

## ANTICORPOS CONTRA O AGENTE DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA E DA PARATUBERCULOSE BOVINA E OCORRÊNCIA DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA EM BOVINOS DESTINADOS À EXPORTAÇÃO

AMANDA DE OLIVEIRA BARBOSA<sup>1</sup>; LEONARDO CLASEN RIBEIRO<sup>2</sup>; LARIANE DA SILVA BARCELOS<sup>2</sup>; ISABEL DE ALMEIDA MANCINI<sup>2</sup>; MARCELO DE LIMA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [barbosa.oamanda@gmail.com](mailto:barbosa.oamanda@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [leo\\_clasen92@hotmail.com](mailto:leo_clasen92@hotmail.com), [larianebarcelos@gmail.com](mailto:larianebarcelos@gmail.com), [isabelmancini@outlook.com](mailto:isabelmancini@outlook.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [mdelima.ufpel@gmail.com](mailto:mdelima.ufpel@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A exportação de animais vivos no Brasil, não incluindo pescados ou crustáceos, ocupou o sexto lugar no ranking das Exportações do setor Agropecuário em 2020 (MDIC, 2021). O estado do Rio Grande do Sul está entre os principais exportadores, sendo responsável por 25,23% do total de animais exportados no país entre os anos de 2018 e 2020, equivalente a 415.985 cabeças de gado (OGC, 2021). O processo de exportação engloba uma série de restrições que vão depender das exigências do país importador e da finalidade comercial dos animais (BRASIL, 2018). Atualmente, os principais países importadores de gado vivo do Brasil são Turquia, Egito, Iraque e Líbano (OGC, 2021). Dentre as exigências sanitárias podem estar doenças infecciosas como a tuberculose, brucelose, Paratuberculose Bovina (PTB), tripanossomose, Diarreia Viral Bovina (BVD), Leucose Enzoótica Bovina (LEB), língua azul, entre outras. Os animais reagentes devem ser excluídos dos lotes destinados à exportação. As amostras relatadas no presente estudo são provenientes de animais no processo de exportação para Turquia, cujas restrições sanitárias incluem diagnóstico negativo para: BVD, LEB e PTB.

O Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) possui um genoma RNA fita simples e pertence à família *Flaviviridae* e ao gênero *Pestivirus* (ICTV, 2020). A infecção pelo BVDV pode ocorrer de duas formas: transitória por transmissão horizontal e infecções persistentes por transmissão vertical (EVANS et al., 2019). As manifestações clínicas da enfermidade são variáveis, podendo cursar com sinais reprodutivos, entéricos e quedas de produtividade. Além disso, nos animais persistentemente infectados pode ocorrer o desenvolvimento da doença fatal das mucosas (FLORES et al., 2005).

A LEB é causada pelo Vírus da Leucemia Bovina (BLV), membro da família *Retroviridae* e do gênero *Deltaretrovirus* (ICTV, 2020). A principal forma de transmissão é horizontal a partir de linfócitos contaminados com o provírus. A doença pode cursar com ineficiências de produção e diminuição da imunidade sistêmica, predispondo a ocorrência de outras comorbidades (BARTLETT et al., 2020). Além disso, em 30% dos animais infectados há o desenvolvimento de linfocitose persistente e em 5% o desenvolvimento de tumores (RESENDE et al., 2020).

Já a paratuberculose, causada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (MAP), nem sempre está associada a presença de sinais clínicos. Aproximadamente 95% dos animais infectados encontram-se em estágios subclínicos devido ao longo período de incubação do agente (2 a 7

anos). Quando presente, a manifestação clínica mais comum é caracterizada por: diarreia intermitente, perda de condição corporal e queda na produtividade (CAMANES et al., 2018; WHITTINGTON et al., 2019). A transmissão pode ocorrer por via vertical ou horizontal, sendo as fezes dos animais infectados uma das principais fontes de contaminação (CAMANES et al., 2018).

