

## PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-VÍRUS DA LEUCOSE BOVINA EM FÊMEAS DE BOVINOS LEITEIROS DE TOLEDO, PARANÁ, BRASIL

(Prevalence of antibodies against bovine leukemia virus in dairy cattle of Toledo, Paraná, Brazil)

Anderson Demarchi Peron, Cristian André Bertuzzi, Douglas Adriano Webber, Vanessa Tharin Krzyonoski Holsbach, Dauton Luiz Zulpo

Escola de Ciência da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, Toledo, PR, Brasil.

\*Autor para correspondência: dau\_zulpo@yahoo.com.br

Editora: Julia Arantes Galvão

**RESUMO** - A leucose enzoótica bovina é uma infecção viral causada pelo vírus da leucose bovina (BLV), um retrovírus oncogênico. A doença é amplamente disseminada em rebanhos, sendo que os bovinos leiteiros, devido ao manejo intensivo, são os mais afetados. A importância crescente do comércio internacional de bovinos, sêmen e embriões tem exigido a certificação sanitária para o BLV e a gravidade econômica da leucose enzoótica bovina dá se principalmente com a redução na produção de leite. O objetivo do presente estudo foi detectar a soroprevalência de anticorpos em fêmeas de bovinos leiteiros do município de Toledo, Paraná, Brasil. Foram visitadas 58 propriedades rurais e coletado sangue de 390 fêmeas de bovinos leiteiros no município. Para detecção de anticorpos contra o agente viral, foi utilizada a técnica de imunodifusão em gel de Ágar (IDGA). Do total de animais testados, 34,4% (134/390) apresentaram anticorpos contra o vírus da leucose bovina, estes se encontravam distribuídas em 63,85 das (37/58) propriedades. A infecção pelo vírus é considerada disseminada no Brasil e amplamente em bovinos leiteiros do município segundo a pesquisa. Existe assim a necessidade de adequada aplicação de medidas de controle e prevenção para a leucose enzoótica bovina. Exames sorológicos e um constante acompanhamento veterinário, visando o saneamento gradativo dos rebanhos, compõem uma adequada ferramenta ao controle e/ou erradicação da enfermidade.

**Palavras-chave** - bovinocultura leiteira; imunodifusão em gel de ágar; leucose enzoótica bovina.

**ABSTRACT** - The enzootic bovine leukosis is a viral disease caused by the bovine leukemia virus (BLV), an oncogenic retrovirus. The disease is widespread in herds, and dairy cattle, due to the intensive management, are the most affected. The growing importance of the international cattle trade, semen, and embryos has required the sanitary certification for the BLV, and the economic impact of the enzootic bovine leukosis is mainly due to the reduction of the milk production. The aim of this study was

Recebido em 10/12/2020  
Aprovado em 10/12/2021

to determine the prevalence of antibody antiBLV in dairy cattle from Toledo municipality. Fifty-eight rural properties were visited, and blood samples were collected from 390 dairy cattle. The agar gel immunodiffusion (AGID) was used to detect the antibodies against the viral agent. Of the samples analyzed, 34.4% (134/390) showed antibodies against the bovine leukosis. Positive animals were distributed in 63.9% (37/58) of the visited properties. The viral infection is widespread in dairy cattle from Toledo. Therefore, there is a need for adequate control and prevention measures for enzootic bovine leukosis. Serological tests and a constant veterinary follow-up, aiming at the gradual sanitary control of the herds, are a good tool for the control and/or eradication of the disease.

**Keywords** - agar gel immunodiffusion; dairy cattle; enzootic bovine leukosis.

## INTRODUÇÃO

A leucose enzoótica bovina é uma infecção viral amplamente disseminada em rebanhos bovinos do mundo todo, esta infecção é causada por um *Deltaretrovirus*, o vírus da leucose bovina (BLV), pertencente à família *Retroviridae*, que infecta preferencialmente linfócitos B (Blagitz et al., 2017; ICTV, 2021). A infecção viral se manifesta com evolução lenta e frequentemente apresenta-se sob a forma assintomática, esta sendo uma importante fonte de transmissão do agente etiológico dentro da propriedade (Leuzzi Junior et al., 2003).

O BLV está na lista das doenças de notificação obrigatória do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, apresentando importância no comércio de animais entre países (MAPA, 2013). No Brasil, a doença foi descrita pela primeira vez, em 1943, por Rangel e Machado e encontra-se amplamente disseminada por todo o território nacional (Sothy et al., 2002).

