicos forem intensificados (BERNARDES, 2011).

No Brasil, assim como em outros países sul-americanos, estudos soropidemiológicos indicam que o VLA está distribuído por todo o país em ruminantes (ABREU, 1982; CASTRO et al., 1992, COSTA, 2000; KONRAD et al., 2003; COSTA et al., 2006; ALVES et al., 2009; MELO et al., 2000; NOGUEIRA et al., 2009; TOMICH et al., 2009; VENDITTI, 2009; ANTONIASSI, 2010; SOUZA et al., 2010; BERNARDES, 2011; MOTA et al., 2011; DORNELES et al., 2012; PINHEIRO et al., 2013).

Em Pernambuco, Mota et al. (2011) observaram uma prevalência para a infecção em caprinos e ovinos de 3,9% e 4,3%, respectivamente. Entretanto, não existem estudos sobre a ocorrência dessa infecção em bovinos no estado.

Tendo em vista a escassez de dados e o impacto que essa infecção pode ocasionar para o rebanho bovino, objetivou-se realizar um estudo epidemiológico da infecção pelo Vírus da Língua Azul em bovinos leiteiros, na microrregião Garanhuns, do estado de Pernambuco.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar um estudo epidemiológico da infecção pelo Vírus da Língua Azul em bovinos na microrregião Garanhuns, Pernambuco.

2.1. Objetivos específicos

- Determinar a prevalência da infecção pelo Vírus da Língua Azul em bovinos;
- Analisar os fatores de risco associados à infecção pelo Vírus da Língua Azul;
- Caracterizar a distribuição da prevalência da infecção pelo Vírus da Língua Azul em bovinos na microrregião Garanhuns.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Etiologia

O VLA é um vírus não envelopado, icosaédrico e pertencente ao gênero *Orbivirus*, da família *Reoviridae* (MONACO et al., 2006; ROY, 2008). Descreve-se na literatura a existência de 26 sorotipos do vírus (HOFMANN et al., 2008; MAAN et al., 2011) em vários países tropicais e temperados (LOBATO et al., 1997).

A partícula viral possui aproximadamente 70 nm de diâmetro, compreendendo o genoma de dez segmentos de ácido ribonucleico de fita dupla, circundado por três camadas proteicas concêntricas que formam o capsídeo. A camada interna é constituída pela proteína viral “3” (VP3) e contém três enzimas na superfície interna (VP1, VP4 e VP6). A camada média é composta por VP7, que possui grupos antigênicos. VP2 e VP5 formam a camada externa. VP2 contém a maioria dos antígenos neutralizadores virais, tendo uma sequência variável entre os diferentes sorotipos (CHAGAS; PINHEIRO, 2003).

A identidade dos sorotipos virais do VLA é realizada pela especificidade das reações entre proteínas de ligação e penetração na superfície do capsídeo viral e os anticorpos neutralizantes que são produzidos durante o período de infecção no hospedeiro. Os genes que codificam estas proteínas apresentam variação na sequência de nucleotídeos que se relacionam tanto com o sorotipo viral quanto a origem geográfica do isolado viral (MAAN et al., 2009).

Apesar da importância econômica, pouco se sabe sobre os sorotipos de VLA existentes no Brasil, pois a maioria dos relatos revela a presença de anticorpos pela Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) e pelo ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), indicando apenas que o animal teve contato com o vírus, porém sem especificar os sorotipos (VENDITTI, 2009).

Os sorotipos 4 e 12 foram isolados, o primeiro (VLA-4) de bovinos exportados para a Flórida, nos EUA (GROOCOCK; CAMPBELL, 1982) e de ovinos leiteiros no Rio de Janeiro em 2014 (BALARO et al., 2014) e o segundo sorotipo (VLA-12), de ovinos em um surto da doença no Paraná em 2002 (CLAVIJO et al., 2002) e no Rio Grande do Sul em 2010 (ANTONIASSI, 2010).

O vírus é estável na presença de proteínas e em sangue mantido sob congelamento -80°C ou inferior, porém instável quando armazenado a temperatura de -20°C . É sensível ao $\text{pH} < 6.0$ e > 8.0 , aos desinfetantes comuns como compostos fenólicos e iododóforos e

as beta-propiolactona e pode ser inativado pelo calor a 50°C durante 3 horas ou 60°C por 15 minutos (OIE, 2008).

3.2. Epidemiologia

O VLA é conhecido por infectar ruminantes domésticos na África, Ásia, Américas, Austrália e alguns países europeus (GIBBS; GREINER, 1994). Especificamente, o vírus existe em uma extensa faixa que inclui áreas tropicais, subtropicais e regiões temperadas entre latitudes de aproximadamente 40° Norte e 35° Sul (MACLACHLAN, 2011), sendo sua distribuição restrita a áreas onde insetos adultos adaptados estão presentes e a transmissão é limitada a locais onde as condições climáticas são favoráveis (MELLOR; BOORMAN, 1995).

No Brasil inquéritos epidemiológicos foram realizados com o objetivo de determinar a prevalência da infecção em bovinos, conforme tabela 1.

Tabela 1: Dados da prevalência da Língua Azul em bovinos nas Unidades Federativas do Brasil

| Autor | Região | Prevalência | Teste diagnóstico |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------------|
| Abreu (1982) | Amapá | 21,3% | IDGA |
| Abreu (1982) | Pará | 32,5% | IDGA |
| Abreu (1982) | Amazonas | 25,5% | IDGA |
| Abreu (1982) | Roraima | 15,9% | IDGA |
| Castro et al. (1992) | Minas Gerais | 76,3% | IDGA |
| Melo et al. (2000) | Paraíba | 4,4% | IDGA |
| Konrad et al. (2003) | Minas Gerais | 59,51% | IDGA |
| Costa et al. (2006) | Rio Grande do Sul | 0,6% | IDGA |
| Tomich et al. (2009) | Mato Grosso do Sul | 42,0% | IDGA |
| Venditti (2009) | São Paulo | 74,2% | IDGA |
| | | 0,04% | Nested RT-PCR |
| Bernardes (2011) | São Paulo | 73,5% | VN + IDGA |

Convenções: IDGA – Imunodifusão em gel de agarose; Nested RT-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (Nested); VN – Vírus-neutralização

O VLA é infeccioso, mas não-contagioso, sendo transmitido entre hospedeiros ruminantes basicamente por vetores *Culicoides* (ZIENTARA; SAILLEAU; BREAD, 2006). A manutenção do vírus ocorre por um ciclo essencial em ruminantes e espécies de *Culicoides* (KONRAD et al., 2003; MULABBI et al., 2013). Outros insetos como *Aedes lineatopennis*, *Ornithorus coriaceus* e *Melophagus ovinus* (RIET-CORREA et al., 1996), *Stomoxys* spp. e *Tabanus* spp. também podem transmitir o vírus (KUSILUKA; KAMBARAGE, 1996).

Os *Culicoides* sp. estão entre os menores insetos que se alimentam de sangue, atingindo um tamanho que varia entre 1 a 3 mm de comprimento. Os adultos têm hábitos crepusculares, ou seja, ao amanhecer e no fim da tarde (MELLOR et al., 2009). As espécies de *Culicoides* sp. são vetores biológicos do VLA (LEANDER, 2002). Existem mais de mil espécies de *Culicoides*, mas menos de vinte são consideradas vetores competentes do agente (GANTER, 2014). *C. insignis* é a principal espécie envolvida com a epidemiologia da doença no continente Sul Americano (MELLOR et al., 2000) sendo a espécie mais comum na região Nordeste do Brasil (CARVALHO; SILVA, 2014).

A transmissão transplacentária foi comprovada para bovinos, e pode ocorrer também a infecção de animais adultos pela ingestão de placenta contaminada (MENZIES et al., 2008). Bezerros também podem se infectar pela ingestão de colostro de vacas infectadas (BACKX et al., 2009).

O ciclo epidemiológico do VLA encontra-se disposto na figura 1.

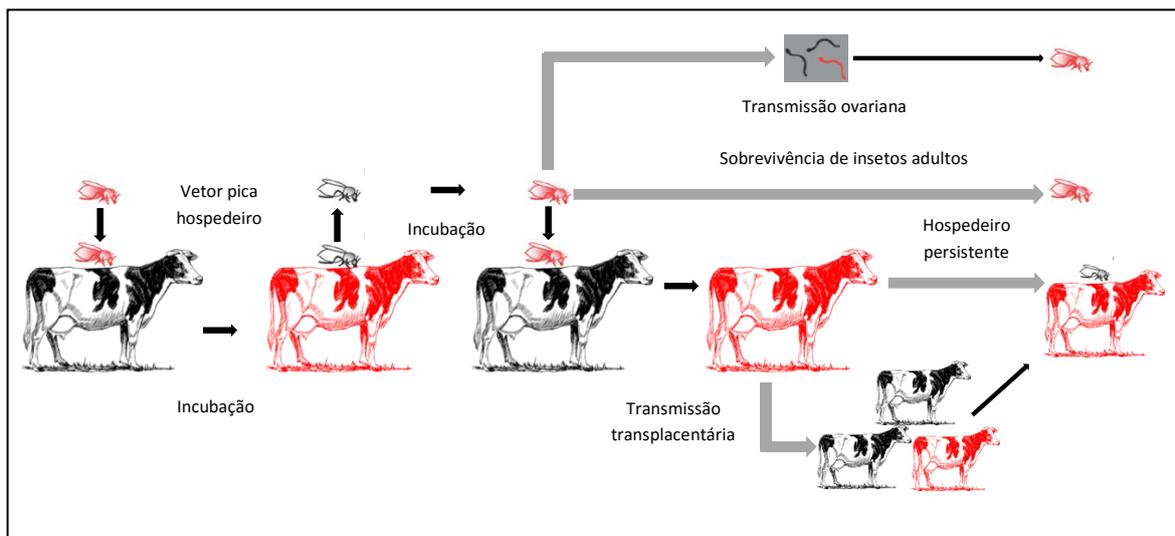


Figura 1 – Ciclo epidemiológico do VLA, adaptado de Wilson et al. (2008)

Raramente o vírus pode ser excretado no sêmen de machos em viremia (NOGUEIRA et al, 2009; AUSVETPLAN, 2012). Ele não é encontrado no espermatozoide, mas foi isolado de testículo, epidídimo, vesícula seminal, glândula bulbouretral e próstata durante a viremia (NOGUEIRA et al., 2007). Estima-se que o agente também possa ser transmitido pelo compartilhamento de agulhas usadas em tratamento dos animais (WEBB; QUAY, 2008).

