

UNIVERSIDADE DE UBERABA
DEISE MARIA RITO MACÊDO

INQUÉRITO SOROLÓGICO E EPIDEMIOLÓGICO DA LEUCOSE ENZOÓTICA
BOVINA EM MICRORREGIÕES DO TRIÂNGULO MINEIRO–MG, BRASIL

UBERABA, MG

2013

DEISE MARIA RITO MACÊDO

INQUÉRITO SOROLÓGICO E EPIDEMIOLÓGICO DA LEUCOSE ENZOÓTICA
BOVINA EM MICRORREGIÕES DO TRIÂNGULO MINEIRO–MG, BRASIL

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade de Uberaba.

Orientadora: Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar.

UBERABA, MG

2013

Ata da Sessão Pública de defesa de dissertação para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, a que se submeteu o aluno Deise Maria Rito Macêdo – matrícula 6102306/1, orientado pelo Prof^o. Dr^a. Joely Ferreira Figueiredo Bittar.

Aos vinte e oito dias do mês de junho do ano de dois mil e treze, às 14 horas, no Anfiteatro da Biblioteca da Universidade de Uberaba, reuniu-se a Comissão Julgadora da defesa em epígrafe indicada pelo o Colegiado do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da Universidade de Uberaba, composta pelos Professores Doutores: Eustáquio Resende Bittar - **Presidente**, Joely Ferreira Figueiredo Bittar e Alessandra Aparecida Medeiros, para julgar o trabalho da candidata Deise Maria Rito Macêdo, apresentado sob o título: **“Inquérito Sorológico e Epidemiológico da Leucose Enzoótica Bovina em Microrregiões do Triângulo Mineiro-MG, Brasil”**. O Presidente declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros da Comissão Julgadora. A seguir o candidato dissertou sobre o seu trabalho e foi argüido pela Comissão Julgadora, tendo a todos respondidos às respectivas argüições. Terminada a exposição, a Comissão reuniu-se e deliberou pelo seguinte resultado:

APROVADO

REPROVADO (anexar parecer circunstanciado elaborado pela Comissão Julgadora)

Para fazer jus ao título de MESTRE EM SANIDADE E PRODUÇÃO ANIMAL NOS TRÓPICOS, a versão final da tese, considerada aprovada devidamente conferida pela Secretaria do Mestrado em Sanidade e produção Animal nos Trópicos, deverá ser entregue à Secretaria dentro do prazo de 30 dias, a partir da data da defesa. O aluno Aprovado que não atender a esse prazo será considerado Reprovado. Após a entrega do exemplar definitivo, o resultado será homologado pela Universidade de Uberaba, conferindo título de validade nacional aos aprovados. Nada mais havendo a tratar, O Senhor Presidente declara a sessão encerrada, cujos trabalhos são objeto desta ata, lavrada por mim, que segue assinada pelos Senhores Membros da Comissão Julgadora, pelo Coordenador do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da UNIUBE, com ciência do aluno. Uberaba, ao vigésimo primeiro dia do mês de junho de dois mil e treze.

Profa. Dra. Joely Ferreira Figueiredo Bittar _____

Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar _____

Profa. Dra. Alessandra Aparecida Medeiros _____

Prof. Dr. André Belico de Vasconcelos _____
Subcoordenador do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da UNIUBE

Flávia Michele da Silva _____
Secretária do Programa de Mestrado em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos da UNIUBE

Ciência do Aluno: Cláudio

AUTENTICAÇÃO	
UNIVERSIDADE DE UBERABA	Esta fotocópia confere com o original apresentado.
	Uberaba (MG) 17 / 07 / 13
	 Secretária dos Programas Stricto-Sensu Poliana Odineias da S. Alves Matrícula 12239

*Dedico este trabalho a minha mãe Ruth pelo
amor, incentivo e apoio ao meu aprimoramento
profissional.*

AGRADECIMENTO

À professora Joely Ferreira Figueiredo Bittar pela oportunidade de crescimento, aprendizado, realização profissional e pessoal, pela confiança em mim depositada e pelo acolhimento do meu trabalho ao longo deste período.

Às veterinárias do laboratório do Hospital Veterinário de Uberaba (HVU), pela colaboração para a conclusão deste trabalho.

Aos meus irmãos Cláudia e Éber pelo apoio e carinho, e Fabiano pelo incentivo e exemplo de dedicação profissional.

Aos meus pais Éllis (in memoriam) e Ruth pela educação, exemplo e dedicação, os quais fortaleceram minha formação moral e profissional.

Ao meu marido Carlos Brasil pelo apoio e amor dedicado, que me incentivaram para que eu concluísse este trabalho.

À minha terapeuta Lilian que me incentivou e me fez acreditar em minha capacidade profissional e pessoal.

As minhas amigas Adriana e Luciana pela ajuda e paciência ao longo deste processo.