O impacto econômico da enfermidade está relacionado com os custos de diagnósticos, perdas nas exportações, morte de bovinos pelo linfossarcoma, descarte precoce e condenação de carcaças em frigoríficos (Leuzzi Junior et al., 2001). Os rebanhos leiteiros são os mais afetados devido ao constante manejo na produção, propiciando a transmissão iatrogênica (transmissão horizontal), como transferência de sangue, agulhas contaminadas, colocação de brinco, descorna, cirurgias e palpação retal (Birgel Junior et al., 2006). A inexistência de sinais clínicos clássicos leva à falta de conhecimento entre técnicos e produtores sobre a real importância da doença como fonte de prejuízos (Rajão et al., 2014).

O diagnóstico é fundamental para conhecer a real ocorrência da enfermidade e posteriormente projetar medidas de controle e/ou erradicação, assim, o objetivo do trabalho foi detectar a soroprevalência de anticorpos em fêmeas de bovinos leiteiros ao BVL no município de Toledo, Oeste do Paraná, Brasil.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais desta instituição com o certificado 809.

A cidade de Toledo (24°43'11.12"S/53°44'35.86"O) está localizada na região Oeste do Paraná, encontra-se a 560 metros de altitude e apresenta área da unidade territorial de 1.196.756 km<sup>2</sup>. O clima é subtropical, com temperatura média anual superior a 16°C, com chuvas distribuídas ao longo do ano, especialmente no verão (IBGE, 2020).

A amostragem foi obtida através do programa OpenEpi. 3.01, onde foi utilizado uma prevalência de 50%, erro esperado de 5% e intervalo de confiança de 95%, tendo como resultado uma amostragem mínima de 376 animais. O número de propriedades foi obtido junto a Emater do município, sendo que Toledo possui 1630 fazendas leiteiras, perfazendo um total de 19415 cabeças, em seguida as propriedades foram sorteadas. Em cada propriedade foi estipulado a coleta de sangue de 10 animais aleatoriamente, exceto quando o rebanho apresentava número menor que este, neste caso procedeu a coleta de sangue de cinco animais também de forma aleatória.

Durante o período de 2013 a 2016 foram visitadas 58 propriedades e coletadas 390 amostras de sangue de fêmeas de bovinos leiteiros acima de dois anos (idade produtiva dos animais). Por meio da assinatura de termo de consentimento do uso animal, todos os proprietários anuíram com a realização da pesquisa.

Do sangue total, colhido através de venopunção coccígea, mamária ou jugular, após procedimento de centrifugação no Laboratório de Microbiologia e Imunologia Veterinária, obteve-se amostra de soro de todos os animais. O soro, mantido em microtubo, permaneceu armazenado e congelado (18°C negativos) até a realização da prova sorológica.

Para a detecção de anticorpos anti-BLV foi realizada a técnica de imunodifusão em gel de Ágar (TECPAR®) conforme recomendado por Pinheiro Júnior et al. (2013) e seguindo instruções do fabricante. Para a realização da técnica, foram confeccionadas lâminas com Agar Noble (MERK®) 0,9% em solução tampão com pH 7,3 e solução de cloreto de sódio a 8,5%. Após a solidificação, o gel foi perfurado com roseta metálica, obtendo-se 3 conjuntos hexagonais de orifícios de 4,0 mm por placa, cada conjunto tem 7 orifícios. Foi realizada a distribuição de 25 µL de soro/antígeno, sendo as placas

mantidas em atmosfera seca. Em seguida as lâminas foram incubadas em temperatura de 25°C por 72 horas em atmosfera úmida. A leitura foi realizada em ambiente escuro com um foco de luz forte, em feixe estreito, a fim de verificar o aparecimento da linha de precipitação de complexo "antígeno-anticorpo". A leitura foi realizada em 24, 48 e 72 horas de incubação.

## RESULTADOS e DISCUSSÃO

Das 390 amostras de soro das fêmeas bovinas leiteiras analisadas, 134 (34,4%) apresentaram anticorpos contra o BVL. Das 58 propriedades, onde procedeu a coleta de amostras, 37 (63,8%) foram positivas ao agente pesquisado.

De acordo com Shettigara et al. (1986), que classifica a prevalência da Leucose Enzoótica Bovina, o município de Toledo é considerado com nível alto de infecção, pois as fêmeas bovinas leiteiras apresentaram uma soropositividade superior a 30%.