O período de incubação varia entre cinco a vinte dias, e é possivelmente influenciado pelo sorotipo viral (AUSVETPLAN, 2012). Bovinos infectados podem manter essa viremia por períodos superiores a cem dias (GIBBS; GREINER, 1994). A ocorrência da doença clínica é variável. A taxa de mortalidade e a severidade dos sinais clínicos são influenciadas pela espécie, raça e idade do animal infectado, pelo *status* imunológico do animal, pelo sorotipo e por interações com o meio ambiente (TOMICH et al., 2009).

A distribuição geográfica do VLA está condicionada a uma complexa interação entre a tríade: vírus, vetor e hospedeiro, influenciados por fatores ambientais, que afetam a capacidade vetorial, a dinâmica populacional dos *Culicoides*. Condições de temperatura e umidade favorecem a multiplicação e manutenção dos vetores, facilitando a condição enzoótica da doença (NOGUEIRA et al., 2009).

Diversos fatores podem afetar a disseminação do vírus para áreas livres da doença, tais como: mudanças no clima em regiões fronteiriças com áreas enzoóticas, trânsito de animais, mudança nas características da estação chuvosa e, principalmente, movimentação dos ventos que podem direcionar os vetores de regiões distantes para áreas livres da doença (NOGUEIRA et al., 2007).

Outros fatores como temperatura e umidade influenciam a dinâmica populacional do vetor. Temperaturas elevadas reduzem a duração do ciclo gonotrófico e aumenta a taxa de picadas do vetor (CHAGAS; PINHEIRO, 2003), podendo variar de sete dias em áreas quentes até sete meses em áreas mais frias (WITTMAN; BAYLIS, 2000). As condições mínimas para que haja a manutenção do vetor durante o inverno seria uma temperatura superior a 12,5°C no mês mais frio e um máximo de 10 dias consecutivos de temperaturas inferiores a 13°C (GORCHS; LARGER, 2001).

Animais criados de maneira intensiva ou estabulada tem uma maior susceptibilidade ao vetor transmissor do vírus (COSTA, 2000). Talvez pela alta concentração dos animais ou pelas características das propriedades, tais como: umidade

elevada e presença de água parada favorecendo a presença e multiplicação dos *Culicoides* (KONRAD et al., 2003).

A falta de higiene das instalações pode contribuir para a proliferação de vetores transmissores do agente. O risco de disseminação do VLA aumenta de acordo com a frequência de vermifugação ou vacinação, uma vez que as aglomerações de animais, bem como o possível uso comum de seringas, podem contribuir para a disseminação mecânica do agente nos rebanhos (ALVES et al., 2008).

3.3. Patogenia

Quando uma fêmea adulta de *Culicoides* pica algum ruminante, uma pequena quantidade de saliva é injetada na pele. Se o inseto estiver infectado pelo VLA e eliminando o vírus, essa partícula viral será depositada na pele durante o repasto sanguíneo juntamente com a saliva (DARPEL et al., 2009).

Após a penetração cutânea, o vírus migra para os linfonodos onde ocorre a primeira replicação. O VLA pode ser disseminado para outros tecidos corpóreos onde a replicação ocorre principalmente em fagócitos mononucleares e células endoteliais. Após isso, o vírus persiste com a invaginação pela membrana celular dos eritrócitos, fazendo com que haja uma aparente proteção do sistema imunológico. Assim facilitando a prolongada viremia que ocorre nos bovinos e promovendo uma infecção dos insetos hematófagos que venham a se alimentar do animal virêmico (MACLACHLAN; GARD, 2009).

O vírus se dissemina, por via hematogênica, tendo tropismo por hemácias e células epiteliais (KONRAD et al., 2003) Os eritrócitos possuem uma função de “Cavalo de Tróia”, que facilita tanto a viremia prolongada em bovinos infectados como a infecção de vetores (MACLACHLAN, 1994).

O hospedeiro infectado passa por um curto período de incubação antes de desenvolvimento de um nível infeccioso do vírus e, os vetores que picam o hospedeiro, enquanto os níveis do vírus são altos, podem ser infectados. O vírus ingerido se replica nos vetores até atingir as glândulas salivares, tornando, assim, o vetor infeccioso e completando o ciclo biológico do agente (MELLOR, 2008; WILSON et al., 2008; BURGIN, 2011).

Após a ingestão de sangue virêmico, por um vetor competente, a titulação viral geralmente diminui por um período variável e depois aumenta significativamente até atingir um pico de manutenção para o resto da vida do inseto. A transmissão se torna

possível após completar o período de incubação viral, que é o intervalo entre a ingestão da partícula viral até sua liberação na saliva (MELLOR et al., 2009).

Os sinais clínicos e as lesões causadas pelo VLA são decorrentes das lesões nas células endoteliais, que como consequência evolui para a degeneração e necrose do endotélio vascular (MACLACHLAN, 1994). Edema lingual severo pode resultar em diminuição do fluxo sanguíneo e cianose do órgão, podendo haver protrusão do órgão dando uma aparência de uma língua azulada. O vírus pode atravessar a barreira transplacentária e infectar o feto, podendo causar sua morte devido à hepatite necrótica, supressão do sistema hematopoiético do animal (KUSILUKA; KARAMBAGE, 1996).

A severidade de danos cerebrais nos fetos é inversamente proporcional à idade gestacional. Fetos inoculados com o vírus mais precoces durante a gestação (70 a 85 dias de gestação), caso sobrevivam, possuem alterações mais severas do sistema nervoso central (hidranencefalia e má formação cerebelar). A teratogênese é mais comum que os casos de abortos causados pelo VLA (MACLACHLAN et al., 2000). Abortos podem ocorrer em diversas fases gestacionais, variando entre 85 dias à 8 meses (WOUDA et al., 2009).

3.4. Sinais clínicos e achados necroscópicos

Os sinais clínicos indicativos da LA nos animais afetados são mais proeminentes nos ovinos do que em bovinos e a frequência relativa de sinais clínicos específicos pode ser mais variável em rebanhos bovinos do que quando comparados com rebanhos ovinos (LAENDER, 2002; ELBERS et al., 2008).

Apesar de a grande maioria dos sinais clínicos ocorrerem em ovinos (PINHEIRO et al., 2007), perdas diretas com a doença podem ser observadas em bovinos em casos de epidemias da doença, embora não seja frequente (CHAGAS; PINHEIRO, 2003).

O VLA pode causar doenças hemorrágicas severas em algumas raças de ovinos e cervídeos (KHAIR et al., 2014). A doença é caracterizada por febre (42°C), hiperemia, inflamação da mucosa oral, língua, bandas coronárias e ocasionalmente na mucosa nasal, erosões e ulcerações dérmicas e laminites. Animais doentes podem exibir salivação profusa, depressão, anorexia, perda de peso devido à degeneração muscular, secreções nasais e oculares. Pode ocorrer morte em 8-10 dias (LAENDER, 2002; ZIENTARA; SAILLEAU; BREAD, 2006).

Nos animais adultos, geralmente não causam maiores danos à saúde, porém em certas ocasiões, são observada perda de peso, queda na produção de leite, lesões ulcerativas nas mucosas e na pele, possivelmente em decorrência de reação de hipersensibilidade (KONRAD et al., 2003).

Animais mais velhos apresentam sinais clínicos mais severos que indivíduos jovens. Bovinos são comumente infectados em áreas enzoóticas e raramente desenvolvem sinais clínicos, tais como: perdas reprodutivas, lesões erosivas e vesiculares na cavidade oral, crostas em torno das narinas, conjuntivite, hiperestesia e edema se formando em dobras proeminentes da região cervical. O pelo frequentemente se torna áspero com exsudato seco. A exsudação é resultante de ulcerações na derme. Lesões nos cascos secundárias, necrose muscular, rigidez dos membros e coronite também são frequentemente evidentes (KONRAD et al., 2003; BREARD et al., 2004; ELBERS et al., 2008),

As lesões macroscópicas variam de acordo com o estágio da doença, do sorotipo do vírus e das condições ambientais (NOGUEIRA et al., 2007). Perda de peso, abortos e alterações teratogênicas também podem ocorrer (COSTA, 2000).

As lesões histológicas refletem as alterações macroscópicas. Lesões em músculos esquelético e cardíaco, variando de mionecrose aguda com lesões hemorrágicas à fibrose e infiltração de células inflamatórias mononucleares. O edema pulmonar é uma característica de muitos casos fatais de infecções pelo VLA. Lesões vasculares agudas e hipertrofia endotelial com edema perivascular e/ou hemorragia com acúmulo de linfócitos e macrófagos (MACLACHLAN et al., 2009).

3.5. Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado com testes sorológicos: imunodifusão em gel de agarose (IDGA), fixação de complemento (FC), imunoensaio enzimático competitivo (C-ELISA) e vírus-neutralização (VN). Os três primeiros detectam anticorpos comuns para todos os subtipos virais, enquanto a VN detecta o sorotipo específico para cada sorotipo viral (GARD; KIRKLAND, 1981).

O teste de fixação de complemento pode ser utilizado para confirmar a identificação do VLA ou detectar uma elevação na titulação de anticorpos após a infecção com o vírus. O teste de FC não é utilizado para classificação de isolados do VLA em seus

sorotipos (AFSHAR, 1994). Foi largamente substituído pelo IDGA, a partir de 1982 (OIE, 2014).

O teste de IDGA para detectar anticorpos anti-VLA é de simples execução e o antígeno usado no ensaio é relativamente fácil de produzir. Desde 1982, foi preconizado como teste padrão para movimentação internacional de ruminantes, entretanto, uma das desvantagens é a sua falta de especificidade, podendo detectar anticorpos de outros orbivírus (OIE, 2008).

O ELISA competitivo (C-ELISA) foi amplamente utilizado para diagnosticar um tipo específico de anticorpo contra o VLA, sem detectar reações cruzadas com outros tipos de Orbivirus (OIE, 2014). O mELISA (ELISA indireto para leite) foi apresentado por Kramps et al. (2008) e pode ser utilizado para detectar o vírus em amostras de leite.

A Vírus-neutralização pode identificar e quantificar anticorpos neutralizantes de sorotipos virais. Sendo um importante teste para regiões onde existem vários sorotipos circulantes, também é preconizado como um teste para trânsito internacional de animais (OIE, 2014).

