

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS PARA O VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA EM BOVINOS CRIADOS NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA, PARANÁ

I.R. de Barros Filho¹, A.K. Guimarães¹, D. Sponchiado², E.R. Krüger³,
E.V. Wammes¹, R.D. Ollhoff⁴, P.T. Dornbusch¹, A.W. Biondo¹

¹Universidade Federal do Paraná, Departamento de Medicina Veterinária, Rua dos Funcionários, 1540, CEP 80035-050, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: ivanbarf@ufpr.br

RESUMO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma doença infecto-contagiosa causada pelo Vírus da Leucemia Bovina (VLB), um retrovírus oncogênico da família Retroviridae. O presente estudo teve como objetivo avaliar a soroprevalência e a respectiva influência de fatores etários da LEB em bovinos leiteiros das raças Holandesa Preta e Branca, Jersey, Pardo-Suíço e mestiços, criados na região metropolitana de Curitiba, PR. Foram testadas 268 amostras de soros sanguíneos pela prova de Imunodifusão em gel de Agar (IDGA), colhidas em cinco propriedades situadas nos municípios de São José dos Pinhais, Campina Grande do Sul, Pinhais e Fazenda Rio Grande. Foram encontrados 151/268 (56,34%) animais positivos e 117/268 (43,66%) negativos. Animais mais velhos mostraram um aumento estatisticamente significativo de soropositividade. Pode-se concluir que a LEB está amplamente disseminada em bovinos leiteiros da região metropolitana de Curitiba e há necessidade de adequada aplicação de medidas de controle e prevenção da LEB.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças infecciosas, ruminantes, imunodifusão.

ABSTRACT

SEROPREVALENCE FOR BOVINE LEUKOSIS VIRUS (BLV) IN DAIRY CATTLE OF CURITIBA AND THE SURROUNDING AREA, PARANÁ, BRAZIL. Enzootic bovine leukosis (EBL) is an infectious and contagious disease caused by bovine leukemia virus (BLV), an oncogenic retrovirus of the family Retroviridae. The present study aimed to evaluate the seroprevalence and respective age influence of BLV in Holstein, Jersey, Brown Swiss and mixed-breed dairy cattle raised in Curitiba and the surrounding area, Paraná, Brazil. A total of 268 samples of bovine serum from five different herds in the counties of São José dos Pinhais, Campina Grande do Sul, Pinhais and Fazenda Rio Grande were tested with immunodiffusion (ID). A total of 151/268 (56.34%) tested seropositive, while 117/268 (43.66%) were considered seronegative. Older animals presented a significant rise in seropositivity. In conclusion, BLV is widely distributed among dairy cattle of Curitiba and the surrounding area, present in all tested herds, thus requiring adequate application of measures in EBL control and prevention.

KEY WORDS: Infectious diseases, ruminants, immunodiffusion.

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma doença causada por um vírus da família Retroviridae, que afeta 27,6% dos bovinos criados em diversas regiões do Brasil, e está difundida no mundo todo (BIRGEL JUNIOR *et al.*, 2006). No Estado do Paraná, o primeiro registro da doença aconteceu em 1979, com achados anatomopatológicos de necropsias de bovinos (DINIZ *et al.*, 1979). Três anos mais tarde foi realizado o primeiro estudo para se conhecer a prevalência da Leucose Enzoótica Bovina nos bovinos leiteiros do

Paraná, e constatou-se a presença da LEB em 7 das 9 regiões pesquisadas (KANTEK *et al.*, 1982).

Os rebanhos leiteiros são os mais afetados com a LEB devido ao constante manejo na produção, propiciando a transmissão iatrogênica (horizontal), causada pelo uso de fômites contaminados como o uso de equipamentos de ordenha, agulhas, instrumentos cirúrgicos e palpação retal (BIRGEL JUNIOR *et al.*, 2006). Logo, de acordo com TÁVORA; BIRGEL (1991), os animais submetidos a um regime intensivo, com

²Universidade Federal do Paraná, Palotina, PR, Brasil

³Centro de Diagnóstico "Marcos Enrietti", Curitiba, PR, Brasil.

