

PREVALÊNCIA DE LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA, DIARREIA VIRAL BOVINA E PARATUBERCULOSE BOVINA EM AMOSTRAS DE SORO ANALISADAS NO LABORATÓRIO DE VIROLOGIA E IMUNOLOGIA - UFPEL

LARIANE DA SILVA BARCELOS¹; NADÁLIN YANDRA BOTTON²;
MATHEUS IURI FRÜHAUF³; CRISTINA MENDES PETER⁴; GEFERSON FISCHER⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – larianebarcelos@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - nadalinyb@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - matheus.fruhauf@outlook.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – cristina_peter@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – geferson.fischer@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura ocupa posição de destaque na economia brasileira, país com o maior rebanho bovino do mundo, somando mais de 200 milhões de cabeças de gado (MAPA, 2019). Assim sendo, torna-se de grande importância o conhecimento e identificação das patologias que possam afetar a saúde e produtividade desses animais, dentre elas, a Leucose Enzoótica Bovina (LEB), a Diarreia Viral Bovina (BVD) e a Paratuberculose Bovina.

A LEB é causada pelo vírus da Leucemia Bovina (VLB), da família *Retroviridae* (ICTV, 2019) e provoca, primeiramente, uma linfocitose persistente (fase benigna), seguida do desenvolvimento de linfossarcomas (fase maligna) (FRIE; COUSSENS, 2015). A prevalência da LEB pode variar muito entre diferentes rebanhos, afetando mais, de forma geral, os rebanhos leiteiros (TOSTES, 2005). Já a BVD é amplamente distribuída, sendo, inclusive, considerada uma das principais enfermidades que afetam a pecuária, trazendo graves consequências reprodutivas. É causada pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV), capaz de gerar animais permanentemente infectados (PI's), que podem disseminar o vírus silenciosamente no rebanho (FLORES, 2017). Já a Paratuberculose é causada por uma bactéria, chamada *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) (FISS et al., 2015) que pode provocar granulomas intestinais e diarreia, levando a significativas perdas econômicas, como queda no valor do leite e abate prematuro (RAIZMAN et al., 2009).

Frente ao desafio de lidar com essas enfermidades e manter os altos padrões da bovinocultura brasileira, fazem-se necessárias análises periódicas do rebanho e identificação de possíveis agentes etiológicos presentes. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi analisar a prevalência de Leucose Enzoótica Bovina, Diarreia Viral Bovina e Paratuberculose em amostras analisadas no Laboratório de Virologia e Imunologia (LABVIR) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL).

2. METODOLOGIA

Foram recebidas 7.389 amostras de sangue bovino no LABVIR-UFPEL, para analisar a presença de LEB, BVD e Paratuberculose, provenientes de diversos municípios do Rio Grande do Sul, no ano de 2019. Para LEB, amostras de soro, devidamente identificadas e armazenadas, foram submetidas ao Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima (ELISA) (*BLV competition* kit, ID.Vet). Esse teste

consiste na busca por anticorpos contra o VLB, mais especificamente, contra a glicoproteína gp51, presente em seu envelope viral.

Para realização do teste foram utilizadas placas de 96 poços, sensibilizadas previamente com o antígeno, nas quais foram adicionados os soros a serem testados, bem como controles positivo e negativo, incubando-se as placas em estufa sob 37 °C com 5% de CO₂. Após o período de incubação, a placa foi lavada e adicionou-se um conjugado, incubando novamente. Em seguida, a placa foi lavada e recebeu o substrato, sendo submetida à nova incubação e a reação foi encerrada com uma solução *stop*. Após 15 minutos, a leitura foi realizada através de um espectrofotômetro (Thermo Plate – TP Reader®), DO₄₅₀.