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem sido uma ferramenta útil para o diagnóstico de VLA. A técnica de PCR pode ser utilizada não só para detectar a presença de ácido nucleico viral, mas também para detectar o tipo do orbivírus e fornecer informações sobre o sorotipo. As abordagens tradicionais, que dependem do isolamento de vírus seguido da identificação do vírus, podem demorar de três a quatro semanas para gerarem informações do sorotipo e não produzem dados sobre a possível origem do agente isolado (LOBÃO et al., 2014).

3.6. Prevenção e controle

Estratégias para reduzir ou eliminar a população dos vetores adultos pode ser teoricamente utilizada para controlar a infecção e disseminação do vírus. Entretanto, tais estratégias podem ser um desafio devido à grande população de insetos em algumas regiões, sua ecologia, preferências alimentares e o tipo de criação de bovinos (MACLACHLAN; MAYO, 2013).

O controle da fase larval dos *Culicoides* pode ser feito com a utilização de organoclorados, organofosforados ou inseticidas piretroides, além de drenagem de áreas alagadas. Na fase adulta, inseticidas podem ser utilizados e controle de ectoparasitos, com

a utilização de produtos tópicos ou brincos mosquicidas comerciais (MACLACHLAN, MAYO, 2013).

Uma das preocupações dos especialistas em saúde animal são as alterações climáticas que poderão influenciar a dinâmica do Vírus da Língua Azul e facilitar a entrada de novos sorotipos contribuindo para a disseminação do vírus (BERNARDES, 2011) e na proporção de adultos capazes de transmitir o vírus (WITTMAN; BAYLIS, 2000).

Fatores climáticos influenciam também no número de indivíduos adultos através da taxa de sobrevivência e atividade dos insetos (WITTMAN; BAYLIS, 2000) e distribuição dos vetores, que podem ser influenciados por mudanças de temperatura, chuvas e ventos. Alterações no uso da terra também afetam a distribuição de ruminantes e influencia áreas onde novos sorotipos do VLA podem emergir (CLAVIJO et al., 2002).

As vacinas com o vírus ativo modificado estimula uma forte resposta imunológica, correlacionada com a habilidade do vírus de se replicar no hospedeiro vacinado. São mais baratas que as vacinas com o vírus inativado e induzem uma boa proteção nas regiões utilizadas (SAVINI et al., 2008).

As primeiras vacinas para o controle da doença na Europa com o vírus inativado foram com o sorotipo VLA-2. Subseqüentemente, uma monovalente para o VLA-4, e posteriormente uma bivalente para os dois sorotipos. Mesmo sendo eficazes, possuem desvantagens tais como seu alto custo de produção, grandes quantidades de antígeno necessárias e necessidade de uma vacinação de reforço (SAVINI et al., 2008).

No continente europeu campanhas de vacinação para o VLA contribuem significativamente para a redução da circulação viral, e em algumas áreas, sua erradicação (ZIENTARA; SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, 2006). No Brasil, a falta de conhecimento dos sorotipos existentes e sua distribuição nas diferentes regiões dificultam o controle e adoção de medidas visando evitar a entrada de novos sorotipos no país (COSTA et al., 2006).

Surtos de LA podem interromper ou mesmo impedir a circulação e o comércio de bovino, o que pode ter consequências econômicas e sociais desastrosas para as regiões afetadas. Limitar a propagação viral é a principal meta dos programas de controle para a doença (MACLACHLAN; MAYO, 2013).

REFERÊNCIAS

ABREU, V.L.V. **Prevalência de bovinos reagentes à prova de imunodifusão para Língua Azul na região norte do Brasil**. 1982. 52f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais , 1982.

AFSHAR, A. Bluetongue: laboratory diagnosis. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, Oxford, v.17, n.3/4. p.221-242. 1994.

ALVES, F. D. A. L., ALVES, C. J., AZEVEDO, S. S. DE, SILVA, W. W., SILVA, M. L. C. R., LOBATO, Z. I. P., CLEMENTINO, I. J. Soroprevalência e fatores de risco para a língua azul em carneiros das mesorregiões do Sertão e da Borborema, semi-árido do Estado da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, v.39 n.2, p.484–489, 2009.

ANTONIASSI, N.A.B. **Aspectos clínicos e patológicos da infecção pelo Vírus da Língua Azul em ovinos no estado do Rio Grande do Sul**. 2010. 55f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

AUSTRALIAN VETERINARY EMERGENCY PLAN (AUSVETPLAN), Edition 3, Standing Council on Primary Industries, Canberra, ACT. 2012. Disponível em: <www.animalhealthaustralia.com.au>. Acesso em : 10 maio 2015.

BACKX, A., HEUTINK, R., VAN ROOIJ, E., VAN RIJN, P. Transplacental and oral transmission of wild-type bluetongue virus serotype 8 in cattle after experimental infection. **Veterinary Microbiology**, v.138, n.3-4, p.235–243, 2009.

BALARO, M. F. A., LIMA, M.S., DEL FAVA, C., OLIVEIRA, G. R., PITUCO, E. M., BRANDAO, F. Z. Outbreak of Bluetongue virus serotype 4 in dairy sheep in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.26 n.4, p.567–570. 2014.

BERNARDES, N. T. C. G. Soroprevalência da língua azul em bovinos do Estado de São Paulo, Brasil, 2001. 2011. 59f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo, 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em 20 jan. 2014.

BRÉARD, E.; HAMBLIN, C.; HAMMOUMI, S.; SAILLEAU, C.; DAUPHIN, G.; ZIENTARA, S. The epidemiology and diagnosis of bluetongue with particular reference to Corsica. **Research in Veterinary Science**. v.77, p.1-8. 2004

BURGIN, L.E.; GLOSTER, J.; SANDERS, C.; MELLOR, P.S.; GUBBINS, S.; CARPENTER, S. Investigating incursions of Bluetongue Virus using a model of long-distance Culicoides biting midge dispersal. **Transboundary and emerging diseases**. v.60, n.3. p.263-272. 2013.

CARVALHO, L. P. C., SILVA, F. S. Seasonal abundance of livestock-associated Culicoides species in northeastern Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v.28, n.2, p.228–231. 2014.

CASTRO, R.S., LEITE, R.C., ABREU, J.J., LAGE, A.P., FERRAZ, I.B., LOBATO, Z.I. P., BALSAMÃO, S.L.E. Prevalence of antibodies to selected viruses in bovine embryo donors and recipients from Brazil, and its implications in international embryo trade. **Tropical Animal Health and Production**, v.24 n.3, p.173–176, 1992.

CEPEDA, R.M.S. **Avaliação de eficácia de produtos biocidas no processo de autorização para comercialização, e sua aplicação no controlo de Culicoides em surtos de Língua Azul**. 2010. 63f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

CHAGAS, A.C.S., PINHEIRO, R.R. (Eds). **Língua Azul: conhecer para prevenir**. Sobral: Embrapa Caprinos, 2003. 9-27p.

CLAVIJO, A, SEPULVEDA, L., RIVA, J., PESSOA-SILVA, M., TAILOR-RUTHES, A., LOPEZ, J. W. Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America. **The Veterinary Record**, v.151, n.10, p.301–302. 2002.

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

COSTA, J.R.R. **Produção e padronização de antígeno para Língua Azul e prevalência nas mesorregiões sudoeste e sudeste do estado do Rio Grande do Sul, 1999**. 2000. 39p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2000.

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

DORNELES, E. M. S., MORCATTI, F. C., GUIMARÃES, A.S., LOBATO, Z. I. P., LAGE, A. P., GONÇALVES, V. S. P., GOUVEIA, A.M.G., HEINEMANN, M. B. Prevalência de anticorpos contra o vírus da Língua Azul em ovinos do Distrito Federal, Brasil. **Semina:Ciencias Agrarias**, n.33 v.4, p.1521–1524, 2012.

ELBERS, A. R. W., BACKX, A., MEROUC, E., GERBIER, G., STAUBACH, C., HENDRICKX, G., VAN DER SPEK, A., MINTIENS, K. Field observations during the bluetongue serotype 8 epidemic in 2006. I. Detection of first outbreaks and clinical signs in sheep and cattle in Belgium, France and the Netherlands. **Preventive Veterinary Medicine**, v.87 n.1-2, p.21–30, 2008.

GANTER, M. Bluetongue disease - Global overview and future risks. **Small Ruminant Research**. v.118, n.1-3, p.79-85. 2014.

GARD, G.P.; KIRKLAND, P.D.; Bluetongue: Virology and Serology. **Australian Standard Diagnostic Techniques for Animal Diseases**. 17p. 1981. (Manual Técnico).

GIBBS, E.P.J., GREINER, E.C. The epidemiology of Bluetongue, **Comparative immunology microbiology & infectious diseases**. v.17, n.3-4, p.207-220, 1994.

GIVENS, D.D.M.; MARLEY, M.S.D. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. **Theriogenology**, v.70, n.3,p. 270–285, 2008.

GORCHS, C.; LAGER, I. Actualización sobre el agente y la enfermedad. **Revista Argentina Microbiologia**, v.33, p.122-132, 2001.

GROOCOCK, C.M., CAMPBELL, C.H. Isolation of an exotic serotype of bluetongue virus from imported cattle in quarantine. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.46, n.2, p.160–164, 1982.

HOFMANN, M. A., RENZULLO, S., MADER, M., CHAIGNAT, V., WORWA, G., & THUER, B. Genetic characterization of toggenburg orbivirus, a new bluetongue virus, from goats, Switzerland. **Emerging infectious diseases**, v.14 n.12, p.1855, 2008.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. 2013.
Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=pe>>. Acesso em: 30
jan. 2014.

JUNQUEIRA, J.R.C.; ALFIERI, A.A. Reproductive failures in beef cattle breeding herds with emphasis for infectious causes. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.2, p.289-298, 2006.

KASILUKA, L.; KAMBARAGE, D. Bluetongue. In: _____ **Diseases of small ruminants in Sub-Saharan Africa**. Vetaid: Scotland, 1996. 1-116p.

KHAIR, H.O., ADAM, I.A, BUSHARA, S.B., ELTOM, K.H., MUSA, N.O., ARADAIB, I.E. Prevalence of bluetongue virus antibodies and associated risk factors among cattle in East Darfur State, Western Sudan. **Irish Veterinary Journal**, v.67, n.1, 2014.