⁴Pontifícia Universidade Católica do Paraná, São José dos Pinhais, PR, Brasil.

maior tecnologia, são mais infectados que os criados em criação extensiva.

A doença manifesta-se em três formas distintas: aleucêmica (presença de anticorpos), linfocitose persistente e pelo desenvolvimento de linfossarcomas. Entre 1% a 5% dos bovinos soropositivos desenvolvem o linfossarcoma, forma mais comum de neoplasia do gado bovino leiteiro e 30% desenvolvem linfocitose persistente (FERRER *et al.*, 1979). A maior incidência dos tumores ocorre de quatro a oito anos de idade, tendo uma mortalidade em torno de 10-15%. Os animais acometidos são descartados mais cedo devido a transtornos como infertilidade e queda na produção de leite, pois os órgãos e sistemas são atingidos com o linfossarcoma e isso pode originar problemas circulatórios, respiratórios, digestivos, reprodutivos, urinários e neurológicos (SILVA *et al.*, 2008). Além disso, os bovinos que apresentam o linfossarcoma podem desenvolver imunodepressão, predispondo-o a outras doenças, o que não ocorre com os que manifestam a forma aleucêmica, em que não há redução dos níveis de gamaglobulinas (GARCIA *et al.*, 2002).

Essa enfermidade gera perdas econômicas com perda da produção leiteira devido ao descarte de bovinos soropositivos ou com linfossarcoma, sendo ainda uma barreira de comércio internacional pela grande exigência dos países importadores, uma vez que os animais devem estar livres da doença (D'ANGELINO, 1991).

O objetivo deste trabalho foi detectar a prevalência de bovinos leiteiros sororreagentes para a Leucose Enzoótica Bovina (LEB) criados na região metropolitana de Curitiba, PR, bem como a possível influência de fatores etários.

Foram colhidas aleatoriamente amostras de 268 bovinos, sendo 180 da raça Holandesa Preta e Branca, 63 da raça Jersey, 22 da raça Pardo-Suíço e 3 mestiços originados de cinco propriedades dos municípios de Pinhais, São José dos Pinhais, Campina Grande do Sul e Fazenda Rio Grande no decorrer de janeiro a outubro de 2007. Os animais eram criados em regime semi-intensivo e tinham por finalidade a produção leiteira.

A colheita das amostras foi realizada pela punção da veia jugular de animais jovens (um a doze meses de idade) ou veia coccígea dos animais maiores que doze meses. As amostras foram armazenadas em tubos (10 mL) e mantidas a temperatura ambiente por 3 a 4 horas para facilitar a retração do coágulo e posteriormente centrifugadas para obter o soro, que foi separado em três alíquotas de 1,5 mL por uma micropipeta e armazenadas em tubos de Eppendorf a -20°C até a realização do diagnóstico. Estes procedimentos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas da UFPR em Curitiba. A pesquisa de anticorpos séricos anti-VLB foi realizada no Laboratório de Virologia do Centro de Diagnóstico Marcos

Enrietti, pela prova de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), segundo a metodologia padronizada por MILLER; VAN DER MAATEN (1976).

Após o processamento das amostras e armazenamento dos resultados, estes foram analisados de acordo com métodos estatísticos para verificar a significância dos resultados. A avaliação estatística foi realizada pelo Método de Fisher, com significância de 5%, onde $p < 0,05$. O teste foi realizado via on-line no site <http://www.quantitativeskills.com/sisa/statistics/fisher.htm>.

Dos 268 bovinos testados, criados na região metropolitana de Curitiba, 151 foram sororreagentes, ou seja, 56,34%. Destes foram positivos 60,32% dos animais raça Jersey, 60% das Holandesa Preta e Branca, 22,72% das Pardo-Suíço e nenhuma mestiça. Estes dados são semelhantes com os de LEUZZI JUNIOR *et al.* (2003), que encontraram 40,7% de bovinos leiteiros criados na região norte do Paraná, soropositivos para a LEB, quase o dobro que o estudo de KANTEK *et al.* (1982; 1983), cujos levantamentos sorológicos resultaram em 20,7% de prevalência no mesmo Estado. Recentemente, também no Paraná, SPONCHIADO (2008) relatou que 49,04% de bovinos da raça HPB foram sororreagentes. Ao analisar-se os dados retro citados e ao confrontar-se com os resultados deste estudo, pode-se notar que a LEB possui uma prevalência alta em bovinos leiteiros.