RESUMO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma infecção viral que acomete bovinos e pode manifestar-se na forma de linfocitose persistente ou pela presença de linfossarcomas. Está mundialmente distribuída e causa perdas econômicas, principalmente na pecuária leiteira. Segundo a Organização Mundial de Saúde Animal, a LEB é uma doença de notificação obrigatória, porém nem todos os países possuem programas para o controle e a erradicação dessa enfermidade. Este trabalho objetivou avaliar a prevalência da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos bovinos de três microrregiões do Triângulo Mineiro (Araxá, Frutal e Uberaba) e correlacionar com os achados epidemiológicos como: tipo de atividade, manejo sanitário e reprodutivo e o grau de tecnificação das propriedades. Para a avaliação soropidemiológica, foram colhidas 853 amostras de soro de bovinos fêmeas, mestiças, com idade superior a 24 meses para a caracterização da prevalência de anticorpos séricos antivírus da Leucose dos Bovinos por meio da prova de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA). Também foi aplicado um questionário objetivando conhecer algumas características das propriedades estudadas. Após a determinação do número de animais positivos e negativos, foi realizada a análise estatística pelo método Qui-quadrado com nível de significância de 5%. Das 853 amostras analisadas, 19,1% apresentaram anticorpos antivírus da LEB e em 79,5% das propriedades pelo menos uma amostra foi positiva. A soroprevalência da LEB nas microrregiões de Araxá, Frutal e Uberaba foi respectivamente de 19,5%, 10,5% e 25,0%. A soroprevalência da LEB nas microrregiões do Triângulo Mineiro foi estatisticamente superior nas fêmeas lactantes e nas propriedades com sistema de manejo intensivo e semi-intensivo, manejo reprodutivo com prática de inseminação artificial e com uso de ordenha mecânica. Nesse contexto, pode-se concluir que a falta de conhecimento da doença pelos produtores, a falta de manejo sanitário das propriedades e a ausência de controle sanitário no trânsito de animais contribuem para a disseminação da LEB.

Palavras-chaves: Leucose Enzoótica Bovina, Prevalência, Epidemiologia.

ABSTRACT

The Enzootic Bovine Leucosis (EBL) is a viral infection that affects bovines, and it can occur in the form of persistent lymphocytosis, or by the presence of lymph sarcomas. It is spread worldwide, and it causes economic losses, mainly in dairy farming. It is a compulsory notifiable disease; however, not all countries have control and eradication programs for this illness. This paper aimed to assess the prevalence of the Enzootic Bovine Leucosis in cattle herds of the three micro regions of Triângulo Mineiro (Araxá, Frutal and Uberaba), and correlate it with the epidemiologic findings such as type of activity, health and reproductive management, and the degree of technification of the properties. For Sero-surveillance, a questionnaire was applied in order to know some of the characteristics of the properties studied, and 853 serum samples of female, crossbred bovines, aged over 24 months were collected, for the characterization of serum antibodies anti-virus of Enzootic Bovine Leucosis prevalence by means of Agar Gel Immunodiffusion test (IDAG). After determining the number of positive and negative animals a Qui-square statistics analysis test was performed with a 5% significance level. Of the 583 analyzed samples, 19.1% showed EBL antibodies anti-virus, and in 79.5% of the properties, at least one sample was positive. The EBL seroprevalence in the micro regions of Araxá, Frutal and Uberaba was of 19.5%, 10.5%, and 25.0% respectively. The EBL seroprevalence in the micro regions of Triângulo Mineiro was statistically higher in the lactating females on the dairy farm properties, and in the reproductive handling due to poor health management. Consequently, it leads to the conclusion that the lack of knowledge about the disease by livestock breeders, the poor health management of the properties, and the lack of health control in dealing with the movement of animals contribute for the dissemination of EBL.

Key-words: Enzootic Bovine Leucosis, Prevalence, Epidemiology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Representação esquemática da partícula do vírus da LEB onde, SU (proteína de superfície), TM (proteína de transmembrana), MA (matriz proteica), CA (proteína formadora do capsídeo), RT (transcriptase reversa), IN (integrase).....	15
Figura 2	Situação Mundial da Leucose Enzoótica Bovina no ano de 2012.....	17
Figura 3	Perfil sorológico para LEB estudadas por amostras (A, C e E) e por propriedade (B, D e F) da microrregião de Araxá, Frutal e Uberaba, respectivamente.	32
Figura 4	Perfil sorológico para LEB das microrregiões estudadas por amostras (A) e por propriedade (B) de três microrregiões do Triângulo Mineiro.	33
Figura 5	Perfil sorológico para LEB em relação ao tipo de atividade desenvolvida nas propriedades da microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).....	34
Figura 6	Perfil sorológico para LEB em relação ao tipo de atividade desenvolvida nas propriedades de três microrregiões do Triângulo Mineiro.	35
Figura 7	Perfil sorológico da LEB em relação ao sistema de criação na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).	36
Figura 8	Perfil sorológico da LEB em relação ao sistema de criação de três microrregiões do Triângulo Mineiro.	37
Figura 9	Perfil sorológico da LEB em relação manejo reprodutivo na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).	38
Figura 10	Perfil sorológico da LEB em relação manejo reprodutivo nas propriedades de três microrregiões do Triângulo Mineiro.....	39
Figura 11	Perfil sorológico das amostras nas propriedades que realizavam manejo reprodutivo em relação a prática ou não de inseminação artificial na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).....	40
Figura 12	Perfil sorológico das amostras nas propriedades que realizavam manejo reprodutivo em relação a prática ou não de inseminação artificial de três microrregiões do Triângulo Mineiro.	41
Figura 13	Perfil sorológico da LEB nas amostras colhidas segundo a condição de produção leiteira dos animais nas propriedades estudadas na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).	42