Considerando a importância das enfermidades e as restrições sanitárias impostas pelos países importadores, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de anticorpos contra o agente da LEB e da PTB e da infecção pelo BVDV em amostras clínicas de bovinos destinados à exportação no estado do Rio Grande do Sul.

## 2. METODOLOGIA

No Laboratório de Virologia e Imunologia da Universidade Federal de Pelotas (LABVIR-UFPEL) foram recebidas 8.155 amostras de soro bovino provenientes de animais alojados em Estabelecimentos Pré-Embarque (EPE). As amostras identificadas e armazenadas à 4 °C, foram submetidas aos seus respectivos testes diagnósticos utilizando *kits* comercialmente disponíveis, conforme a Tabela 1.

Tabela 1. *Kits* comerciais utilizados para o diagnóstico de Diarreia Viral Bovina (BVD), Leucose Enzoótica Bovina (LEB) e Paratuberculose bovina (PTB) e seus respectivos objetivos.

	<i>Kits</i> comerciais	Objetivos
Diarreia Viral Bovina	ELISA ( <i>BVD P80 Antigen Capture</i> ) da Empresa ID Vet e qRT-PCR (Id Gene BVD/BD Triplex)	ELISA: detecção da proteína P80 presente no vírus qRT-PCR: detecção do genoma viral
Leucose Enzoótica Bovina	ELISA ( <i>BLV competition</i> ) da Empresa ID Vet	Detecção de anticorpos contra a glicoproteína gp51 do BLV
Paratuberculose Bovina	ELISA ( <i>Paratuberculosis Indirect-screening test</i> ) da Empresa ID Vet	Detecção de anticorpos contra o MAP

Todos os protocolos foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante. A leitura das placas de ELISA para LEB e PTB foi realizada através do espectrofotômetro (*Thermo Plate - TP Reader®*), DO<sub>450</sub> e DO<sub>450-492</sub>, respectivamente.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo uso das técnicas de ELISA e qRT-PCR, foi possível identificar uma ocorrência de 0,44% (36/8.155) de animais infectados pelo BVDV. Além disso, 0,40% (33/8.155) de animais com anticorpos contra o BLV e 0,44% (36/8.153) de amostras positivas para a presença de anticorpos contra o agente da paratuberculose bovina (2 amostras não foram testadas por estarem em quantidade insuficiente). A baixa ocorrência de LEB e PTB pode ser justificada pela origem das amostras, ambas as enfermidades são mais presentes em rebanhos leiteiros, em comparação com os rebanhos de corte, alvos deste estudo (RAVAZZOLO et al., 2017; WHITTINGTON et al., 2019). Um dos fatores envolvidos na baixa ocorrência de LEB nos rebanhos de corte é a baixa transmissibilidade do BLV e o sistema de criação empregado para esses

rebanhos. O sistema extensivo, mais comum para gado de corte, diminui o contato entre os animais e dificulta a transmissão direta (RAVAZZOLO et al., 2017). Em relação a PTB, devido ao longo período de incubação do MAP e a baixa idade de abate dos animais, os bovinos de corte não atingem os estados mais avançados da infecção e eliminação do agente. Dessa forma, ocorre menor transmissão da enfermidade (WHITTINGTON et al., 2019).

Para a BVD, os testes utilizados detectam a presença de segmentos genômicos ou antígenos do vírus. Ou seja, as 33 amostras positivas se referem a animais infectados no momento da coleta, o que alerta para a circulação viral no rebanho e a possibilidade da presença de animais Persistentemente Infectados (PI). A ocorrência encontrada de 0,40% contrasta com os resultados de estudos sorológicos com índices de 66,32% a 83% de animais reagentes (FINGER et al., 2007; QUINCOZES et al., 2007). Porém, são mais próximos aos resultados de MASCITTI et al. (2017) que descreve 0,21% (1/455) de amostras de soro de touros positivas para presença de antígenos no RT-PCR.