De acordo com LUDERS (2001) e MEGID *et al.* (2003), que estudaram a prevalência da LEB nos estados de Santa Catarina e São Paulo, respectivamente, os estados vizinhos ao Paraná apresentaram uma soro positividade e 7,6% e 51,8%. Enquanto que, nos estados não fronteiriços com o Paraná, Minas Gerais (LEITE *et al.*, 1984) com 70,9% e no Rio de Janeiro (ROMERO; ROWE, 1981) com 53,3%, respectivamente, foram encontrados soroprevalências maiores e semelhantes aos encontrados na região Metropolitana de Curitiba, com resultados refletindo talvez os métodos de manejo adotados.

Os dados referentes à idade dos animais estão representados na Tabela 1. Houve relativa baixa soro positividade entre os animais do Grupo I e II, porém somente o grupo II foi significativo ($p < 0,05$). Já os animais dos Grupos III a VI aumentaram consideravelmente, no entanto, somente o aumento dos grupos V e VI foram significativos ($p < 0,05$).

Os resultado do presente trabalho corroboram os achados de autores como BIRGEL *et al.* (1988), BIRGEL JUNIOR *et al.* (1995) e SPONCHIADO (2008) que afirmaram haver um aumento da prevalência com o passar da idade dos bovinos. BIRGEL *et al.* (1988) encontraram soro-positividade de 35,6% (26/73) de bovinos na faixa de 12 a 24 meses de idade e 78,6% (33/42) em animais acima de 84 meses. Em outro estudo realizado com 1.448 bovinos da raça Holandesa, a positividade foi de 34,5% de animais com 13 a 18 meses e 66,7% para animais com idade de 109 a 114 meses (OLIVEIRA *et al.*,

1997). BIRGEL JÚNIOR *et al.* (1995) examinaram bovinos da raça Jersey e encontraram 24,6% (30/122) de animais positivos na faixa etária de 12 a 24 meses e de 86,2% (106/123) nos animais com até 72 meses. Em todos eles há um aumento da prevalência nas faixas etárias mais elevadas, refletindo uma exposição continuada a um risco de infecção crescente com o passar dos anos.

A expressiva sororeatividade de 30 % de bezerros de até seis meses de idade pode ser resultado da ingestão de colostro de mães positivas. Em 1981, FERRER; PIPER referiram a possibilidade de transmissão vertical via colostro. Os pesquisadores avaliaram o soro de bezerros antes da ingestão do colostro e o resultado foi negativo para todos. Após a ingestão do colostro de vacas positivas para o vírus da Leucose Bovina, 100% dos bezerros apresentaram soropositividade, comprovando a transferência passiva de anticorpos da mãe para os bezerros. Dos 7 aos 9 meses de idade estes bezerros apresentaram-se novamente negativos para o vírus. MOLNÁR *et al.* (1998) testaram bezerros de 2 a 3 meses de idade e 100% dos animais foram positivos à LEB. Após 3 meses estes mesmos animais foram re-testados e poucos obtiveram soropositividade baixa, sendo a maioria negativa, demonstrando que no primeiro teste estes foram soropositivos devido à ingestão de colostro, tornando-se negativos após o desaparecimento dos anticorpos maternos. Outra possibilidade para essa alta positividade de animais ≤ 6 meses seria a transmissão passiva de vírus via placentária (HÜBNER *et al.*, 1997). No entanto, a queda

significativa dos sororeagentes na faixa etária dos 6 aos 12 meses sugere a maior influência do colostro na prevalência mais elevada no início da vida. Para esclarecer a real quantidade de bezerros infectados, e não somente soropositivos, poder-se-ia tentar o isolamento viral através de técnicas como a reação em cadeia da polimerase (PCR) (DITTRICH, 2004).