Figura 14	Perfil sorológico da LEB nas amostras colhidas segundo a condição de produção leiteira dos animais nas propriedades de três microrregiões do Triângulo Mineiro.....	42
Figura 15	Perfil sorológico da LEB segundo o tipo de ordenha nas propriedades estudadas na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).....	44
Figura 16	Perfil sorológico da LEB segundo o tipo de ordenha nas propriedades de três microrregiões do Triângulo Mineiro.	44
Figura 17	Perfil sorológico da LEB nas propriedades com manejo reprodutivo nas propriedades estudadas na microrregião de Araxá (A) e Uberaba (B), em relação ao procedimento com as luvas de palpação retal.	45
Figura 18	Perfil sorológico da LEB nas propriedades com manejo reprodutivo em relação ao procedimento com as luvas de palpação retal de três microrregiões do Triângulo Mineiro.....	46
Figura 19	Perfil sorológico da LEB nas amostras das propriedades, segundo a forma de utilização das agulhas para vacinação e/ou aplicação de medicamentos na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).	47
Figura 20	Perfil sorológico da LEB nas amostras das propriedades, segundo a forma de utilização das agulhas para vacinação e/ou aplicação de medicamentos de três microrregiões do Triângulo Mineiro.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Interpretação dos resultados obtidos na sorologia (IDGA ou ELISA) para o diagnóstico do VLB	23
Tabela 2	Número de amostras coletadas por município das microrregiões estudadas.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS

CEPANZO	Centro Pan-Americano de Zoonoses
ELISA	Ensaio Imunoenzimático (Enzyme-linked immunosorbent assay)
HTLV	Vírus T-linfotrópico Humano
HVU	Hospital Veterinário de Uberaba
IDGA	Imunodifusão em gel de ágar
IMA	Instituto Mineiro de Agropecuária
LEB	Leucose Enzoótica Bovina
LP	Linfocitose Persistente
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal (Office International Des Epizooties)
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
RIA	Radioimunoensaio
RNA	Ácido Ribonucléico
TECPAR	Instituto de Tecnologia do Paraná
UNIUBE	Universidade de Uberaba
VLB	Vírus da Leucose Bovina
WB	Western Blotting

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1.	ETIOLOGIA E FATORES PREDISPOONENTES	14
2.2.	TRANSMISSÃO	15
2.3.	EPIDEMIOLOGIA	16
2.4.	FISIOPATOGENIA / SINAIS CLÍNICOS E ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS	19
2.5.	DIAGNÓSTICO	21
2.6.	PROFILAXIA E CONTROLE	24
3.	OBJETIVOS	27
3.1.	OBJETIVO GERAL	27
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1.	REGIÃO DO ESTUDO	28
4.2.	NÚMERO DE AMOSTRAS	28
4.3.	COLHEITA DAS AMOSTRAS	29
4.4.	AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DE ANTICORPOS ANTI-BLV	30
4.5.	AVALIAÇÃO CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA	30
4.6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
5.	RESULTADOS	31
6.	DISCUSSÃO	49
7.	CONCLUSÕES	54
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
	ANEXO A - NORMAS INTERNACIONAIS DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL	61
	ANEXO B - QUESTIONÁRIO DE ESTUDO DE CAMPO	66
	ANEXO C - FICHA PARA COLHEITA DE AMOSTRA	67

1. INTRODUÇÃO

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma doença infectocontagiosa viral mundialmente disseminada nos rebanhos bovinos (LEUZZI JUNIOR et al., 2003). Causada por um *Deltaretrovirus* da família *Retroviridae*, denominado Vírus da Leucose Bovina (BLV), a doença apresenta um longo período de evolução e de forma inaparente, sendo o animal assintomático um importante portador do vírus (FERRER, 1979).

Essa enfermidade é caracterizada por proliferação linfocitária exagerada nos órgãos hemocitopoiéticos (linfonodos e baço), bem como nos órgãos ricos em tecido retículo histiocitário (abomaso, coração, rins, fígado e músculos), o que promove no animal um quadro sintomático pleomórfico e alterações hematológicas evidenciadas por leucocitose, linfocitose persistente e aumento das formas linfocitárias atípicas (BIRGEL JUNIOR et al., 2006).

Existem vários tipos de diagnóstico para a doença. Entre eles citam-se a Imunodifusão em Gel de Ágar – IDGA, a fixação de complemento, a soro neutralização, o radioimunoensaio, o ensaio imunoenzimático-ELISA e a PCR. Entretanto, vale ressaltar que as técnicas aceitas como teste padrão ouro de diagnóstico pelo “Office International Des Epizooties” – OIE (2001) são os testes de IDGA em soro bovino e ELISA para o leite bovino.

Sob o ponto de vista econômico, a LEB é prejudicial, pois, além da redução na produtividade causada pela infecção viral, há perdas na exportação para mercados que requerem animais livres da infecção, além de custos com o diagnóstico e tratamento dos animais com infecção secundária, descartes prematuros de animais pela redução da produção, morte de animais e a condenação de carcaças em frigoríficos, o que aumentam os prejuízos econômicos determinados por essa enfermidade (ALVES et al., 2011).

Segundo a OIE (2001) os prejuízos causados compreendem também as barreiras internacionais de comércio de animais, sêmen e embriões de animais soropositivos.

Estudos realizados nos Estados Unidos da América, sobre o impacto econômico que a doença causa para a indústria leiteira, revelaram que os casos de linfossarcomas nos animais podem causar um prejuízo de mais de 16 milhões de dólares por ano. Esse valor inclui os gastos com serviços veterinários, medicamentos, tempo e exames diagnósticos, sem levar em consideração a impossibilidade de exportação de sêmen e embriões para outros países (PELZER, 1997; ALVES et al., 2011).