Toledo possui um plantel de aproximadamente 19.415 animais lactentes, distribuídas em 1.630 propriedades e uma produção anual de 100.667.000 litros ano, sendo o terceiro maior produtor de leite do Paraná (IBGE, 2016). Extrapolando a porcentagem da soroprevalência encontrada nos animais testados para todo o plantel do município, o mesmo, teria 6.670 fêmeas infectadas. Este dado ressalta a importância da enfermidade na cidade e a partir destes dados, medidas de prevenção podem ser adotadas para minimizar a disseminação do vírus entre os bovinos leiteiros.

Embora 73 anos após a descoberta da doença no Brasil, pouco se sabe sobre os reais impactos econômicos desta infecção em bovinos em nosso país, pois poucos estudos focam nesse quesito, podemos citar alguns estudos de Da et al. (1993); D'Angelino et al. (1998) e Rajão et al. (2014), onde demonstram que animais soropositivos podem inibir a produção leiteira de 9 a 11%, dados que destacam a importância do diagnóstico e o controle da infecção viral.

Devido as perdas econômicas geradas pela infecção da leucose enzoótica bovina, diversos autores vêm pesquisando a prevalência da enfermidade. No estado do Paraná foram relatadas prevalências de 40,7% em bovinos da região Norte por Leuzzi Junior et al. (2003), porcentagem de 66,6% foi relatado por Meirelles et al. (2009) na região de Curitiba e prevalência 56,3% foi reportada na região metropolitana da capital do estado por Barros Filho et al. (2009). Autores supracitados mostraram índices elevados e foram discrepantes do observado no presente estudo, isso revela a diversidade do nível de infecção em nosso estado. No entanto, Rocha et al. (2014) descreveram um nível de infecção de 16,6% na região Sudoeste do estado, este índice abaixo do respectivo

trabalho e dos demais trabalhos no Paraná, pode estar atribuído a ações de prevenção e controle, e a identificação de animais positivos (Santos et al. 2011).

Em outros estudos realizados no Brasil, dados revelam discrepância quanto ao nível de animais reagentes, revelando assim, que medidas de controle e/ou erradicação devem ter tomados por autoridades, técnicos e proprietários. De acordo com Pinheiro Junior et al. (2013) a prevalência de anticorpos contra o vírus da leucose em bovinos leiteiros de Alagoas foi de 27,8%. Também no Sertão desse estado, foi averiguado prevalência de 11,8% nos bovinos estudados (Silva et al., 2019). Além disso, Rajão et al. (2014) estudando uma população de bovinos leiteiros puros e mestiços em Minas Gerais, encontram uma prevalência de anticorpos de 80%. Ainda, Batista et al. (2018) detectaram 11,9% de bovinos reagentes em Sergipe e 59,6% foi a positividade detectado para as propriedades.

Rodakiewicz et al. (2018), estudando a doença em Santa Catarina, apontaram 42% de animais reagentes a sorologia e 68% de propriedades estudadas foram positivas ao agente viral. No mesmo trabalho utilizando a técnica de PCR os autores detectaram 80,5% de animais positivos e analisando o polimorfismo dos fragmentos de restrição identificaram cinco genótipos circulantes no estado. A PCR nos dá uma informação mais fidedigna da presença viral no organismo dos animais, diferente do teste sorológico que nos revela a produção de anticorpos pelo contato do animal ao vírus, sendo que alguns animais podem não produzir anticorpos ou a amostra apresentar um nível de anticorpos não detectável no exame sorológico.

## **CONCLUSÃO**

Através da sorologia realizada concluímos que as fêmeas de bovinos leiteiros estudadas no município de Toledo, Paraná, Brasil, apresentam alta infecção pelo BVL. Nesse sentido, deve-se incluir a infecção viral como diagnóstico diferencial para enfermidades que acarretam queda de produção de bovinos dessa região. Devido as perdas na produção gerada pela enfermidade e o difícil aparecimento dos sinais clínicos, foi de fundamental importância à obtenção do estado sanitário do rebanho, sendo assim medidas de controle e profilaxia para essa enfermidade podem ser adotadas por autoridades, técnicos e proprietários.

## **REFERÊNCIAS**

---

BARROS FILHO, I.R.; GUIMARÃES, A.K.; BIONDO, A.W. et al. Prevalência da Leucose Enzoótica em bovinos leiteiros criados na região metropolitana de Curitiba-Paraná. **Ciência Animal Brasileira**, s. 1, p. 513-518, 2009.