Com os resultados deste trabalho pode concluir que a Leucose Enzoótica Bovina está disseminada em bovinos leiteiros da região metropolitana de Curitiba devido, possivelmente, à falta de programas de controle da doença e a pouca conscientização dos produtores e técnicos sobre os prejuízos advindos da presença do VLB no rebanho. Os animais menores de seis meses de idade apresentam uma maior soropositividade que os bovinos de até 36 meses provavelmente em decorrência à transferência de anticorpos pelo colostro ou via placentária. A maior sororeatividade para os animais mais velhos ocorre pelo fato de ser uma doença de caráter crônico, com maior probabilidade de transmissão com o passar do tempo. Devido à alta prevalência da doença e pela importância econômica desta, medidas preventivas e sanitárias devem ser realizadas por meio de exames sorológicos e um constante acompanhamento veterinário, visando o saneamento gradativo do rebanho. O controle deve ser focado principalmente para rebanhos leiteiros, pela maior prevalência da doença e facilidade de transmissão representada por criações com manejo intensivo.

Tabela 1 - Infecção de bovinos pelo VLB obtidos pela IDGA, distribuição segundo faixa etária, números absolutos e relativos. Curitiba, 2010

Grupo	Idade (meses)	Nº bovinos	Reagentes	Não reagentes
I	≤ 6	40	12 (30,00%)	28 (70,00%)
II	6- 12	24	3 (12,50%)	21 (87,50%)
III	12- 24	35	18 (51,43%)	17 (48,58%)
IV	24- 36	42	24 (57,15%)	18 (42,86%)
V	36- 60	63	38 (60,32%)	25 (39,69%)
VI	>60	64	56 (87,50%)	8 (12,50%)
Total		268	151 (56,34%)	117 (43,66%)

Tabela 2 - Valores estatísticos de “p” e sua significância no teste de Fisher, para a comparação entre resultados dos grupos etários bovinos, reagentes ao VLB na IDGA (p < 0,05). Curitiba, 2010.

Idade (meses)	6 - 12	12 - 24	24 - 36	36 - 60	> 60
≤ 6	0,1629 NS	0,1542 NS	0,0870 NS	0,0494 S	0,0026 S
6 - 12	-	0,0234 S	0,0114 S	0,0059 S	0,0003 S
12 - 24	-	-	0,4691 NS	0,3945 NS	0,0816 NS
24 - 36	-	-	-	0,6276 NS	0,1142 NS
36 - 60	-	-	-	-	0,1115 NS

S - Significativo; NS - Não Significativo.

AGRADECIMENTO

Ao Instituto Tecnológico do Paraná – TECPAR pela cessão dos kits de diagnósticos.