Segundo o Código Sanitário para Animais Terrestres, da Organização Internacional de Saúde Animal (2001), a LEB é uma enfermidade de notificação obrigatória e existem normas para importações e exportações de animais, mas, somente em alguns países existem medidas de controle oficiais, como é o caso de Portugal, que possui legislação própria desde 1999 (POETA; COELHO; RODRIGUES, 2008).

No Brasil não há legislação com medidas sanitárias e controle do trânsito de animais para a LEB, o que contribui para a disseminação da doença no país. Há, estudos com levantamentos epidemiológicos em diversas regiões, evidenciando que o vírus avança à medida que aumenta a tecnificação na produção pecuária. A falta de conhecimento sobre a LEB pelos criadores e a ausência de um programa sanitário contribuem para a disseminação da doença, uma vez que não é exigido teste para LEB nos animais destinados à comercialização e não existe um controle sistemático nas propriedades (FERNANDES et al., 2009).

Apesar de existirem estudos relatando a prevalência da LEB no estado de Minas Gerais (LEITE et al., 1984; MODENA et al., 1984; CAMARGOS et al., 2002), este trabalho objetivou avaliar a prevalência da Leucose Enzoótica Bovina na região do Triângulo Mineiro, visto que nenhum levantamento soroepidemiológico de LEB foi realizado nessa região.

Há três décadas, no Triângulo Mineiro, destacava-se a pecuária bovina de corte, voltada para cria e engorda (PEREIRA, 1986). Atualmente, segundo Bitencourt e Lima (2008), na mesorregião do Triângulo Mineiro, destaca-se, principalmente, a pecuária leiteira a qual vem recebendo investimentos na genética bovina, em silos para forragens e em tanques de resfriamento. As maiores bacias leiteiras brasileiras estão concentradas em Minas Gerais, com destaque para o Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, que somam em torno de 25% do total de bacias nacionais.

A região do Triângulo Mineiro possui a maior concentração de bovídeos do estado de Minas Gerais com cerca de 3.964.143,00 cabeças (IMA, 2011). Assim, a realização deste estudo torna-se importante a fim de contribuir para elucidação da atual situação da doença para os produtores e autoridades sanitárias da região, permitindo, futuramente, a elaboração de um programa de controle para a enfermidade reduzindo os impactos econômicos gerados pela LEB.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. ETIOLOGIA E FATORES PREDISPOONENTES

A LEB é causada pelo Vírus da Leucose Bovina (VLB), pertencente à família Retroviridae, à sub-família Oncoviridae, e ao gênero *Deltavirus*. É composto por uma única fita de RNA e possui capacidade de transformar seu material genético em DNA através da enzima Transcriptase Reversa, inserindo-se no genoma celular como provírus, e ficando nessa forma por um longo período de incubação (AGOTANI, 2012). São inativados por solventes como o éter, álcool e clorofórmio, detergentes lipídicos e pelo calor à 56°C por 30 minutos (ALVES et al., 2011).

Pelas características morfológicas, o vírus foi classificado como um oncovirus Tipo C, mas devido a características do complexo genotípico, atualmente classifica-se como sendo do grupo do vírus que infecta linfócitos T de seres humanos tipo I (HTLV-1) (COCKRELL; REYES, 2000).

Em culturas de leucócitos, a partícula viral mede de 90 a 120 nm de diâmetro, constituída por um capsídeo icosaédrico, envelope lipoproteico e genoma RNA fita simples com polaridade positiva (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001). Segundo Guillet et al. (2007), o vírus possui uma camada proteica composta pelas proteínas gp51 e gp30, uma bicamada lipídica seguida de uma matriz proteica p15 e da proteína p24 que formam o capsídeo que contém o RNA viral em interação com o nucleocapsídeo (proteína p12) e com duas enzimas proteicas, a transcriptase reversa e a integrase (FIGURA 1).

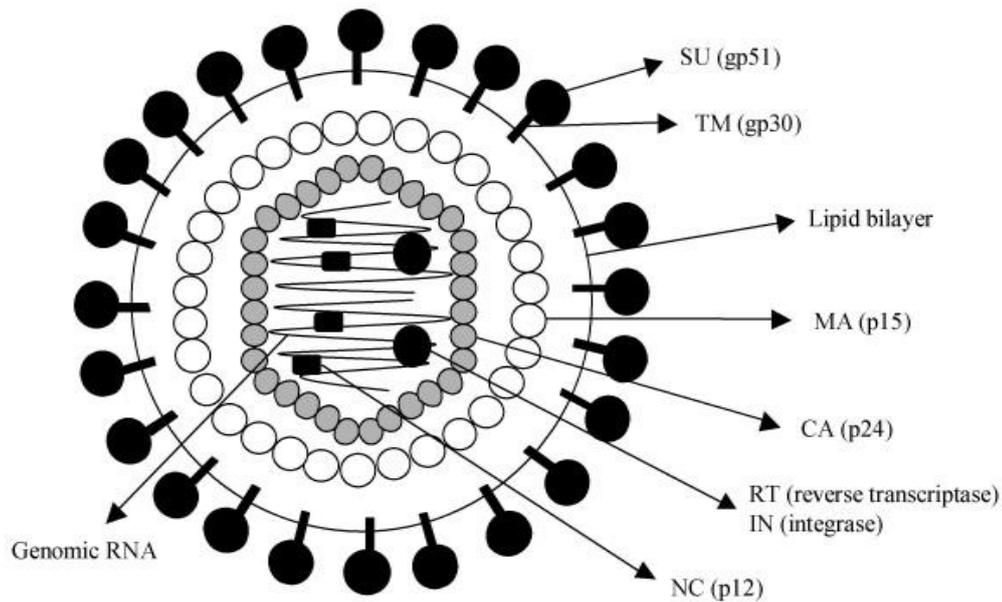


Figura 1: Representação esquemática da partícula do vírus da LEB onde, SU (proteína de superfície), TM (proteína de transmembrana), MA (matriz proteica), CA (proteína formadora do capsídeo), RT (transcriptase reversa), IN (integrase).

