

PREVALÊNCIA DE LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA, DIARRÉIA VIRAL BOVINA, RINOTRAQUEÍTE INFECCIOSA BOVINA E NEOSPOROSE BOVINA EM 26 PROPRIEDADES LEITEIRAS DA REGIÃO NORDESTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

RAFAEL FRANDOLOSO,¹ DENIZ ANZILIERO,¹ JULIO SPAGNOLO,¹ NAMUR KUSE,¹ CLEBER FIORI,¹ GABRIELA TRENTIN SCORTEGAGNA,² LEONARDO JOSÉ GIL BARCELLOS³ E LUIZ CARLOS KREUTZ⁴

1. Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo

2. Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, Universidade de Passo Fundo

3. Médico veterinário, doutor, professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo

4. Médico veterinário, MSc, PhD, Laboratório de Virologia e Imunologia, Hospital Veterinário, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV), Universidade de Passo Fundo (UPF) – E-mail: lckreutz@upf.tche.br (autor correspondente)

RESUMO

Diversas doenças infectocontagiosas são importantes causas de prejuízos na produção leiteira. No entanto, poucos estudos são realizados com o objetivo de determinar a real prevalência e incidência dos agentes infecciosos nos rebanhos leiteiros no Brasil. Para determinar a prevalência das infecções pelo herpesvírus bovino (BoHV), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus da leucose enzoótica bovina (BLV) e *Neospora caninum* (NC), amostras de sangue foram coletadas de duzentos bovinos, pertencentes a 26 propriedades leiteiras, de quatro municípios da região Nordeste do Estado do Rio Grande do Sul, e testadas para a presença de anticorpos específicos. Estimou-se o número

de amostras coletadas em cada propriedade considerando-se uma prevalência mínima de 30% para cada infecção, e com um intervalo de confiança de 95%. Detectaram-se anticorpos contra o BoHV e BVDV em bovinos de quinze (57,7%) propriedades e bovinos positivos para o BLV e NC em dezesseis (61,5%) e 24 (92,3%) propriedades, respectivamente. Todos os animais do estudo foram negativos para brucelose e tuberculose. Os dados obtidos indicam que se trata de microorganismos amplamente difundidos nas populações de bovinos de leite e poderiam contribuir para a redução na produção e redução dos índices reprodutivos.

PALAVRAS-CHAVES: Bovinos, diarreia viral bovina, leucose, Neosporose, rinotraqueíte infecciosa bovina.

ABSTRACT

PREVALENCE OF ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS, BOVINE VIRAL DIARRHEA, INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS AND BOVINE NEOSPOROSIS IN 26 DAIRY CATTLE FARMS FROM THE NORTHEAST REGION OF RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

Infectious diseases might be considered as major cause of reproductive losses in dairy cattle. However, few studies have been carried out aiming to estimate the incidence and prevalence of infectious agents on dairy farms in Brazil. Thus, to determine the prevalence of Bovine Herpesvirus (BoHV), Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV),

Bovine Leukemia Virus (BLV) and *Neospora caninum* (NC) infection, 200 blood samples were collected from dairy cattle from 26 farms, in four counties located in the Northeast region of Rio Grande do Sul State, and tested for the presence of specific antibodies. The number of samples collected in each farm was estimated considering a prevalence of

at least 30% for each infection, and with a confidence of 95%. Antibodies to BoHV and BVDV were detected in cattle from 15 (57.7%) farms; cattle with antibodies to BLV and NC were detected in 16 (61.5%) and 24 (92.3%) dairy farms, respectively. All animals in this study were previously

tested for Brucellosis and Tuberculosis and were negative. The results obtained indicate that these microorganisms are ubiquitous among dairy cattle and might contribute to reduce productivity and reproductive parameters.

KEY WORDS: Bovine, bovine viral diarrhea, infectious bovine rhinotracheitis, leucosis, neosporosis.

INTRODUÇÃO

A bovinocultura leiteira é uma das mais importantes atividades pecuárias da região Nordeste do Rio Grande do Sul. Entre as principais causas de perdas na produtividade de bovinos leiteiros encontram-se as infecções pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV), herpesvírus bovino (BoHV), infecção pelo *Neospora caninum* (NC), *Brucella abortus*, *Leptospira spp* e *Listeria monocytogenes*. Além disso, outras infecções, como a causada pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV) e *Mycobacterium tuberculosis*, também podem reduzir a produtividade. Atualmente, somente a brucelose e tuberculose bovina são de controle obrigatório, principalmente por afetarem diversas espécies animais e se constituírem em importantes zoonoses. Ainda, a maioria dos produtores utiliza vacinação somente contra brucelose, mas não implementa nenhum outro tipo de controle para as demais doenças, mesmo quando da introdução de novos animais na propriedade.