REFERÊNCIAS

- BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; GARCIA, M.; MARÇAL, W.S. Estudo Preliminar Sobre Ocorrência da Leucose do Bovinos Adultos Criados na Região de Campinas. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DA MEDICINA VETERINÁRIA, 43., 1988, Campinas-SP. *Resumos*. Campinas: SPMV, 1988. p.30.
- BIRGEL JÚNIOR, E.H.; D'ANGELINO, J.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.15, n.4, p.93-99, 1995.
- BIRGEL JUNIOR, E.H.; DIAS, W.M.C.; SOUZA, R.M.; POGLIANI, F.C.; BIRGEL, D.B.; BIRGEL, E.H. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose bovina em animais da raça Simental, criados no Estado de São Paulo. *ARS Veterinária*, v.22, n.2, p.122-129, 2006
- D'ANGELINO, J.L. *Leucose enzoótica dos bovinos, estudo retrospectivo da performance produtiva e reprodutiva de animais infectados e não infectados*. 85p. Tese (Livre Docência em Clínica Médica) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.
- DINIZ, J.M.F.; BARONI, J.M.; FERNANDES, B.F.; MARTINS, D.M. Leucose bovina no estado do Paraná. *Revista do Setor de Ciências Agrárias*, v. 2, p. 33-38, 1979.
- DITTRICH, T.R.C. *Produção de reagentes para o diagnóstico da infecção pelo vírus da leucose bovina*. 2004. 136 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.
- FERRER, J.F.; MARSHAK, R.R.; ABT, D.S. Relationship between lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in cattle. A review. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.175, p.705-708, 1979.
- FERRER, J.F.; PIPER, C.E. Role of colostrum and milk in the natural transmission of the Bovine Leukemia Virus. *Cancer Research*, v.41, p.4906-4909, 1981.
- GARCIA, M.; BASTOS, P.A.S.; SILVA, M.M.; MARTINS, M. de F.; LETTRY, V. Concentração sérica de gamaglobulinas em bovinos naturalmente infectados pelo vírus da leucose enzoótica bovina. *Ars Veterinária*, v.18, n.1, p.62-66, 2002.
- HÜBNER, S.O.; WEIBLEN, R.; MORAES, M.P.; SILVA, A.M.; CARDOSO, M.J.L.; PEREIRA, N.M.; ZANINI, M. Infecção intra-uterina pelo vírus da Leucose Bovina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 21, n.4, p.8-11, 1997.
- KANTEK, C.E.; KRÜGER, E.R.; WELTE, V.R. Infecção com o vírus da Leucose Enzoótica Bovina em um lote de vacas produtoras de leite importadas do Uruguai. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.2, n.2, p.125-126, 1982.
- KANTEK C.E.; KRÜGER E.R.; WELTE V.R. Prevalência do vírus da Leucose Enzoótica Bovina no rebanho leiteiro do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.3, n.4, p.125-129, 1983.
- LEITE, R.C.; MODENA, C.M.; MOREIRA, E.C.; ABREU, J.J. Evolução clínica da Leucose Enzoótica Bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.36, n.1, p.47-57, 1984.
- LEUZZI JUNIOR, L.A.; GUIMARAES JUNIOR, J.S.; FREIRE, R.L.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Influência da idade e do tamanho do rebanho na soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos produtores de leite tipo B, na região de Londrina do Estado do Paraná. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v.10, n.2, p.93-98, 2003.
- LUDERS, M.A. *Prevalência de anticorpos contra o Vírus da Leucose Enzoótica Bovina em fêmeas com mais de dois anos no rebanho de bovinos leiteiros no Município de Mafra, SC*. 2001. 30p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agroveterinárias/Sanidade Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lajes, 2001.
- MEGID J.; NOZAKI C.N.; KURODA R.B.S.; CRUZ T.F.; LIMA K.C. Ocorrência de Leucose Enzoótica Bovina na microrregião da Serra de Botucatu. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55, n.5, p. 645-646, 2003.
- MILLER, J.M.; VAN DER MATTEN, M.J. Sorologic detection of Bovine Leukemia Vírus infection. *Veterinary Microbiology*, v.31, p.47-55, 1976.
- MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E.; SANTOS, A. M.; CORÔA, A.C.; TÚRY, E. Leucose em bovinos jovens; dados epidemiológicos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.20, n.3, 1998.
- OLIVEIRA, A.R.; BARRETO, C.S.F.; MERICHELLO, D.; SANQUENTIN, W.M. Epidemiologia da Leucose Bovina: ocorrência de anticorpos em várias faixas etárias. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.19, n.6, 1997.
- ROMERO, C. H.; ROWE, C. A. Enzootic bovine leukosis virus in Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, v.13, n.2, p.107-111, 1981.
- SILVA, R.C.; FONTANA, I.; MEIRELLES, F.C.; RUGGIERO, A.P.M.; BENATO, N.; BORGES, J.R.J. Ocorrência de leucose enzoótica bovina na forma de linfosarcomas no distrito federal: relato de caso. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.75, n.4, p.507-512, 2008.

SPONCHIADO, D. *Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos da raça Holandesa Preta e Branca, criados no estado do Paraná*. 2008, 101p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, 2008, Curitiba, 2008.

leiteiros criados na região do pólo Itabuna, estado da Bahia. *Arquivo da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia*, v.14, n.1, p.164-183, 1991.

TÁVORA, J.P.F.; BIRGEL, E.H. Prevalência da infecção pelo Vírus da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos

Recebido em 13/3/09
Aceito em 2/8/10