Ademais, a ocorrência dessas enfermidades pode variar dentre as regiões do país. CARRILO et al. (2019) em um estudo com 1.800 amostras provenientes dos estados de Goiás (GO), Minas Gerais (MG) e São Paulo (SP), também de bovinos destinados à exportação, descreveu prevalência de 10,50% para leucose enzoótica bovina, 5,4% paratuberculose e 3,2% para diarreia viral bovina.

#### 4. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou uma relativa baixa ocorrência das infecções pelos agentes estudados nas amostras de soro de bovinos do estado do RS destinados à exportação. Essas análises são essenciais pois garantem o descarte dos animais positivos do processo de exportação e contribuem para a sanidade dos rebanhos evitando a disseminação destes agentes infecciosos. Além disso, os dados são importantes para agregar conhecimento sobre a distribuição dessas enfermidades nos rebanhos de corte do Rio Grande do Sul.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARTLETT P.; RUGGIERO V.; HUTCHINSON H.; et al. Current developments in the epidemiology and control of enzootic bovine leukosis as caused by bovine leukemia virus. **Pathogens**, v. 9, n. 12, p. 1-13, 2020.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46 de 28 de agosto de 2018. Regulamento técnico para exportação de bovinos, bubalinos, ovinos e caprinos vivos, destinados ao abate ou à reprodução. **Diário Oficial da União**, Brasília, nº 170, 03 de setembro de 2018. Seção 1, p. 24-25.

CAMANES G.; JOLY A.; FOURICHON C.; et al. Control measures to prevent the increase of paratuberculosis prevalence in dairy cattle herds: An individual-based modelling approach. **Veterinary Research**, v. 49, n. 1, p.1-13, 2018.

CARRILLO, H. A. M.; SILVEIRA, S. R. B.; MIRANDA, A. S.; et al. Prevalence of bovine brucellosis, paratuberculosis, enzootic leucosis, and antigen-reactive

agents to bovine viral diarrhoea virus in animals up to one year old. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, 2019.

EVANS, C. A.; PINIOR B.; LARSKA M. et al. Global knowledge gaps in the prevention and control of bovine viral diarrhoea (BVD) virus. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 66, n. 2, p. 640–652, 2019.

FINGER, P. F.; SIEDLER, B.; MUNHOZ, L.; et al. Prevalência De Infecção Pelo Vírus Da Diarreia Viral Bovina (BVD) Em Rebanhos Bovinos Do Estado Do Rio Grande Do Sul. **XVI Congresso de Iniciação Científica**, Anais... 2007.

FLORES E.; WEIBLEN R.; VOGEL F.; et al. A infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3. p. 125-134, 2005.

ICTV: *International Committee on Taxonomy of Viruses*. **Taxonomia viral**. 2020. Online. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

MASCITTI A.; FRAGA A.; ABREU J.; et al. Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em touros mantidos a campo no estado no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n. 3, p. 766-770, 2017.

MDIC, Ministério da Economia, Indústria, Comércio exterior e serviços. Exportação e importação geral, Brasília. Acessado em: 27 de julho de 2021. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis>

OGC: Observatório Gaúcho da Carne. Acessado em: 25 de julho de 2021. Disponível em: <http://www.observatoriogauchodacarne.com.br/portfolio/mercado-externo-exportacao-animais-vivos/>

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

QUINCOZES, C.G. **Prevalência e fatores de risco associados às infecções pelos herpesvírus bovino tipo 1 e 5 (BHV-1 e 5) e pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) nos rebanhos dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí**. 2007. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.

RAVAZZOLO, A. P.; COSTA, U. M. Retroviridae, In: Flores E.F. (Ed.), **Virologia Veterinária: virologia geral e doenças víricas**, 3 ed. Santa Maria, 2017, p. 1019-1053.

RESENDE C.; GALINARI G.; VICTOR R.; et al. Indirect ELISA (iELISA) standardization for the diagnosis of bovine enzootic leukosis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 12, p. 977-984, 2020.

WHITTINGTON R.; DONAT K.; WEBER M.; et al. Control of paratuberculosis: Who, why and how. A review of 48 countries. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 1, p. 1-29, 2019.