KONRAD, P. A., RODRIGUES, R. O., CONCEIÇÃO, Â., CHAGAS, P., PAZ, G. F., & LEITE, R. C. Anticorpos contra o vírus da Língua Azul em Bovinos leiteiros de Minas Gerais e Associações com problemas reprodutivos. **Revista Da FZVA Uruguaiana**, v.10, n.1, p.117–125, 2003.

KRAMPS, J.A., VAN MAANEN, K., MARS, M.H., POPMA, J.K., VAN RIJN, P.A. Validation of a commercial ELISA for the detection of bluetongue virus (BTV)-specific antibodies in individual milk samples of Dutch dairy cows. **Veterinary microbiology**, v.130 n.1, p.80-87, 2008.

LAENDER, J.O. Língua Azul em rebanhos de ovinos e caprinos em três mesorregiões de Minas Gerais: Análise da evidencia clínica e sorológica e identificação de Culicoides sp. 2002. 91p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2002.

LOBÃO, F.M.; MELO, C.B.; MENDONÇA, C.E.D., LEITE, R.C., MCMANUS, C.; KREWER, C.C.; UZÊDA, R.S. Língua azul em ovinos: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.38, n.2, p.69-74, 2014.

LOBATO, Z.I.P., COUPAR, B.E., GRAY, C.P., LUNT, R., ANDREW, M.E. Antibody responses and protective immunity to recombinant vaccinia virus-expressed bluetongue virus antigens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.59 n.3-4, p.293–309. 1997.

MAAN, S., MAAN, N.S., NOMIKOU, K., ANTHONY, S.J., ROSS-SMITH, N., SINGH, K.P., SAMUEL, A.R., SHAW, A.E., MERTENS, P.P.C. Molecular epidemiology studies of bluetongue virus. In: Mellor PS, Baylis M, Mertens PPC (ed). **Bluetongue**. London: Elsevier Academic Press, 2009. p 135–166.

MAAN, S., MAAN, N.S., NOMIKOU, K., VERONESI, E., BACHANEK-BANKOWSKA, K., BELAGANAHALLI, M.N., ATTOUI, H., MERTENS, P.P.C. Complete Genome Characterisation of a Novel 26th Bluetongue Virus Serotype from Kuwait, **PLoS ONE**. v.6, n.10. 2011.

MACLACHLAN, N. J. Bluetongue: History, global epidemiology, and pathogenesis. **Preventive Veterinary Medicine**, v.102 n.2, p.107–111, 2011.

MACLACHLAN, N. J., DREW, C. P., DARPEL, K. E., & WORWA, G. The Pathology and Pathogenesis of Bluetongue. **Journal of Comparative Pathology**, v.141, n.1, p.1–16, 2009.

MACLACHLAN, N.J. MAYO, C.E. Potential strategies for control of bluetongue, a globally emerging, Culicoides-transmitted viral disease of ruminant livestock and wildlife. **Antiviral Research**, v.99, n.2, p.79–90, 2013.

MACLACHLAN, N.J. The pathogenesis and immunology of Bluetongue Virus infection of ruminants. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v.17. n.3/4, p197-206, 1994.

MACLACHLAN, N.J., CONLEY, A.J., KENNEDY, P.C. Bluetongue and equine viral arteritis viruses as models of virus-induced fetal injury and abortion. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.643–651, 2000.

MACLACHLAN, N.J.; GARD, G. Clinical signs and pathology, p 285–293. In Mellor PS, Baylis M, Mertens PPC (ed), **Bluetongue**. London: Elsevier Academic Press, 2009.

MELLOR, P. S., BOORMAN, J. The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. **Annals of tropical medicine and parasitology**, v.89 n.1, p.1-15, 1995.

MELLOR, P.S. Infection of the vectors and bluetongue epidemiology in Europe. **Veterinaria Italiana**. v.40, n.3, p.167-174. 2004.

MELLOR, P.S., BOORMAN, L., BAYLIS, M. Culicoides Biting Midges: their role as arbovirus vectors. **Annual Review of Entomology**, v.45, p.307-340, 2000.

MELLOR, P.S., CARPENTER, S., WHITE, D.M. Bluetongue virus in the insect host, p 295–320. In Mellor PS, Baylis M, Mertens PPC (ed), **Bluetongue**. London: Elsevier Academic Press, 2009.

MELO, C.B., OLIVEIRA, A.M., AZEVEDO, E.O., LOBATO, Z.I.P., LEITE, R.C. Anticorpos contra o vírus da língua azul em bovinos do sertão da Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia**, v.52, n.1, p.19–20, 2000.

MENZIES, F. D., MCCULLOUGH, S. J., MCKEOWN, I. M., FORSTER, J. L., JESS, S., BATTEN, C., MURCHIE, A.K., GLOSTER, J., FALLOWS, J.G., PELGRIM, W., MELLOR, P.S., OURA, C. A.L. Evidence for transplacental and contact transmission of bluetongue virus in cattle. **The Veterinary Record**, v.163 n.7, p.203–209. 2008.

MONACO, F., CAMMÀ, C., SERINI, S., SAVINI, G. Differentiation between field and vaccine strain of bluetongue virus serotype 16. **Veterinary Microbiology**, v.16 n.1-3, p.45–52, 2006.

MOTA, I.O.; CASTRO, R.S.; ALENCAR, S.P.; LOBATO, Z.I.P.; LIMA FILHO, C.D.F.; ARAÚJO SILVA, T.L.; DUTRA, A.C.T.; NASCIMENTO, S.A. Anticorpos contra vírus da língua azul em caprinos e ovinos do sertão de Pernambuco e inferências sobre sua epidemiologia em regiões semiáridas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária de Zootecnia**. V. 63, n. 6, p.1559-1598, 2011.

MULABBI, E.N., AYEBAZIBWE, C., MAJALIJA, S., OURA, C.A.L. Circulation of bluetongue virus in goats in the Karamoja region of Uganda. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.84, n.1, p.3, 2013.

NASCIMENTO, E.F., COSTA, L.F., MOUSTACAS, V.S., LIMA SANTOS, R. Doenças da reprodução de bovinos de corte: Programa preventivo e controle sanitário. SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE. 7., 2010. Viçosa-MG. **Anais...** Viçosa-MG: UFV, 2010. Disponível em: <http://www.simcorte.com/index/Palestras/7_simcorte/simcorte19.pdf>. Acesso em: 05 jun. 2015.

NOGUEIRA, A. H. D. C., PITUCO, E. M., STEFANO, E., CURCI, V. C. L. M., CARDOSO, T. C. Detecção de anticorpos contra o Vírus Da Língua Azul em ovinos na região de Araçatuba, São Paulo, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.10. n.4, p.1271–1276. 2009.

NOGUEIRA, A.H.C., CARDOSO, T.C., FERRARI, C.I.L., PITUCO, E.M., DE STEFANO, E., CURCI, V.C.L.M. Língua Azul em ovinos. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 4, n.2, Jul-Dez, 2007.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH - OIE – **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. 2008. Disponível em: <<http://www.oie.int>>. Acesso em: 02 jan. 2014.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH – OIE. **Terrestrial Animal Health Code**. 2014. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/home/eng/health_standards/tahc/2010/chapitre_bluetongue.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2015.

ORLANDO, B. R. **Diagnóstico histopatológico, imuno-histoquímico e molecular das principais causas infecciosas de aborto em bovinos de Minas Gerais**. 2013. 101p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Lavras-MG, Lavras, 2013.

PINHEIRO, R. R., SOUZA, T. S., FEITOSA, A. L. V. L., ARAGÃO, M. A. C., LIMA, C. C. V., COSTA, J. N., ANDRIOLI, A., TEIXEIRA, M.F.S., BRITO, R.L.L. Frequência de anticorpos contra o vírus da língua azul em ovinos do estado do Ceará, Brasil. **Arquivos Do Instituto Biológico**, v.80, n.1, p.35–42, 2013.

PINHEIRO, R.R., ALVES, F.S.F., ANDRIOLI, A. Enfermidades infecciosas de pequenos ruminantes: Epidemiologia, impactos econômicos, prevenção e controle: Uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.01, n.01, p.44–66, 2007.

RIET-CORREA, F., MOOJEN, V., ROEHE, P.M., WEIBLEN, R. Viroses confundíveis com febre aftosa. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 25, n.2, p.323-332, 1996.

ROY, P. Bluetongue virus: Dissection of the polymerase complex. **Journal of General Virology**, v. 89 n.8, 1789–1804, 2008.

SAVINI, G.; MACLACHLAN, N.J.; SANCHEZ-VIZCAINO, J.M.; ZIENTARA, S. Vaccines against bluetongue in Europe. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v.31, p.101-120, 2008.

SCOLARI, P.A.R., AYUB, B. R., SOTOMAIOR, C.S. O vírus da língua azul em ruminantes domésticos: situação de alerta no Brasil – Revisão. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias E Ambientais**, v.9 n.4, p.407–413, 2011.

SOUZA, T. S., COSTA, J. N., MARTINEZ, P. M., NETO, A O. C., PINHEIRO, R. R. Anticorpos contra o vírus da língua azul em rebanhos ovinos da microrregião de Juazeiro, Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, 419–427, 2010.

TOMICH, R.G.P., NOGUEIRA, M.F., LACERDA, A.C.R., CAMPOS, F.S., TOMAS, W. M., HERRERA, H.M., BARBOSA-STANCIOLI, E.F. Sorologia para o vírus da língua azul em bovinos de corte, ovinos e veados campeiros no Pantanal sul-mato-grossense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.5, p.1222–1226, 2009.

VELTHUIS, A.G., SAATKAMP, H.W., MOURITS, M.C., DE KOEIJER, A.A., ELBERS, A.R. Financial consequences of the Dutch bluetongue serotype 8 epidemics of 2006 and 2007. **Preventive Veterinary Medicine**, v.93, p.294–304, 2010.

VENDITTI, L.L.R. **Infeção pelo vírus da língua azul em ovinos e bovinos na região sudeste do Brasil e infecção pelo vírus da língua azul em ovinos e bovinos na região sudeste do Brasil**. 2009. 77p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo, 2009.

WEBB, D., QUAY, O. E. **The economic and social impact of the Institute for Animal Health s work on Bluetongue disease (BTV-8)**. 2008. Disponível em: <http://www.pirbri.ghginstitute.org/ecosoc/docs/Blue-Tongue-case-study.pdf> Acesso em: 04 mar. 2015.