Fonte: Adaptado de Guillet et al. (2007).

2.2. TRANSMISSÃO

A transmissão do vírus da LEB ocorre, principalmente, com a transferência de células infectadas através do sangue ou do leite, e a resposta humoral antiviral aparece cerca de 1 a 8 semanas após a infecção.

A LEB não é uma zoonose, assim, o leite, a carne e seus derivados podem ser consumidos na alimentação humana (AGOTANI, 2012).

A célula alvo do vírus é o linfócito B que expressa IgM, mas também pode ser encontrado em monócitos e macrófagos (GUILLET et al., 2007). Os anticorpos específicos contra VLB podem ser detectados de 4 a 16 semanas após a infecção (RAJÃO et al., 2012).

A principal via de transmissão intercelular é através de uma célula infectada pelo vírus, através das proteínas em seu envelope, entre elas pode-se citar a GP51 e a GP30, que auxiliam na fusão com um novo linfócito alvo. A proteína transmembrana (TM) utiliza um peptídeo de fusão que desestabiliza a bicamada lipídica, e finalmente uma região da superfície

proteica (SU) interage com o zinco e ocorre a fusão viral, bem como a infectividade *in vivo* (GUILLET et al., 2007).

A transmissão pode ocorrer de duas formas: horizontal e vertical. A horizontal ocorre por meio de agulhas, seringas, equipamentos cirúrgicos, reutilização da mesma luva de toque retal, por transfusões sanguíneas, e por insetos tabanídeos. Animais confinados também se infectam através de secreções nasais, saliva, urina, fezes e descargas uterinas de animais infectados. Bezerros são infectados com colostro de mães doentes, porém em menor intensidade devida à presença de anticorpos anti-VLB na secreção (ALVES et al., 2011). O contato físico de bezerros com animais portadores do VLB e o consumo de água infectada com sangue contaminado, resultam na transmissão da doença. A transmissão via oral ocorre com a ingestão de colostro e leite contendo células B contaminadas com o VLB. O contato prolongado de animal para animal propicia a transmissão, desde que esse seja prolongado e íntimo, por exemplo, com animais de confinamento e durante a cópula, respectivamente. Se os animais estiverem separados por mais de dois metros de distância, não há transmissão. Por sua vez, a transmissão vertical ocorre durante a vida embrionária, via placenta, acontecendo em 10% dos animais infectados (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Bezerros de até seis meses de idade apresentam anticorpos anti VLB (BARROS FILHO et al., 2010).

Segundo Leuzzi Junior, Alfieri e Alfieri (2001), a partir de estudos com materiais biológicos como sêmen, óvulos ou embriões de bovinos infectados, constatou-se que esses materiais veiculam o VLB. Constatou-se também que a prevalência e incidência em animais jovens são menores, pois, provavelmente, são infectados verticalmente, enquanto que em adultos aumenta a partir de 16 a 24 meses de idade.

2.3. EPIDEMIOLOGIA

A LEB surgiu na Europa, com relatos em 1871, na Alemanha e, após a Segunda Guerra Mundial, foi relatada em praticamente todos os países da Europa Oriental. Com a importação de rebanhos bovinos pelos Estados Unidos da América no final do século XIX, houve a introdução do VLB nesse país e, posteriormente, no Canadá. A partir daí, o vírus da LEB foi disseminado para o restante do mundo (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Dados de distribuição mundial, no ano de 2012, nos mostram que a LEB está presente em todos os continentes: seja através de achados clínicos, diagnósticos confirmatórios ou suspeitos (FIGURA 2). A situação mais encontrada é com base em achados clínicos, como ocorre na Europa, norte da Ásia e América do Norte e Sul. A falta de notificação por parte dos países dificulta a o levantamento da evolução do vírus da leucose bovina (OIE, 2012).