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, n.1, p. 1-12, 2018.

BIRGEL JUNIOR, E.H.; DIAS, W.M.C.; SOUZA, R.M. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Simental, criados no Estado de São Paulo. **ARS Veterinária**, v.22, n.2, p.122-129, 2006.

BLAGITZ, M.G.; SOUZA, F.N.; BATISTA, C.F. et al. Immunological implications of bovine leukemia virus infection. **Research in Veterinary Science**, v.114, n.1, p. 109-116, 2017.

D'ANGELINO, J.L.; GARCIA, M.; BIRGEL, E.H. Productive and reproductive performance in cattle infected with bovine leukosis virus. **Journal of Dairy Research**, v.65, n.4, p. 693-695, 1998.

DA, Y.; SHANKS, R.D.; STEWART, J.A. et al. Milk and fat yields decline in bovine leukemia virus-infected Holstein cattle with persistent lymphocytosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, n. 14, p. 6538-6541, 1993.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2016). Estatística da produção pecuária. Recuperado de <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp>

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020). **Cidades e Estados**. Recuperado de <http://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pr/toledo.html>

International Committee on Taxonomy of Viruses (2021). **Viral Taxonomy**. Recuperado de <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

LEUZZI JÚNIOR, L.A.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Leucose enzoótica bovina e vírus da leucemia bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, v.22, n.2, p.211-221, 2001.

LEUZZI JÚNIOR, L.A.; GUIMARÃES JÚNIOR, J.G.; FREIRE, R.L. et al. Influência da idade e tamanho do rebanho na soroprevalência da leucose enzoótica bovina em rebanhos produtores de leite tipo B, na região norte do estado do Paraná. **Brazilian Journal of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 93-98, 2003.

MEIRELLES, C. DITTRICH, T. CIPRIANO, F. et al. Evolução da soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em um rebanho bovino leiteiro universitário **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 671-678, 2009.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2013). Diário Oficial da União. Recuperado de [https://www.in.gov.br/materia/-](https://www.in.gov.br/materia/)

---

/asset\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/31061237/do1-2013-09-25-instrucao-normativa-n-50-de-24-de-setembro-de-2013-31061233

PINHEIRO JUNIOR, J.W.; SOUZA, M.E.; PORTO, W.J.N. et al. Epidemiologia da infecção pelo vírus da Leucose Enzoótica Bovina (LEB). **Ciência Animal Brasileira**, v.14, n.2, p.258-264, 2013.

RAJÃO, D.S.; HEINEMANN, M.B.; REIS, J.K.P. et al. Effects of bovine leukemia virus infection on crossbred and purebred dairy cattle productive performance in Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 891-900, 2014.

RANGEL, N.M.; MACHADO, A.V. Contribuição à oncologia comparada em Minas Gerais. **Arquivo da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais**, v. 1, n.1, p. 83-96, 1943.

ROCHA, J.F.X.; AIRES, A.R.; ROCHA, R.X. et al. Soroprevalência do vírus da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos da região Sudoeste do Estado do Paraná, Brasil. **Revista Agrocientífica**, v. 1, n. 1, p. 17-22, 2014.

RODAKIEWICZ S.M.; FERNANDEZ M.L.; MUNHOZ M. L. et al. Heterogeneity determination of *bovine leukemia virus* genome in Santa Catarina state, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.85, n.1, p.1-7, 2018.

SANTOS, H.P. PEREIRA, H.M. NASCIMENTO, S.A. et al. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos da bacia leiteira do Estado do Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 3, p. 351-358, 2011.

SHETTIGARA, P.T.; SAMAGH, B.S.; LOBINOWICH, E.M. Eradication of bovine leukemia virus infection in commercial dairy herds using the agar gel immunodiffusion test. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 2, p. 221-226, 1986.

SILVA JUNIOR, F. F.D.; TELES, J.A.A.; FELICIANO, F.D.O. et al. Soroprevalence pour la leucose enzotique bovine dans le cheptel laitier de 'Sertão' de l'Etat d'Alagoas, Nord-est du Brésil. **Environmental Smoke**, v. 2, n. 1, p. 67-77, 2019.

SOTHY, M.; RUAS, J. FARIAS, N.A. et al. Seroprevalence and molecular evidence for the presence of bovine immunodeficiency virus in Brazilian cattle. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 50, n.1, p. 9-16, 2002.