WILSON, A., DARPEL, K., & MELLOR, P. S. Where does bluetongue virus sleep in the winter? **PLoS Biology**, v.6 n.8, p.1612–1617, 2008.

WITTMANN, E.J.,; BAYLIS, M. Climate Change: Effects on Culicoides-Transmitted Viruses and Implications for the UK. **Veterinary Journal**, v.160 n.2, p.107–117. 2000.

WOUDA, W., PEPERKAMP, N. H., ROUMEN, M. P., MUSKENS, J., VAN RIJN, A., & VELLEMA, P. Epizootic congenital hydranencephaly and abortion in cattle due to bluetongue virus serotype 8 in the Netherlands. **Tijdschr Diergeneeskd**, v.134, n.10, p.422-427, 2009.

ZIENTARA, S., BRÉARD, E., SAILLEAU, C. Bluetongue: characterization of virus types by reverse transcription-polymerase chain reaction. **Journal of Developmental Biology**. v. 126, p187–196, 2006.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

**ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA LÍNGUA AZUL
EM BOVINOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

(artigo a ser submetido à Pesquisa Veterinária Brasileira)

ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA LÍNGUA AZUL EM BOVINOS NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL¹

Abstract: This study was aimed to analyze the epidemiological aspects of Bluetongue Virus (BTV) infection on dairy cattles in Garanhuns microregion, Pernambuco state, Brazil. 384 blood samples were collected from female cattles under reproductive age from 20 properties of 19 municipalities that compose the *region*. These samples were subjected to immunodiffusion *assay* (AGID) to detection of anti-BTV antibodies. There was a prevalence of 71.3% (274/384; OR - 66.5% - 75.7%) of *positive* animals. Regarding the foci *numbers*, 100% (20/20) of properties had one positive animal in the serum test at least. The risk factors identified were *do not perform* intercropping breeding (OR = 3,2; p = 0,012), wetlands presence in the property (OR = 2.1; p = 0.001); artificial insemination using (OR = 8.8; p = 0.003). This is the first report of BTV infection on cattles in Pernambuco state and from the concluded results suggest its wide-spreading. Thus, the suggested control measures based on hygienic-sanitary management and biosecurity are *to prevent/to avoid* virus spreading, as well as epidemiological studies should be performed in order to identify the serotypes circulating in ruminant population.

Keywords: risk factors, bluetongue, ruminants, BTV

Resumo: Objetivou-se com este estudo analisar os aspectos epidemiológicos da infecção pelo Vírus da Língua Azul (VLA) em bovinos leiteiros na microrregião Garanhuns do Estado de Pernambuco, Brasil. Foram coletadas 384 amostras sanguíneas de bovinos fêmeas em idade reprodutiva, procedentes de 20 propriedades dos 19 municípios que compõem a região. As amostras foram submetidas ao teste de imunodifusão em gel de agarose (IDGA) para pesquisa de anticorpos Anti-VLA. Observou-se uma prevalência de 71,3% (274/384; IC - 66,5% - 75,7%) de animais positivos. Em relação ao número de focos, 100% (20/20) das propriedades apresentaram ao menos um animal positivo no teste sorológico. Os fatores de risco identificados foram: não realizar criação consorciada (OR = 3,2; p = 0,012); presença de áreas alagadas na propriedade (OR = 11,8; p = 0,001); não realizar controle de insetos (OR = 2,1; p = 0,033); rebanho aberto (OR = 2,1; p = 0,001); utilização de inseminação artificial (OR = 8,8; p = 0,003). Este é o primeiro registro da infecção pelo Vírus da Língua Azul em bovinos no estado de Pernambuco e a partir dos resultados obtidos conclui-se que a infecção foi detectada no Estado. Desta forma, sugere-se que medidas de controle baseadas no manejo higiênico-sanitário e biosseguridade sejam implementadas para evitar a propagação do vírus, assim como estudos epidemiológicos devem ser realizados com o objetivo de identificar os sorotipos que circulam na população de ruminantes.

Palavras-chave: fatores de risco, Língua Azul, ruminantes, VLA

¹ Recebido em...

Aceito para publicação em...

INTRODUÇÃO

A Língua Azul (LA) é uma enfermidade que acomete ruminantes, ocasionada por um vírus (Wilson, Darpel & Mellor 2008) pertencente ao gênero *Orbivirus*, da família *Reoviridae* denominado Vírus da Língua Azul (VLA) (Monaco et al. 2006, Roy 2008). É uma enfermidade infecciosa, não contagiosa, de notificação obrigatória, apresentando graves impactos sócio-econômicos e/ou sanitários, repercutindo no comércio internacional de animais e produtos de origem animal (OIE 2008).

No Brasil foram isolados dois sorotipos do vírus, o primeiro (VLA-4) de bovinos exportados para a Flórida, nos EUA (Grocock & Campbell 1982) e de ovinos leiteiros no Rio de Janeiro em 2014 (Balaro et al. 2014) e o segundo (VLA-12), de ovinos no Paraná (Clavijo et al. 2002) e no Rio Grande do Sul (Antoniassi 2010). Diversos inquéritos sorológicos demonstram que a infecção ocorre em ruminantes em diversas regiões do país (Abreu 1982, Castro et al. 1992, Konrad et al. 2003, Costa et al. 2006, Alves et al. 2008, Melo et al. 2009, Nogueira et al. 2009, Tomich et al. 2009, Venditti 2009, Antoniassi 2010, Souza et al. 2010, Mota et al. 2011, Dorneles et al. 2012, Pinheiro et al., 2013).

O principal vetor deste agente são os insetos hematófagos do gênero *Culicoides* (Zientara, Sailleau & Breard 2006) e, atualmente, há descrição de 26 sorotipos do vírus (Hofmann et al. 2008, Maan et al. 2011) identificados em áreas tropicais e subtropicais (Costa et al. 2006).

Sua distribuição está restrita a áreas onde insetos adultos estão presentes e a transmissão é limitada onde as condições climáticas são favoráveis (Mellor & Boorman 1995). Fatores como a temperatura e umidade favorecem a multiplicação e manutenção dos vetores, facilitando a condição enzoótica da doença (Nogueira et al. 2009).

A manifestação clínica da infecção é rara nos bovinos (Tweedle & Mellor 2002), com exceção do VLA-8 (Elbers et al. 2008). Estes, por sua vez, possuem grande importância epidemiológica na cadeia de transmissão do agente, servindo como amplificadores do agente (Tweedle & Mellor, 2002).

O estado de Pernambuco é o segundo maior produtor de leite do Nordeste e 8º do país (SEBRAE, 2010) e apesar da importância do estado na produção leiteira nenhum dado sobre a Língua Azul está disponível para esta região. Desta forma, objetivou-se com este estudo avaliar os aspectos epidemiológicos associados à infecção pelo VLA em bovinos na microrregião Garanhuns, Pernambuco, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob o número de licença 052/2014.

Foi realizado um estudo transversal em 20 propriedades, distribuídas nos 19 municípios componentes da microrregião Garanhuns, Pernambuco, Brasil. Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerado um total de 239.786 cabeças (IBGE, 2013), com prevalência esperada de 4,4% para o VLA (Melo et al. 1999), com intervalo de confiança de 95%, erro estatístico de 5%. Estes parâmetros forneceram um número de amostras de 65 animais (Thrusfield 2004). Foram coletadas 384 amostras sanguíneas de animais do sexo feminino, de aptidão leiteira em idade adulta, no período de março a dezembro de 2013. Os animais amostrados eram mestiços de raças zebuínas e taurinas, criados de forma extensiva e semi-intensiva.

A escolha das propriedades foi feita por conveniência e antes do procedimento da coleta de material biológico, foi aplicado um questionário investigativo constituído por perguntas objetivas, referentes às características de manejo reprodutivo, sanitário e produtivo visando identificar os possíveis fatores de risco.

As amostras sanguíneas foram colhidas por punção da veia caudal mediana, após antissepsia com álcool iodado, na quantidade de 10mL em tubos de ensaios siliconizados sem coagulante, devidamente identificados. Para obtenção do soro, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 900g, e armazenadas em microtubos de polipropileno devidamente identificados.

As amostras foram submetidas ao teste de Imunodifusão em Gel de Agarose (IDGA) para pesquisa de anticorpos neutralizantes contra o VLA, utilizando o kit comercial da *Veterinary Medical Research and Development* (VMRD®) conforme o protocolo do fabricante.

Foi realizada dispersão das frequências absoluta e relativa e para o estudo dos fatores de risco associados à infecção pelo VLA foi realizada uma análise das variáveis de interesse, pelo teste de Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, quando necessário, e posteriormente, uma análise de regressão logística considerando como variável dependente os resultados do IDGA (positivo ou negativo). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística de $<0,20$. Esta probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (Hosmer & Lemeshow 1989). O programa EPIINFO™ 3.5.1 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

Para caracterização espacial da prevalência, as coordenadas planas foram obtidas pelo georreferenciamento de cada propriedade por meio do Sistema de Posicionamento Global (GPS). Para o mapeamento e identificação dos pontos espaciais, os dados referenciados foram lançados no software QuantumGIS 2.8.2.

RESULTADOS

Observou-se uma prevalência de 71,3% (274/384) de amostras positivas para a infecção pelo VLA. Além disso, 100,0% (20/20) das propriedades possuíam ao menos um animal positivo, com prevalências variando entre 22,7% e 100,0% dentro dos rebanhos. Os resultados da análise de fatores de risco associados à infecção pelo VLA estão dispostos no quadro 1.

A distribuição espacial da prevalência está disposta na figura 1.

DISCUSSÃO

Este é o primeiro registro da infecção em bovinos pelo VLA no estado de Pernambuco. A prevalência observada neste trabalho foi similar às relatadas na região sudeste do país no Estado de Minas Gerais, onde 76,3% das doadoras e receptoras de embrião (Castro et al. 1992) e 59,9% (776/1304) das matrizes investigadas foram positivas para a infecção (Konrad et al. 2003). No estado de São Paulo foram observadas prevalências em bovinos de 74,1% (Venditti 2009) e 73,5% (Bernardes 2011).