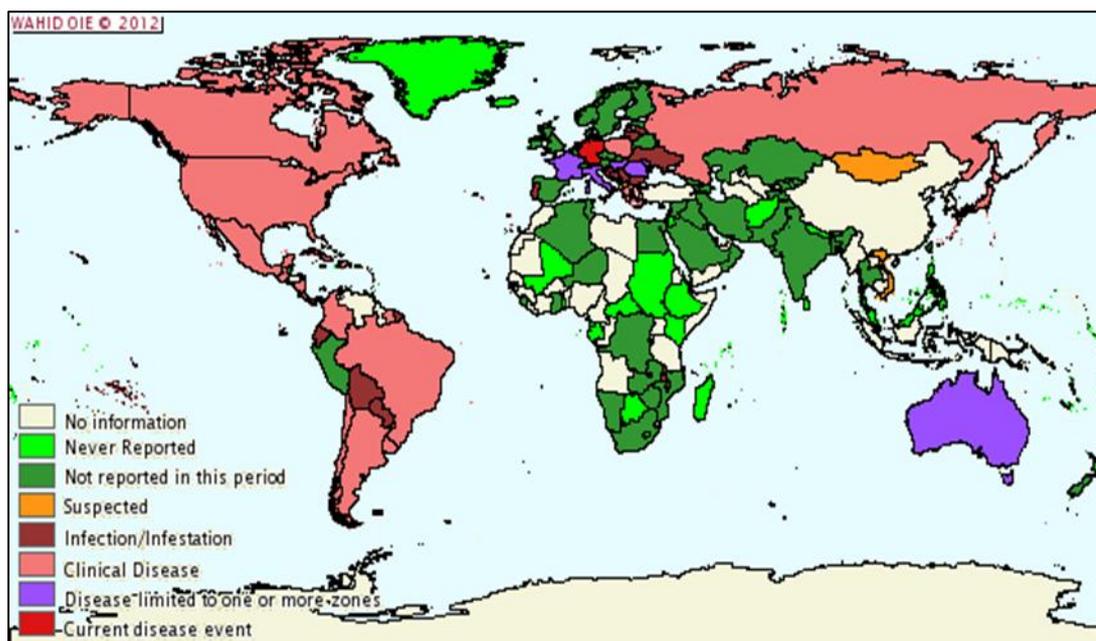


Figura 2: Situação Mundial da Leucose Enzoótica Bovina no ano de 2012.
Fonte: OIE (2012).

No Brasil, o VLB surgiu com a importação de bovinos soropositivos originados da América do Norte (reprodutores de alto valor zootécnico importados dos Estados Unidos e Canadá) (MORAES et al., 1996), do Uruguai (grande introdução de bovinos na década de 70) (MORAES et al., 1996), e da Europa, importados pelos estados da região sul e sudeste, e espalhou-se para o restante do país devido ao intenso trânsito interestadual (FERNANDES et al., 2009; ALVES et al., 2011).

A infecção foi descrita no Brasil, pela primeira vez, por Rangel e Machado (1943). Os estudos de prevalência da LEB iniciaram-se em 1978, quando Alencar Filho (1978), examinando 40 amostras de soro bovino, e detectou que 60% foram soro reagentes ao antígeno do VLB. Na importação de animais é exigido atestado sorológico negativo para LEB, porém, a entrada ilegal, principalmente em fronteiras, tem contribuído para a difusão do vírus no país (MORAES et al., 1996).

De acordo com a Figura 2, nota-se que a LEB é reportada nas regiões de maior concentração e trânsito de bovinos, como é o caso do Brasil, Austrália, Estados Unidos, Canadá, Argentina e Uruguai. Ao passo que em regiões como o continente africano e sul da Ásia, nunca foi identificada a doença ou não foram enviados informes à OIE (2012) por parte de países localizados nessas regiões.

A falta de conhecimento sobre a LEB pelos criadores e a ausência de um programa sanitário no Brasil para controle da LEB, contribuem para a disseminação da doença, uma vez que não é exigido exame durante o comércio de bovinos e não existe um controle sistemático nas propriedades (FERNANDES et al., 2009).

Estudos realizados em diversas regiões mostram que a doença avança à medida que a tecnificação na pecuária aumenta, ou as regiões intensificam a exploração leiteira, como é o caso da região norte.

Segundo Fernandes et al. (2009), com base em estudos sorológicos, a prevalência no Brasil pode ser estimada em 23,7%, sendo que a região sudeste é a de maior ocorrência.

Em relação à distribuição territorial, a doença já foi relatada no Rio Grande do Sul (23,5%) por Moraes et al. (1996); em Santa Catarina, (7,6%) por Lurdes (2001); no Paraná (56,34) por Barros Filho et al. (2010); em São Paulo (51,8%) por Megid et al. (2003); no Estado do Rio de Janeiro (53,3%) por Leite et al. (1984), em Minas Gerais (27,0%) por Modena et al. (1984); em Goiás (35,9%) por Andrade e Almeida (1991); no Tocantins (37,0%) por Fernandes et al. (2009); na Bahia (16,1%) por Távora e Birgel (1991), na Paraíba (8,3%) por Simões (1998); no Piauí (16,9%) por Silva (2001); no Rio grande do Norte (5,1%) por Simões et al. (2001); em Pernambuco (32,2%) por Mendes et al. (2011); em Alagoas (10,6%) Birgel et al. (1999); em Rondônia (23,0%) e no Acre (9,7%) por Abreu et al. (1990); no Pará (26,0%) por Molnár et al. (1999); e na Amazônia (9,6%) por Carneiro et al. (2003).

Fernandes et al. (2009) constataram que a ocorrência de altos índices de animais soropositivos para LEB no norte do estado do Tocantins pode estar relacionada à origem dos animais e ao crescimento desenfreado da bovinocultura leiteira na região. Geralmente esses animais são oriundos da região norte e centro-oeste do país, onde estudos anteriores revelaram altos índices de positividade para a LEB nos animais. Uma vez instalada a infecção pelo VLB, a disseminação da doença nessa região pode estar relacionada ao sistema de manejo no qual há constante reformulação do rebanho (troca de reprodutores e matrizes, de alto valor genético, voltados para produção leiteira, sem os devidos cuidados com a sanidade dos animais), fluxo intenso de animais, assistência veterinária deficiente, desconhecimento da

doença pelos produtores e deficiência na defesa sanitária local (pouca estrutura e ausência de estratégias para a prevenção e controle da doença).

As características da população do rebanho e da propriedade (tipo de produção, tamanho do rebanho, sistema de manejo e idade dos animais) são fundamentais no estudo da epidemiologia da LEB (RAJÃO et al., 2012).