Para BVD, os diagnósticos foram realizados através dos testes de ELISA (BVD P80 *Antigen Capture*, ID.Vet) e Real Time PCR com transcrição reversa (qRT-PCR), por tratar-se de um vírus RNA. Nesse caso, o ELISA busca na amostra sorológica não os anticorpos, mas a presença do próprio antígeno: mais especificamente, da proteína P80 presente no BVDV. E a qRT-PCR (*Id Gene BVD/BD Triplex*) foi realizada seguindo o protocolo do fabricante (ID.Vet), primeiramente sendo extraído o RNA e obtido o DNA complementar (cDNA), para ser possível realizar o teste. Importante ressaltar que, diferente da PCR tradicional, a qRT-PCR é um teste quantitativo, cujo resultado é baseado na amplificação do cDNA viral, quando presente na amostra analisada.

Para diagnóstico de Paratuberculose, utilizou-se, também, amostras de soro bovino, identificadas e armazenadas sob refrigeração, que foram submetidas ao teste ELISA (*Paratuberculosis Indirect- screening test*, ID.Vet). Semelhantemente ao teste ELISA realizado para LEB, utilizou-se placas de 96 poços sensibilizadas com antígeno, neste caso em busca de anticorpos contra o MAP. O protocolo de realização foi o mesmo e os resultados também foram avaliados de acordo com a absorbância, através de um espectrofotômetro (450-492nm).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 7.389 amostras de sangue bovino, sendo encontrados 20 resultados positivos para BVD e 201 amostras suspeitas ou positivas para Paratuberculose. Nenhum resultado positivo para LEB foi detectado, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Resultados obtidos após testes diagnósticos para Leucose Enzoótica Bovina (LEB), Diarreia Viral Bovina (BVD) e Paratuberculose Bovina

	LEB	BVD	Paratuberculose
Negativo	7.389	7.369	7.188
Suspeito/positivo	0	20*	201**
Total	7.389	7.389	7.389
Prevalência	0%	0,27%	2,72%

*Positivo **Positivo ou suspeito

A ausência de animais positivos para LEB pode ser algo esperado ao avaliar gado de corte, já que a enfermidade tem maior prevalência em rebanhos leiteiros (TOSTES, 2005). Isso acontece, entre outros motivos, pelo maior tempo de permanência maior dos lotes na propriedade, aumentando a probabilidade de contato com vírus e, conseqüentemente, a prevalência de LEB aumenta de acordo com a idade dos animais (BATISTA et al., 2018), que é maior em rebanhos leiteiros quando comparados ao gado de corte.

Já as prevalências encontradas para BVD e Paratuberculose indicam que, apesar do manejo preventivo e cuidados aplicados à saúde do gado, ainda assim há presença de BVDV e MAP nos rebanhos. No estudo realizado por AZEVEDO et al. (2017), foram encontrados rebanhos positivos para Paratuberculose, fato relacionado à grande circulação de animais, de diferentes origens, sem conhecimento de seu *status* sanitário, o que reforça a necessidade de cuidados intensos com a chegada de novos animais no rebanho. Além disso, de acordo com BRITO et al. (2014), a Paratuberculose é uma doença de difícil controle, pela dificuldade em identificar sinais clínicos, eliminação do agente por animais assintomáticos e resistência do MAP no ambiente. Não há vacina disponível no Brasil.

A identificação do BVDV em um rebanho é de extrema importância pelos impactos provocados por ele, que vão desde queda na produção e diarreia a má formação embrionária, geração de natimortos e abortos, destacando-se as consequências reprodutivas (GROOMS, 2004). Os resultados encontrados demonstram a presença do vírus, o que deve servir de alerta não apenas pelas consequências supracitadas, mas para a possível presença de animais PI, muitas vezes responsáveis pela manutenção do vírus no rebanho. Estes animais são imunologicamente tolerantes e excretam o vírus sem quaisquer sinais clínicos (FLORES, 2017), gerando a possibilidade do contágio de mais animais, dado que rebanhos de corte são mantidos em grandes lotes e a transmissão pode ocorrer tanto de forma direta quanto indireta (DIAS et al. 2010).