Entretanto, os resultados obtidos não corroboraram com outros trabalhos desenvolvidos em outras regiões do país. Em um estudo na região Nordeste observou-se uma prevalência de 4,4% para a infecção em bovinos de ambos os sexos e diferentes idades no sertão do estado da Paraíba (Melo et al. 1999). No Rio Grande do Sul, houve uma positividade de 0,6% em fêmeas em idade reprodutiva (Costa et al.

2006). No Estado de Pernambuco, em um estudo realizado em caprinos e ovinos criados em regiões semiáridas observou-se uma prevalência de 3,9% e 4,3%, respectivamente (Mota et al. 2011).

A diferença entre os resultados supracitados podem estar relacionadas a fatores climáticos, visto que no sertão nordestino, os baixos índices pluviométricos podem ser visto como principal causa da sazonalidade dos vetores na região (Mota et al. 2011), assim como as baixas temperaturas do sul do Rio Grande do Sul impediriam a reprodução dos vetores (Costa 2000).

Além disso, as condições climáticas na microrregião Garanhuns são favoráveis ao desenvolvimento do vetor. De acordo com Andrade et al. (2008) essa microrregião possui temperaturas médias anuais em torno dos 20°C, podendo passar dos 30°C nas épocas mais quentes e 15°C no período mais frio. Com chuvas principalmente de abril a agosto (Borges Júnior et al. 2012). Esses eventos podem contribuir com o aumento da população de insetos pelo aumento do desenvolvimento larval proporcionado pelas condições ambientais da região (Carvalho & Silva 2014).

Em relação aos fatores de risco, observou-se que a não criação consorciada com outros ruminantes aumentou o risco de infecção nos rebanhos (OR=3,2; p=0,012). No continente europeu, La Puente, Figueirola & Soriguer (2015) demonstram uma preferência de várias espécies do vetor em se alimentar de sangue bovino. Os riscos de infecção em ovinos aumentam quando estes são criados próximos a bovinos (Tweedle & Mellor, 2002). Estudos entomológicos devem ser realizados no Brasil com o objetivo de identificar os hábitos alimentares das espécies envolvidas na transmissão do VLA e sua real importância na cadeia epidemiológica da Língua Azul.

A presença de áreas alagadas (OR=11,8; p=0,001) pode aumentar os sítios de reprodução do vetor, o que tende a aumentar a presença de insetos aliada à possibilidade de novas infecções. Este evento associado à falta de higiene e manejo correto das instalações também pode contribuir para a proliferação dos vetores (Alves et al. 2008).

A falta de controle de insetos nas propriedades (OR=2,1; p=0,033) pode aumentar o número de animais infectados. Estratégias para reduzir ou eliminar a população de *Culicoides* na sua forma adulta ou larval deve ser utilizado para controlar ou reduzir as infecções, como a redução de locais de criação, pela drenagem de áreas alagadas (Maclachlan & Mayo 2013), utilizando inseticidas adulticidas e larvicidas; ou iscas que atraiam os insetos (Cepeda 2010).

Outro fator de risco observado foi o tipo de rebanho, onde animais procedentes de rebanhos abertos estão mais predispostos à infecção (OR=2,1; p=0,001). Este evento pode estar relacionado à compra de animais sem apresentar sinais clínicos, entretanto infectados. Sabe-se que bovinos infectados pelo VLA podem apresentar alta viremia, sem sinais clínicos evidentes, o que facilitaria a disseminação do patógeno na presença de vetores.

Em relação ao manejo reprodutivo, identificou-se neste estudo a prática de inseminação artificial como fator de risco (OR = 8,8, p = 0,003). Vale ressaltar que na região observada há um predomínio de propriedades com áreas pequenas, destinadas à criação de bovinos, a qual tende a ser mais intensiva, junto à utilização de técnicas de reprodução empregadas pelos produtores, fazem com que os animais passem mais tempo nos currais, próximos a fontes de água e comida, aumentando o risco de contato com os vetores transmissores do vírus (Costa 2000). O risco de

estabelecimento da infecção está principalmente influenciado pela densidade populacional dos bovinos e presença do vetor (Tweedle & Mellor 2002).

A transmissão do VLA é muito dinâmica e extremamente difícil de ser combatida, a menos que as regiões de risco de transmissão estejam preparadas para fornecer indicadores epidemiológicos, incluindo informações sobre sazonalidade e hábitos do vetor (Carpenter, Wilson & Mellor 2009). Surtos de LA podem interromper ou mesmo impedir a circulação e o comércio de bovinos, podendo ocasionar impactos econômicos e sociais para as regiões afetadas. Limitar a propagação viral é a principal meta dos programas de controle para a doença (Maclachlan & Mayo 2013).

A vacinação é a forma mais eficaz de prevenir a infecção nos hospedeiros suscetíveis, para isso é necessário que todas as amostras de circulação local do vírus sejam incluídas (Tomich et al. 2006). Entretanto, no Brasil não existe a comercialização de vacinas contra esta infecção.

Na Europa, a vacinação contra o VLA contribui para a redução da circulação viral e, em algumas áreas, sua erradicação (Zientara & Sánchez-Vizcaíno 2013). Entretanto, no Brasil a falta de conhecimento dos sorotipos existentes e sua distribuição nas diferentes regiões dificultam o controle e adoção de medidas visando evitar a entrada de novos sorotipos no país (Costa et al. 2006).

CONCLUSÃO

Conclui-se que a infecção pelo VLA ocorre em bovinos e o vírus está disseminado na região do estudo. Desta forma, sugere-se que medidas de controle baseadas no manejo higiênico-sanitário e biosseguridade sejam implementadas para evitar a propagação do vírus. Estudos epidemiológicos devem ser realizados para identificar os possíveis sorotipos que circulam na população de ruminantes, o que fornecerá subsídios para o conhecimento da doença.

REFERÊNCIAS

- Abreu, V.L.V. 1982. Prevalência de bovinos reagentes à prova de imunodifusão para Língua Azul na região norte do Brasil. 52f. Universidade Federal de Minas Gerais. Dissertação de Mestrado.
- Alves F.D.A.L., Alves C.J., Azevedo S.S., Silva W.W., Silva M.L.C.R., Lobato Z.I.P., & Clementino, I.J. 2009 Soroprevalência e fatores de risco para a língua azul em carneiros das mesorregiões do Sertão e da Borborema, semi-árido do Estado da Paraíba, Brasil. *Cienc Rural*, 3(2):484–489.
- Andrade, A.R.S., Paixão, F.J.R., Azevedo, C.A.V., Gouveia, J.P.G. & Oliveira Júnior, J.A.S. 2008. Estudo do comportamento de períodos secos e chuvosos no município Garanhuns, PE, para fins de planejamento agrícola. *Pesqui. Apl. Agrotec.* 1(1):55–61.
- Antoniassi, N.A.B. 2010. Aspectos clínicos e patológicos da infecção pelo Vírus da Língua Azul em ovinos no estado do Rio Grande do Sul. 55f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado.
- Backx, A., Heutink, R., van Rooij, E., & van Rijn, P. 2009. Transplacental and oral transmission of wild-type bluetongue virus serotype 8 in cattle after experimental infection. *Vet. Microbiol.* 138(3-4):235–243.

- Balaro, M.F.A., Lima, M.S., Del Fava, C., Oliveira, G.R., Pituco, E.M., & Brandao, F.Z. 2014. Outbreak of Bluetongue virus serotype 4 in dairy sheep in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 26(4):567–570
- Bernardes, N.T.C.G. 2011. Soroprevalência da língua azul em bovinos do Estado de São Paulo, Brasil, 2001. 59f.. Instituto Biológico de São Paulo. Dissertação de Mestrado
- Borges Júnior, J.C.F.; Anjos, R.J.; Silva, T.J.A.; Lima, J.R.S.; & Andrade, C.L.T. 2012. Métodos de estimativa da evapotranspiração de referência diária para a microrregião de Garanhuns, PE. *Ver. Bras. Eng. Agríc Ambient.*, 16(4):380–390.
- Carpenter S., Wilson A. & Mellor P.S. 2009. Culicoides and the emergence of bluetongue virus in northern Europe. *Trends Microbiol.* 17:172–178.
- Carvalho, L.P.C. & Silva, F. S. 2014. Seasonal abundance of livestock-associated Culicoides species in northeastern Brazil. *Med. Vet. Entomol.* 28(2):228–231.
- Castro, R.S., Leite, R.C., Abreu, J.J., Lage, A.P., Ferraz, I.B., Lobato, Z.I. P. & Balsamão, S.L.E. 1992. Prevalence of antibodies to selected viruses in bovine embryo donors and recipients from Brazil, and its implications in international embryo trade. *Trop. Anim. Health Pro.*, 24(3):173–176.
- Cepeda, R.M.S. 2010. Avaliação de eficácia de produtos biocidas no processo de autorização para comercialização, e sua aplicação no controle de *Culicoides* em surtos de Língua Azul. 63f. Universidade Técnica de Lisboa. Dissertação de mestrado.
- Clavijo, A, Sepulveda, L., Riva, J., Pessoa-Silva, M., Tailor-Ruthes, A. & Lopez, J. W. 2002. Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America. *Vet. Rec.*, 151(10): 301–302.
- Costa, J. R. R., Lobato, Z. I. P., Herrmann, G. P., Leite, R. C. & Haddad, J. P. A. 2006. Prevalência de anticorpos contra o vírus da língua azul em bovinos e ovinos do sudoeste e sudeste do Rio Grande do Sul. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 58(2):273–275.
- Costa, J.R.R. 2000. Produção e padronização de antígeno para Língua Azul e prevalência nas mesorregiões sudoeste e sudeste do estado do Rio Grande do Sul, 1999. 39p. Universidade Federal de Minas Gerais. Dissertação de Mestrado.
- Dorneles, E. M. S., Morcatti, F. C., Guimarães, A.S., Lobato, Z. I. P., Lage, A. P., Gonçalves, V. S. P., Gouveia, A.M.G. & Heinemann, M. B. 2012. Prevalência de anticorpos contra o vírus da Língua Azul em ovinos do Distrito Federal, Brasil. *Semin.:Cienc. Agrar.* 33(4):1521–1524.
- Ducheyne, E., De Deken, R., Bécu, S., Codina, B., Nomikou, K., Mangana-Vougiaki, O., Georgiev, G., Purse, B.V. & Hendrickx, G. 2007. Quantifying the wind dispersal of Culicoides species in Greece and Bulgaria. *Geospat. Health.*, 1(2):177–189.
- Grocock, C.M. & Campbell, C.H. 1982. Isolation of an exotic serotype of bluetongue virus from imported cattle in quarantine. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 46(2):160–164.
- Hofmann, M. A., Renzullo, S., Mader, M., Chaignat, V., Worwa, G., & Thuer, B. 2008. Genetic characterization of toggenburg orbivirus, a new bluetongue virus, from goats, Switzerland. *Emerg Infect. Dis.* 14(12):1855.
- Konrad, P.A., Rodrigues, R.O., Conceição, Â., Chagas, P., Paz, G.F. & Leite, R.C. 2003. Anticorpos contra o vírus da Língua Azul em Bovinos leiteiros de Minas Gerais e Associações com problemas reprodutivos. *Revista Da FZVA Uruguaiana*, 10(1):117–125.