A LEB acomete, com maior intensidade, o gado leiteiro devido à constância de manejo na produção, propiciando a transmissão iatrogênica (fômites contaminados como equipamentos de ordenha, agulhas, instrumentos cirúrgicos e palpação retal). O tipo de manejo, como o intensivo, no qual é utilizada maior tecnologia, torna-se também um fator predisponente para a propagação da doença (BARROS FILHO et al., 2010).

O estresse provocado pelo manejo, contato entre os animais, ou maior manipulação pelo homem, aumentam a taxa de transmissão da doença. A idade dos animais está relacionada com a maior ocorrência da doença devido ao longo período de incubação e manifestação da sintomatologia, geralmente em animais acima de 5 anos de idade (RAJÃO et al., 2012).

2.4. FISIOPATOGENIA / SINAIS CLÍNICOS E ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS

A presença de partículas virais no sangue ocorre de 10 a 15 dias após a infecção, induzindo a resposta imune humoral com produção de anticorpos específicos para as proteínas virais p24 (proteína 24KDa) e gp25 (glicoproteína 25KDa) (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Kabeya et al. (2001) descrevem que a infecção pelo VLB resulta em um período assintomático prolongado com baixa carga viral que persiste por 1 a 8 anos, sugerindo que o vírus modula as respostas imunes do hospedeiro.

O VLB infecta, preferencialmente, os linfócitos B, podendo infectar também os linfócitos T, monócitos e granulócitos e está associado ao desenvolvimento de leucocitose persistente (LP) caracterizada por elevação crônica do número de linfócitos circulantes (linfócitos B) e de linfossarcomas em bovinos (RAJÃO et al., 2012).

A probabilidade de desenvolvimento do tumor ocorre em animais que possuem altos níveis de linfócitos circulantes, sendo a LP, em bovinos, considerada um pré-estágio para o

desenvolvimento desses tumores. O gene supressor de tumores, p53 (proteína 53 KDa), é o principal regulador envolvido nos mecanismos de defesa contra transformações celulares. Estudos em animais infectados com o VLB e que desenvolveram tumores mostraram que metade desses animais apresentava um gene p53 mutante, interferindo nas funções essenciais necessárias para a transcrição e supressão do crescimento celular. Em bovinos com LP não foi encontrado o gene p53 mutante, somente poucas mutações de células B, indicando que as mutações de gene p53 ocorrem na fase final da leucemia induzida pelo VLB (FLORINS et al., 2007).

A proteína mais importante na resposta imune é a p24 existente no capsídeo do vírus, sendo reconhecida por linfócitos T. Os anticorpos reconhecem os antígenos do envelope (gp51 e p24) e proteínas reguladoras TAX (Ativador Transcricional de Expressão, presente no núcleo e no citosol, rico em proteína e leucina). Alguns desses anticorpos marcam as células infectadas pelo VLB. O nível de anticorpos e a atividade citolítica aumentam de acordo com a progressão da doença para a fase aguda. Nesse período de soroconversão aparecem linfócitos T citotóxicos para as proteínas TAX e epítomos do envelope. A resposta imune humoral e citotóxica inicia-se logo após a infecção e persiste por toda vida do animal indicando que o sistema imunológico é estimulado permanentemente por antígenos do VLB. A proteína gp30 é pouco imunogênica, enquanto a gp51 induz uma resposta massiva de anticorpos específicos em animais infectados. Assim sendo, essa propriedade de resposta é útil para o diagnóstico e desenvolvimento de vacinas (GUILLET et al., 2007).

A LEB ocorre, na forma maligna, com a presença de linfossarcomas multicêntricos dos adultos e, na forma benigna, com linfocitose persistente. Após a exposição ao vírus da LEB, bovinos podem não se tornar doentes por provável resistência genética; podem se transformar em portadores latentes, nos quais a infecção permanece e há detecção de anticorpos; e a infecção tornar-se permanente com animais soropositivos havendo LP e processo proliferativo benigno (30% a 70%), e esses animais soropositivos desenvolverem tumores neoplásicos malignos (5% a 10%) (AGOTANI, 2012).

A LP é encontrada em 20 a 30% dos animais infectados e tumores nos órgãos linfóides em 0,1 a 10% dos mesmos, porém, a maioria dos animais infectados permanece assintomática ou alinfocitóticos (RAJÃO et al., 2012).

Os sinais clínicos observados estão relacionados à localização dos linfossarcomas. Há aumento de linfonodos superficiais e ou apenas viscerais, provocando obstruções e outros sinais como: anorexia, timpanismo e perda de peso (em animais com obstrução ou úlcera provocados por linfossarcomas no abomaso), problemas neurológicos como paralisia de

membros posteriores provocados por neoplasias na medula, e falência cardíaca associada à linfossarcomas no miocárdio. Outras alterações clínicas comuns são inapetência, indigestão, diarreia, exoftalmia e outras alterações neurológicas devido à compressão de nervos, infertilidade e distocias causados por tumores no útero, e diminuição da produção leiteira (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001; RAJÃO et al., 2012).

A baixa imunidade, devido ao longo período de infecção, aumenta a suscetibilidade à outras infecções, como mamites e pododermatites (RAJÃO et al., 2012).