Apesar de parecerem baixas as prevalências de BVD e Paratuberculose, frente ao número de amostras analisadas, é importante considerar que ambas as enfermidades afetam a saúde e, conseqüentemente, a produção bovina (GROOMS, 2004; RAIZMAN et al., 2009). Ademais, além do grande rebanho, o Brasil também é o maior exportador de carne bovina do mundo (ABIEC, 2019), razão pela qual nossas preocupações devem estar além dos prejuízos envolvidos no manejo de doenças nos rebanhos, seus tratamentos e a queda nos índices produtivos, mas também nas barreiras na exportação de gado vivo, por exigências de que os animais exportados sejam, comprovadamente, livres dessas enfermidades (CARRILLO, 2017).

4. CONCLUSÕES

Não foram encontrados animais positivos para Leucose Enzoótica Bovina, o que pode ser em razão das amostras analisadas serem provenientes de rebanhos de corte e essa doença é mais prevalente em gado leiteiro. Isso não exclui a necessidade de atenção e vigilância epidemiológica da enfermidade nos rebanhos bovinos. Os resultados do presente estudo apontam a presença de Diarreia Viral Bovina e Paratuberculose Bovina em amostras de sangue recebidas no LABVIR-UFPEL, o que reforça a necessidade de manutenção dos cuidados sanitários do gado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC: Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. **Exportações**. Brasil. Acessado em 13 set. 2020. Online. Disponível em: <http://abiec.com.br/exportacoes/>
- AZEVEDO, S.S.; VILAR, A.L.T.; SANTOS, C.S.A.B.; et al. Spatial cluster analysis for bovine paratuberculosis in Paraíba State, Northeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.11, p.1193-1197, 2017.
- BATISTA, J.M.; BATISTA, D.M.; COSTA, J.N.; et al. Inquérito soropidemiológico da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos bovinos do estado de Sergipe. **Ciência Animal Brasileira**, v.19, p.1-12, 2018.
- BRITO, M.F.; MOTA, R.A.; YAMASAKI, E.M. **Paratuberculose: perguntas e respostas**. Recife, out. 2014. Acessado em 15 set. 2020. Online. Disponível em: <http://institucional.ufrj.br/sap/files/2014/12/cartilha-PARATUBERCULOSE-Perguntas-e-Respostas-out-2014.pdf>
- CARRILLO, H.A.M. **Levantamento sorológico para brucelose, paratuberculose, diarreia viral bovina e leucose enzootica bovina em bovinos destinados à exportação**. 2017. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária) – Ciência animal, Universidade Federal do Pará.
- DIAS, F.C.; MÉDICI, K.C.; ALEXANDRINO, B.; et al. Ocorrência de animais persistentemente infectados pelo Vírus Da Diarreia Viral Bovina em rebanhos bovinos nos Estados de Minas Gerais e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.11, p.933-939, 2010.
- FISS, L.; SANTOS, B. L.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; et al. Paratuberculose em bovinos de corte na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 437-442, 2015.
- FRIE, M.C.; COUSSENS, P.M. Bovine leukemia virus: A major silent threat to proper immune responses in cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.163, n.3-4, p.103-114, 2015.
- FLORES, E.F. **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 3 ed. Santa Maria: UFSM, 2017.
- GROOMS, D.L. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.20, p.5-19, 2004.
- ICTV: Comitê Internacional de Taxonomia Viral. **Taxonomia**. Acessado em 14 set. 2020. Online. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
- MAPA: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Rebanhos de bovinos e bubalinos devem ser vacinados a partir desta sexta-feira contra febre aftosa. MAPA, nov. 2019. Acessado em 14 set. 2020. Online. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/rebanhos-de-bovinos-e-bubalinos-devem-ser-vacinados-a-partir-desta-sexta-feira-contrafebre-aftosa-1>
- RAIZMAN, E.A.; FETROW, J.P.; WELLS, S.J. Loss of income from cows shedding Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis prior to calving compared with cows not shedding the organism on two Minnesota dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.4929-4936, 2009.
- TOSTES, R.A. Situação da Leucose Bovina no Brasil: uma revisão. **Colloquium Agrariae**, v.1, n.1, p.42-50, 2005.