- la Puente, J.M., Figuerola, J. & Soriguer, R. 2015. Fur or feather? Feeding preferences of species of *Culicoides* biting midges in Europe. *Trends in parasitology*. 31(1):16-22.
- Maan, S., Maan, N.S., Nomikou, K., Veronesi, E., Bachanek-Bankowska, K., Belaganahalli, M.N., Attoui, H. & Mertens, P.P.C. 2011. Complete Genome Characterisation of a Novel 26th Bluetongue Virus Serotype from Kuwait, PLoS ONE. 6(10).
- Maclachlan, N.J. & Mayo, C.E. 2013. Potential strategies for control of bluetongue, a globally emerging, *Culicoides*-transmitted viral disease of ruminant livestock and wildlife. *Antiviral Research*, 99(2):79-90.
- Mellor, P.S., & Boorman, J. 1995. The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. *Ann. Trop. Med. parasitol.* 89(1):1-15.
- Melo, C.B., Oliveira, A.M., Azevedo, E.O., Lobato, Z.I.P. & Leite, R.C. 2000. Anticorpos contra o vírus da língua azul em bovinos do sertão da Paraíba. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 52(1):19-20.
- Menzies, F.D., McCullough, S.J., McKeown, I.M., Forster, J.L., Jess, S., Batten, C., Murchie, A.K., Gloster, J., Fallows, J.G., Pelgrim, W., Mellor, P.S. & Oura, C.A.L. 2008. Evidence for transplacental and contact transmission of bluetongue virus in cattle. *Vet. Rec* 163(7):203-209.
- Monaco, F., Cammà, C., Serini, S. & Savini, G. 2006. Differentiation between field and vaccine strain of bluetongue virus serotype 16. *Vet. Microbiol.*, 16(1-3):45-52.
- Mota, I.O.; Castro, R.S.; Alencar, S.P.; Lobato, Z.I.P.; Lima Filho, C.D.F.; Araújo Silva, T.L.; Dutra, A.C.T. & Nascimento, S.A. 2011. Anticorpos contra vírus da língua azul em caprinos e ovinos do sertão de Pernambuco e inferências sobre sua epidemiologia em regiões semiáridas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 63(6):1559-1598.
- Nogueira, A.H.D.C., Pituco, E.M., Stefano, E., Curci, V.C.L.M. & Cardoso, T.C.. 2009. Detecção de anticorpos contra o Vírus Da Língua Azul em ovinos na região de Araçatuba, São Paulo, Brasil. *Ciênc. Anim. Bras.* 10(4):1271-1276.
- OIE – World Organisation for Animal Health. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 2008. Disponível em: <http://www.oie.int>. Acesso em: janeiro de 2014.
- Pinheiro, R.R., Souza, T.S., Feitosa, A.L.V.L., Aragão, M.A.C., Lima, C.C.V., Costa, J.N., Andrioli, A., Teixeira, M.F.S. & Brito, R.L.L. 2013. Frequência de anticorpos contra o vírus da língua azul em ovinos do estado do Ceará, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, 80(1):35-42.
- Roy, P. 2008. Bluetongue virus: Dissection of the polymerase complex. *J. Gen. Virol.* 89(8):1789-1804.
- SEBRAE. 2010. Bovinocultura leiteira. *Boletim Setorial*, (03), 17.
- Souza, T.S., Costa, J.N., Martinez, P.M., Neto, A.O.C. & Pinheiro, R.R. 2010. Anticorpos contra o vírus da língua azul em rebanhos ovinos da microrregião de Juazeiro, Bahia. *Arq. Inst. Biol.* 77(3):419-427.
- Thrusfield M.V. 2004. Epidemiologia Veterinária. 2ª ed. Ed. Roca, São Paulo. 556p.
- Tomich, R.G.P., Nogueira, M.F., Lacerda, A.C.R., Campos, F.S., Tomas, W. M., Herrera, H.M. & Barbosa-Stancioli, E.F. 2009. Sorologia para o vírus da língua azul em bovinos de corte, ovinos e veados campeiros no Pantanal sul-mato-grossense. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 61(5):1222-1226.
- Tweedle, N., & Mellor, P.S. 2002. Technical review–bluetongue: The virus, hosts and vectors. Version 1.5. Report to the Department of Health, Social Services and Public Safety UK (DEFRA), 25 p.

- Venditti, L.L.R. 2009. Infecção pelo vírus da língua azul em ovinos e bovinos na região sudeste do Brasil e infecção pelo vírus da língua azul em ovinos e bovinos na região sudeste do Brasil. 77p. Instituto Biológico de São Paulo. Dissertação de Mestrado.
- Webb, D. & Quay, O. E. 2008. The economic and social impact of the Institute for Animal Health's work on Bluetongue disease (BTV-8). Acesso em 04/03/2015: <http://www.pirbrightinstitute.org/ecosoc/docs/Blue-Tongue-case-study.pdf>
- Wilson, A., Darpel, K., & Mellor, P. S. 2008. Where does bluetongue virus sleep in the winter? *PLoS Biology*, 6(8):1612–1617.
- Zientara, S., Bréard, E. & Sailleau, C.: Bluetongue: characterization of virus types by reverse transcription-polymerase chain reaction. *J. Dev. Biol.* v. 126, p187–196. 2006
- Zientara, S., Sánchez-Vizcaíno, J.M. Control of bluetongue in Europe. *Vet. Microbiol.*, v.165, n.1-2, p.33–37. 2013

Quadros

Quadro 1: Análise dos fatores de risco associados à infecção pelo VLA em rebanhos bovinos da microrregião Garanhuns, Pernambuco, 2015.

| VARIÁVEL | N | SOROLOGIA Reagente | ANÁLISE UNIVARIADA OR (I.C. 95%) | Valor P | REGRESSÃO LOGÍSTICA OR (I.C. 95%) | Valor P |
|--|-----|-----------------------|-------------------------------------|---------|--------------------------------------|---------|
| <i>Criação consorciada</i> | | | | | | |
| Não | 327 | 237 (72,5%) | 1,4 (0,8-2,5) | 0,157 | 3,2 (1,3-8,1) | 0,012 |
| caprinos e/ou ovinos | 57 | 37 (64,9%) | | | | |
| <i>Exploração</i> | | | | | | |
| Leite | 261 | 168 (64,4%) | | | | |
| Leite e carne | 123 | 106 (86,2%) | 3,4 (1,9-6,1) | <0,001 | | |
| <i>Áreas alagadas na propriedade</i> | | | | | | |
| Sim | 291 | 225 (77,3%) | 3,0 (1,8-5,0) | <0,001 | 11,8 (2,5-54,5) | 0,001 |
| Não | 93 | 49 (52,7%) | | | | |
| <i>Áreas alagadas em propriedade circunvizinhas</i> | | | | | | |
| Sim | 259 | 195 (75,3%) | 1,7 (1,1-2,8) | 0,014 | | |
| Não | 125 | 79 (63,2%) | | | | |
| <i>Presença de insetos hematófagos</i> | | | | | | |
| Sim | 336 | 238 (70,8%) | | | | |
| Não | 48 | 36 (75,0%) | 1,2 (0,6-2,7) | 0,340 | | |
| <i>Controle de insetos</i> | | | | | | |
| Sim | 278 | 192 (69,1%) | | | | |
| Não | 77 | 65 (84,4%) | 2,4 (1,2-5,1) | 0,004 | 2,1 (1,0-4,3) | 0,033 |

N - Total de amostras; OR - *Odds Ratio* (Razão de Chance); IC - Intervalo de Confiança.

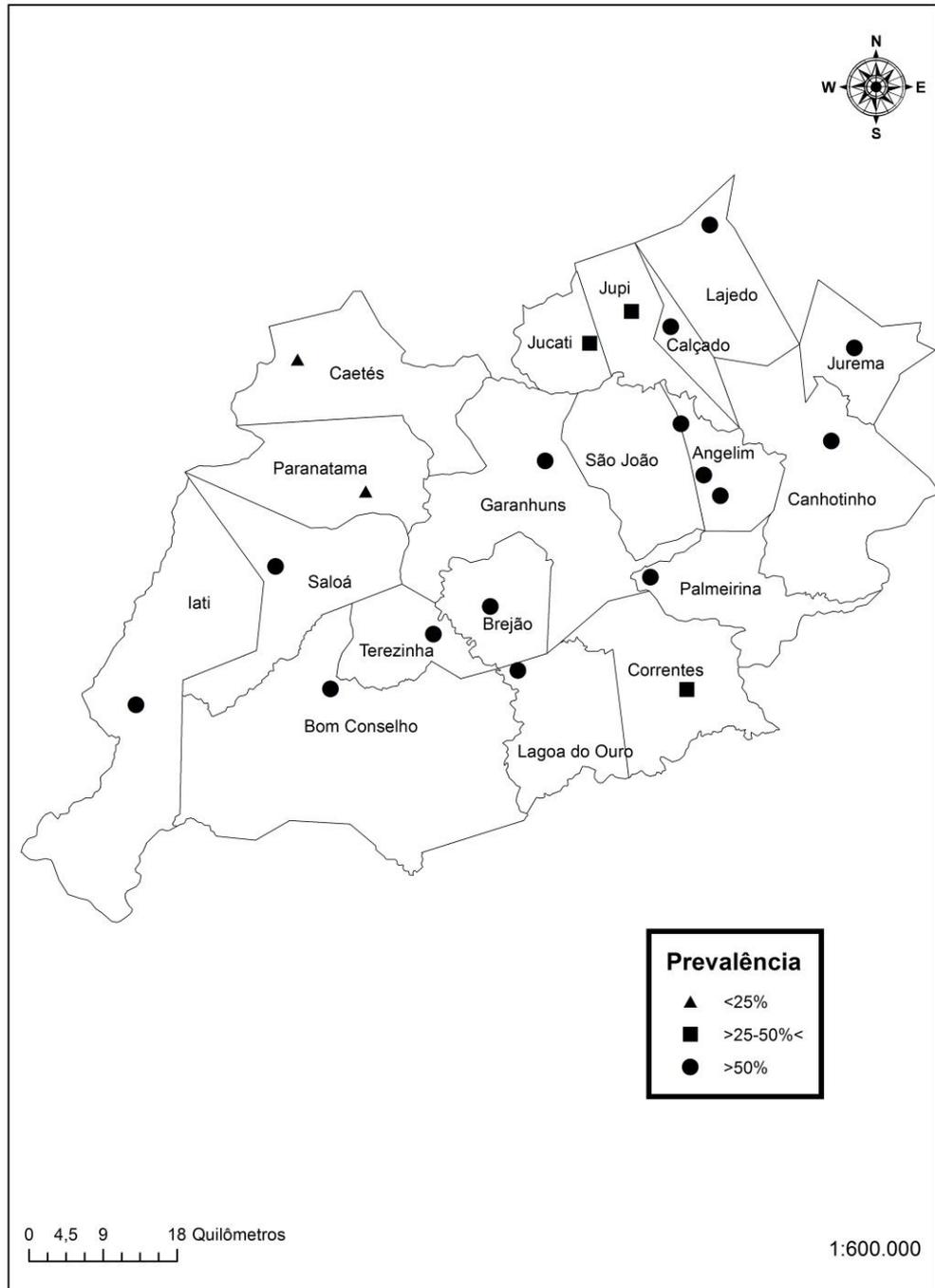
Quadro 1 cont.: Análise dos fatores de risco associados à infecção pelo VLA em rebanhos bovinos da microrregião Garanhuns, Pernambuco, 2015.