Em bovinos leiteiros, as doenças da reprodução podem causar infertilidade, morte embrionária manifestada pelo retorno ao cio em intervalos irregulares, morte fetal e mumificação, abortos, anomalias fetais, natimortos, morte neonatal, e, no caso específico do BVDV e NC, o nascimento de animais persistentemente infectados (PI) perpetua os microorganismos na população bovina (ROEHE & WEIBLEIN, 2000; DUBEY, 2003). O diagnóstico das causas das falhas reprodutivas é laborioso e exige uma avaliação criteriosa de todos os fatores que afetam a reprodução, incluindo as doenças infectocontagiosas, a presença de plantas tóxicas, aflatoxinas, carências nutricionais e fatores de ambiência.

A prevalência de doenças infectocontagiosas e sua contribuição para a ocorrência de falhas re-

produtivas e redução dos parâmetros de produção têm sido pouco estudadas. Poucos estudos são desenvolvidos com o objetivo específico de determinar a prevalência de enfermidades em rebanhos, utilizando critérios previamente estabelecidos e dentro de padrões epidemiologicamente aceitáveis. Dessa forma, a real prevalência e o impacto de diversas doenças podem ser erroneamente estimados, pois eventualmente se utilizam amostras coletadas com outra finalidade ou enviadas para diagnóstico de problemas específicos. Nesse sentido, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a ocorrência de rebanhos leiteiros soropositivos ao BLV, BVDV, BoHV e NC em quatro municípios da região Nordeste do RS.

MATERIAL E MÉTODOS

Propriedades leiteiras e coleta de sangue

Para a realização deste estudo foram selecionadas aleatoriamente 26 propriedades leiteiras de quatro municípios da região nordeste do Rio Grande do Sul (Cotiporã, Fagundes Varela, Veranópolis e Vila Flores) sem histórico de vacinação para nenhuma das doenças mencionadas. Todos os animais incluídos no estudo apresentaram-se negativos aos exames prévios para diagnóstico da brucelose e tuberculose. Estimou-se o número de amostras de sangue coletado de cada propriedade utilizando-se o programa Win Episcopo 2.0 (BLAS et al., 2004) preconizando-se uma prevalência de pelo menos 30% para cada enfermidade, e com 95% de probabilidade de detectar pelo menos um animal positivo. O número total de bovinos, nas 26 propriedades, foi de 765 (média de $29,4 \pm 2,41$ /propriedade) e o número de total de amostras, de 200 (média de $7,7 \pm 0,2$ /propriedade). Coletou-se o sangue da veia coccígea utilizando-se um

sistema de tubos contendo vácuo. Após a retração do coágulo, centrifugou-se o sangue (300 x g/ 10 minutos, sendo o soro estocado a -20°C), até a realização dos testes sorológicos.

Detecção de anticorpos

A detecção de anticorpos contra o BLV foi feita pelo teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA: MILLER et al., 1981) utilizando-se antígeno disponível comercialmente (Tecpar, Curitiba, PR); anticorpos contra o BoHV e BVDV (cedidos pelo Dr. E.F. Flores, UFSM) foram detectados pela técnica de soro-vírus neutralização (SVN) utilizando-se protocolos padrões (BOTTON et al., 1988), em células MDBK (*Madin Darby Bovine Kidney*). Para detecção de anticorpos contra o NC, utilizou-se o teste de ELISA indireto (IDEXX, Abase, São Paulo, SP), de acordo com as recomendações do fabricante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As propriedades leiteiras analisadas no presente estudo representam o protótipo da propriedade leiteira existente atualmente no RS: possuem bovinos leiteiros da raça Holandesa, realizam duas ordenhas/dia, os bovinos são alimentados em pastagens e suplementados com minerais, silagem e ração, utilizam inseminação artificial e, como controle sanitário, vacinam as fêmeas para brucelose bovina e testam periodicamente para tuberculose, de acordo com a legislação vigente. A introdução de novos animais na propriedade é feita, geralmente, sem levar em conta aspectos sanitários, exceto para brucelose e tuberculose. Conseqüentemente, é grande a possibilidade de introduzir animais infectados com o BLV, BoHV, BVDV e mesmo animais positivos para NC.