| VARIÁVEL | N | SOROLOGIA Reagente | ANÁLISE UNIVARIADA OR (I.C. 95%) | Valor P | REGRESSÃO LOGÍSTICA OR (I.C. 95%) | Valor P |
|----------------------------------|-----|-----------------------|-------------------------------------|---------|--------------------------------------|---------|
| <i>Tipo de rebanho</i> | | | | | | |
| Aberto | 257 | 198 (77,0%) | 2,2 (1,4-3,5) | <0,001 | 2,1 (1,3-3,4) | 0,001 |
| Fechado | 127 | 76 (59,8%) | | | | |
| <i>Realiza quarentena</i> | | | | | | |
| Sim | 188 | 132 (70,2%) | | | | |
| Não | 141 | 101 (71,6%) | 1,1 (0,6-1,7) | 0,438 | | |
| <i>Manejo reprodutivo</i> | | | | | | |
| Monta natural | 272 | 185 (68,0%) | - | | | |
| Inseminação artificial | 41 | 39 (95,1%) | 9,1 (2,1-38,9) | 0,001 | 8,8 (2,0-37,6) | 0,003 |
| Ambos | 71 | 50 (70,4%) | 1,1 (0,6-2,0) | | | |

N - Total de amostras; OR - *Odds Ratio* (Razão de Chance); IC - Intervalo de Confiança.

Legenda da Figura

Fig 1. Distribuição espacial da prevalência da infecção pelo VLA em rebanhos bovinos da microrregião Garanhuns, Pernambuco, 2015



6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos pode-se observar que a infecção pelo Vírus da Língua Azul está presente nos rebanhos bovinos do estado de Pernambuco.

Medidas de controle como o diagnóstico, e medidas de controle baseadas no manejo higiênico-sanitário e biosseguridade sejam implementadas para evitar a propagação do vírus, assim como estudos epidemiológicos devem ser realizados com o objetivo de identificar os sorotipos que circulam na população de ruminantes.

APÊNDICE 1 – Questionário investigativo



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTO-CONTAGIOSAS
Avenida Bom Pastor, s/n. – Boa Vista, Garanhuns/PE
55.296-901 - Telefone: (87) 3761.0969 ou 3761.0882

QUESTIONÁRIO INVESTIGATIVO PARA LÍNGUA AZUL

FICHA Nº:

PROPRIEDADE Nº

DATA: / /

INVESTIGADOR:

IDENTIFICAÇÃO

Fazenda:

Proprietário:

Endereço:

Município:

Contatos:

Coordenada geográfica:

Precipitação anual:

Área: () Urbana () Rural () Peri-Urbana

DADOS DO REBANHO

Número de animais:

Fêmeas:

Fêmeas em lactação:

Machos:

1) Espécie:

- a) Bovina
- b) Ovino
- c) Mista

2) Tipo de criação

- a) Extensivo
- b) Semi-intensivo
- c) Intensivo

3) Tipo de exploração

- a) Leite
- b) Carne
- c) Mista

4) Raça

- a) Mestiça
- b) Pura
 - I) *Bos taurus*
 - II) *Bos indicus*

5) Criação consorciada com outros animais:

- a) Ovinos
- b) Caprinos

6) Local de contato com outras espécies:

- a) Pasto
- b) Instalações
- c) Aguadas

7) Presença de animais silvestres

- a) Sim

- b) Não

8) Alimentação

- a) Com suplementação
- b) Sem suplementação

9) Fonte de água

- a) Água tratada
- b) Córregos e riachos
- c) Açudes

10) Acesso à água de superfície

- a) Sim
- b) Não

11) Áreas alagadas na propriedade

- a) Sim
- b) Não

12) Áreas alagada em propriedade circunvizinhas.

- a) Sim
- b) Não

PRESENÇA DE INSETOS

13) Insetos hematófagos

- a) Sim
- b) Não

14) Insetos

- a) Maruins
- b) Mutucas
- c) Mosca-dos-chifres
- d) Outros: _____

15) Controle de insetos.

- a) Sim
 - b) Não
- Método: _____
- _____

INSTALAÇÕES

16) Tipo de instalação

- a) Piso ripado
- b) Chão batido
- c) Cimentado

17) Realiza limpeza das instalações

- a) Sim
- b) Não

18) Periodicidade da limpeza

- a) Diariamente
- b) Semanalmente
- c) Quinzenalmente
- d) Mensalmente

19) Utiliza desinfetantes

- a) Sim
- b) Não

MANEJO SANITÁRIO

20) Tipo de rebanho

- a) aberto
- b) fechado

21) Procedência dos animais

- a) rebanho autóctone
- b) exposição/leilão
- c) feira livre

22) Realização de quarentena

- a) Sim
- b) Não

23) Realização isolamento dos animais doentes

- a) Sim
- b) Não

24) Possui assistência veterinária

- a) Sim
- b) Não

25) Histórico de lesões naso/orais

- a) Sim
- b) Não

MANEJO REPRODUTIVO

26) As fêmeas apresentam problemas reprodutivos

- a) Sim
- b) Não

27) Quais

- a) aborto
- b) retenção de placenta
- c) crias fracas
- d) nascimento de animais mortos

28) Tipo de cobertura

- a) Monta natural
- b) Inseminação Artificial
- c) Transferência de embriões

APÊNDICE 2 – Termo de Consentimento, Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTO-CONTAGIOSAS
Avenida Bom Pastor, s/n. – Boa Vista, Garanhuns/PE
55.296-901 - Telefone: (87) 3761.0969 ou 3761.0882

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Eu, _____
_____, portador do CPF de número _____ e RG
_____ autorizo a coleta do material biológico necessário para a
execução do projeto intitulado Estudo epidemiológico da infecção pelo Vírus da Língua
Azul em bovinos na microrregião Garanhuns, estado de Pernambuco e também a
publicação dos resultados obtidos para a comunidade científica.

_____, ____/____/____

Assinatura do proprietário

ANEXO 1 – NORMA DA REVISTA

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link , com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de submissão e no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico.

Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob a forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (peer review).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação (paper charge) no valor de R\$ 1.500,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o **Título** deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) **Autor(es)** deve(m) **sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos**, mas mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa (inverso, Riet-Correa F.). **Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores;**

c) o **ABSTRACT** deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que incluem palavras do título;

d) o **RESUMO** deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem palavras do título;

e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do artigo;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. **Quadros** (em vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente expressar dados complexos, por gráficos (=Figuras), ao invés de apresentá- los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no artigo e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa, do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome do periódico ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:

a) **A digitação deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das Figuras no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada capítulo.

b) a redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, **sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word**. Todos os Quadros e todas as Figuras têm que ser citados no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas.

c) **no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais autores**. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo, serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois artigos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. **Artigos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”;** a referência do artigo que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de artigos colocados cronologicamente entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada em **caixa alta e baixa**, com os nomes científicos em itálico (grifo), e **sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. Os gráficos (=Figuras) devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura).

4. As legendas explicativas das Figuras devem conter informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto).

5. Os Quadros devem ser explicativos por si mesmos. Entre o título (em negrito) e as colunas deve vir o cabeçalho entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. **Não há traços verticais, nem fundos cinzas.** Os sinais de chamada serão alfabéticos, começando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

ANEXO 2 – LICENÇA CEUA

I- FORMULÁRIO UNIFICADO PARA SOLICITAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO PARA
USO DE ANIMAIS EM EXPERIMENTAÇÃO E/OU ENSINO

LICENÇA N.
0521/2014

PROTOCOLO PARA USO DE ANIMAIS

USO EXCLUSIVO DA
COMISSÃO

PROTOCOLO Nº 23082.005115/

RECEBIDO EM: 2014
17/03/2014

B01

1. FINALIDADE

Ensino

Pesquisa

Treinamento

Início: 01/09/2013

Término: 31/07/2015

2. TÍTULO DO PROJETO/AULA PRÁTICA/TREINAMENTO

Estudo epidemiológico da infecção pelo Vírus da Língua Azul em rebanhos
bovinos na microrregião de Garanhuns, Pernambuco

Área do conhecimento: Medicina Veterinária

Lista das áreas do conhecimento disponível em:

<http://www.cnpq.br/areasconhecimento/index.htm>.

3. RESPONSÁVEL

| | |
|---------------|--|
| Nome completo | José Wilton Pinheiro Junior |
| Instituição | Universidade Federal Rural de Pernambuco |

CEUA - UFRPE
Aprovado em
05/05/2014
Validade
05/05/2016