Anticorpos para cada um dos antígenos investigados no presente estudo foram detectados em mais de 50% das propriedades analisadas. Mediante a utilização dos dados estabelecidos para este estudo (amostragem e prevalência), calculou-se a possível prevalência das enfermidades em cada propriedade, mesmo para aquelas em que a

amostragem resultou negativa (Tabela 1). Cinco propriedades (19,2 %) possuíam animais soropositivos para somente um antígeno, seis propriedades (23,1 %) possuíam animais soropositivos para pelo menos dois antígenos, sete propriedades (26,9 %) possuíam animais soropositivos para três antígenos e oito propriedades (30,8 %) possuíam animais soropositivos para todas as enfermidades estudadas. Além disso, em todas as 26 propriedades (100%) havia pelo menos um bovino soropositivo para pelo menos um microorganismo. Esses dados indicam claramente a ampla disseminação desses microorganismos nas propriedades leiteiras da região e, possivelmente, em outras regiões que exploram a atividade leiteira utilizando procedimentos de manejo sanitário similar aos utilizados na região estudada.

Os índices de propriedades com animais positivos no presente estudo e a prevalência de cada enfermidade são similares aos resultados observados anteriormente para BLV, BVDV e BoHV na região do Planalto Médio Gaúcho (POLETTI et al., 2004), onde a atividade leiteira é desenvolvida de forma similar. Os estudos sobre a prevalência de bovinos soropositivos ao NC apresentam resultados variáveis (COSTA et al., 2001; RAGOZO et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2004; VOGEL et al., 2006), porém a prevalência de rebanhos de bovinos leiteiros positivos ao NC no presente estudo (92,3%) é similar à prevalência observada anteriormente em outra região do RS (CORBELINI et al., 2006). Estudos soroepidemiológicos sobre a prevalência de doenças infectocontagiosas em rebanhos apresentam dados divergentes; além disso, muitas vezes, a prevalência de doenças é expressa em percentuais da população estudada sem levar em consideração o número de propriedades analisadas e o respectivo número de animais da propriedade, além do número de amostras coletadas visando detectar animais positivos dentro de uma sistemática previamente estabelecida. Dessa forma, os resultados obtidos devem ser criteriosamente interpretados considerando-se essas variáveis, pois eventualmente não fornecem claramente a distribuição geográfica das enfermidades em cada município ou microrregião.

TABELA 1. Prevalência de anticorpos contra o vírus da leucose enzoótica bovina (BLV), vírus da diarreia viral bovina (BVDV), herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e *Neopora Caninum* (NC) em bovinos leiteiros de 26 propriedades, distribuídas em quatro municípios da região Nordeste do Estado do Rio Grande do Sul

Propriedade	Nº total de bovinos na propriedade	Nº de amostras coletadas ^a	Presença de animais negativos (-) ^b e/ou positivos (+) ^c			
			BLV	BVDV	BoHV-1	NC
1	25	7	-	++	++	+
2	26	9	+++	-	+++	+
3	24	8	+++	+++	+++	-
4	34	8	+	+++	++	+++
5	31	8	+	++	+++	+++
6	27	7	+++	++	+++	++
7	53	9	++	+++	++	+
8	19	8	+	-	-	+
9	21	7	-	-	-	++
10	31	7	-	++	-	-
11	13	8	-	-	+++	+
12	70	8	+++	++	++	+++
13	26	8	+++	++	-	+++
14	42	8	+++	+++	+++	+
15	23	8	+++	-	-	++
16	35	8	-	-	-	+++
17	20	8	-	-	-	+++
18	30	7	+++	+	+	++
19	24	7	+++	-	-	+++
20	31	8	-	-	-	+++
21	44	9	-	+++	+++	+++
22	26	9	-	+++	+++	++
23	12	4	+	+	+	+
24	21	7	+	-	-	+++
25	22	7	+	-	-	+
26	35	8	-	+++	+++	+
Total	765	200	P (61,5) N (38,5)	P (57,7) N (42,3)	P (57,7) N (42,3)	P (92,3) N (7,7)

^a = número de amostras coletadas por propriedade determinado estimando-se uma prevalência mínima de 30% para cada doença e com uma confiabilidade de 95% de detectar pelo menos um animal positivo.

^b = todas as amostras coletadas resultaram negativas ao teste. Porém, visto que o número de amostras coletadas foi estimado para detectar prevalência mínima de pelo menos 30%, e considerando-se o erro-padrão da amostragem, existe a possibilidade de haver animais positivos na propriedade; e, nesses casos, a probabilidade variou de 26,9% a 33,3%, dependendo do número de animais da propriedade e do número de amostras coletadas.

^c = presença de animais positivos na propriedade. Para determinar o número de amostras positivas entre as amostras coletadas usou-se a seguinte convenção: +, uma amostra positiva; ++, duas amostras positivas; +++, três ou mais amostras positivas. Levando-se em consideração o erro-padrão da amostragem, em todas as propriedades com animais positivos a prevalência máxima estimada do rebanho foi 66,7%, para qualquer uma das enfermidades.

Os motivos da alta prevalência e distribuição das enfermidades estudadas na região são diversos. No entanto, todas as enfermidades possuem em comum o fato de serem causadas por microorganismos que têm a capacidade de se estabelecer de forma definitiva nos bovinos, seja pela infecção

persistente (BVDV, BLV e NC), seja pela infecção latente (BoHV). Dessa forma, para qualquer uma das enfermidades, a introdução de apenas um animal na propriedade contendo o microorganismo seria suficiente para a posterior disseminação e perpetuação da infecção nos bovinos. Não obs-

tante, a intrigante alta prevalência da NC pode ser também atribuída à eficiência da transmissão transplacentária e também à presença de cães, comum em pequenas propriedades leiteiras, os quais são considerados hospedeiros definitivos do NC (MCALLISTER et al., 1998) e contribuem para a perpetuação e disseminação geográfica desse protozoário, uma vez que a maioria dos cães movimentam-se livremente na propriedade e entre propriedades e são fatores associados à infecção de bovinos (GUIMARÃES et al., 2004; CORBELLINI et al., 2006). Além disso, o descaso com os aspectos sanitários dos bovinos (exceto para brucelose e tuberculose), o desconhecimento da patogenia da infecção (infecções definitivas) e sua ocorrência na própria região, associado às dificuldades e custos de diagnóstico, inibem as iniciativas de se implementar programas de controle anteriormente à introdução de animais na propriedade, ou na investigação das causas infecciosas relacionadas aos problemas reprodutivos.

CONCLUSÃO

Em resumo, analisando-se os resultados do presente estudo é possível afirmar que BLV, BVDV, BoHV e NC encontram-se presentes em mais de 50% das propriedades leiteiras investigadas, com índices de prevalência de até 60% nos rebanhos estudados. A presença desses microorganismos na população estudada pode se constituir em um importante fator na redução dos índices de produtividade leiteira nessa região.

REFERÊNCIAS

- BLAS, I.; ORTEGA, C.; FRANKENA, K.; NOORDHUIZEN, J.; THRUSFIELD, M. WIN Episcope 2.0, EPIDICON, Borland® y Delphi®. Disponível em: <<http://www.clive.ed.ac.ed/winepiscope/>>. Acesso em: jun. 2004.
- BOTTON, S.A. DA SILVA, A.M.; BRUM, M.C.S.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F. Antigenic characterization of brazilian bovine viral diarrhea virus isolates by monoclonal antibodies and cross-neutralization. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n. 31, p.1439-1438, 1998.
- CORBELLINI, L.G.; SMITH, D.R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D. J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.74, n. 2-3, p.130-141, 2006.
- COSTA, G.H.N.; CABRAL, D.D.; VARANDAS, N.P.; SOBRAL, E.A.; BORGES, F.A.; CASTAGNOLLI K.C. Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Semina**, v. 22, p. 57-62, 2001.
- DUBEY J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean Journal of Parasitology**, v. 4, n.1, p.1-16, 2003.
- GUIMARÃES JR., J.S.; SOUZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P.; GENNARI S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 1-8, 2004.
- MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.
- MILLER, J.M.; SCHMERR, M.J.; VAN DER MAATEN, M.J. Comparison of four test for the detection of antibodies to bovine leukemia virus. **American Journal of Veterinary Research**, n. 42, p. 5-8, 1981.
- POLETTI, R.; KREUTZ, L.C.; GONZALES, J.C.; BARCELLOS, L.J.G. Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 595-598, 2004.
- RAGOZO, A.M.A.; PAULA, V.S.O.; SOUZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P.; GENNARI, S.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003.
- ROEHE P. M.; WEIBLEN, R. IBR e BVDV: perguntas e respostas. **A Hora Veterinária**, ano 20, n. 116, p. 69-72, 2000.
- VOGEL, F.S.F.; ARENHART, S.; BAUERMANN, F.V. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1948-1951, 2006.

Protocolado em: 26 jul. 2007. Aceito em: 15 ago. 2008.