Agotani (2012) resumiu outros principais sinais clínicos de animais infectados pelo VLB e sua relação anatomopatológica: a perda de peso e a anemia ocorrem devido à diarreia, a anorexia e a hemorragia no trato gastrointestinal, principalmente no abomaso, o que leva também a uma baixa produção leiteira; o aumento de linfonodos superficiais provocado pela presença de linfócitos tumorais; febre provocada por necrose tissular e infecções concomitantes; hidronefrose, dispneia e distocia, e constipação devido à compressão dos ureteres, das vias aéreas, das vias do parto e do tubo gastrointestinal por linfonodos aumentados de volume, respectivamente edema subcutâneo ventral e pulso venoso positivo por insuficiência cardíaca congestiva; morte fetal provocada por infiltração tumoral na parede do útero.

Dos bovinos infectados pelo vírus da LEB, apenas 5% manifestam a forma tumoral da doença. Essa forma fatal é decorrente de uma expansão policlonal de linfócitos B o que leva ao desenvolvimento de linfomas e ou linfossarcomas (COCKEREL; REYES, 2000).

O aumento dos linfonodos é a principal característica da LEB, sendo mais comum na região retrobulbar levando a uma exoftalmia uni ou bilateral e na região faríngea causando disfagia e estertores durante a respiração. Os linfossarcomas podem ser encontrados em qualquer órgão, sendo que o abomaso, o coração e a medula geralmente estão envolvidos (BRAGA et al., 1998).

Nos exames histopatológicos são encontradas infiltrações nodulares ou difusas de células linfóides nos órgãos atingidos (BRAGA et al., 1998).

2.5. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico baseia-se em animais adultos, com mais de três anos de idade, que apresentam aumento progressivo do volume dos linfonodos subcutâneos principais,

simulando adenopatias infecciosas, porém, sem febre. Há paralisia e surgimento de placas cutâneas, perturbações digestivas crônicas como meteorismo e diarreia, exoftalmia e, raramente, paresia. Mesmo com sinais sugestivos da infecção, a confirmação deve ser sempre por exames laboratoriais (AGOTANI, 2012; RAJÃO et al., 2012).

O diagnóstico é fundamental para o controle e erradicação da doença. Os testes comumente utilizados são a Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA), o Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e o Radioimunoensaio (RIA) (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001). Segundo o Manual de Sanidade Animal, da Organização Mundial de Saúde Animal, os dois primeiros testes são provas de referência e utilizados como teste de rotina para detectar anticorpos da glicoproteína gp51 (OIE, 2012).

A IDGA apresenta alta especificidade e é mais utilizada pela maior facilidade e baixo custo, enquanto o ELISA apresenta maior sensibilidade e é utilizado para amostras de leite. As provas sorológicas podem gerar falso-negativos em vacas positivas durante o período que antecede o parto e após, pois não conseguem detectar os anticorpos que se deslocam para o colostro. Recomenda-se não testar vacas no período de 2 a 4 semanas antes e quatro semanas após o parto. Resultados falso-positivos ocorrem devido à interferência de anticorpos passivos (RAJÃO et al., 2012).

Segundo Agotani (2012), em bezerros com menos de seis meses de idade e que receberam colostro de vacas infectadas, provas sorológicas podem gerar resultados falso-positivos devido aos anticorpos colostrais que não foram eliminados. Após seis meses de idade, devem ser retestados três vezes, com intervalo de um mês, para serem considerados como positivos e infectados. Em reações falso-negativas, em que ainda não ocorreu resposta imune à infecção viral, devem-se esperar três meses para considerar o animal infectado ou não.

A interpretação dos resultados aos testes sorológicos IDGA e ELISA deve ser avaliada segundo a idade do animal, contato ou não com animais infectados e tempo decorrente do intervalo entre o contato e a análise sorológica, como descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Interpretação dos resultados obtidos na sorologia (IDGA ou ELISA) para o diagnóstico do VLB.

Idade	Resultado sorológico	Último contato com animal infectado	Interpretação
Menos de sete meses	Negativo	Há menos de três meses	Retestar três meses após o contato com bovinos infectado
		Há mais de três meses	Animal não infectado
	Positivo	Nascido de vaca soronegativa ou não ingeriu colostro de vaca soropositiva	Animal infectado
		Nascido de vaca infectada: impossível distinguir anticorpos resultantes de infecção ou se são de colostro	Retestar após sete meses de idade ou usar outra técnica, como PCR
Mais de sete meses	Positivo		Animal infectado
	Negativo	Há menos de três meses	Retestar três meses após o contato com bovinos infectado
Há mais de três meses		Animal não infectado	

Fonte: Agotani (2012) e Rajão et al. (2012).

Foi realizado estudo entre os testes de IDGA e ELISA indiretos para o diagnóstico da LEB e o Western Blotting (WB) como confirmatório, tendo mostrado especificidade em ambas as provas comparada com a obtida pelo WB, porém a sensibilidade foi maior no ELISA comparando com o IDGA. Os testes de ELISA e WB avaliam a presença da proteína p24 presente no capsídeo do vírus, enquanto o IDGA avalia a presença das glicoproteínas gp51 e gp30 do envelope viral. Além da sensibilidade, o ELISA mostrou vantagem pela possibilidade de análise de um número maior de amostras simultaneamente (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Os exames hematológicos podem ser utilizados para detecção da LP, através da contagem de linfócitos, porém não devem ser considerados conclusivos, pois existem outros fatores que interferem nos constituintes sanguíneos, e a ausência de linfocitose não exclui a

infecção pelo vírus da LEB. Para avaliar a LP são necessários três exames consecutivos com intervalos de um mês (AGOTANI, 2012; RAJÃO et al., 2012).

O diagnóstico histopatológico é feito através de biópsia ou fragmento de órgãos afetados. Em bovinos com LEB, esse exame revela uma distribuição característica dos tumores de acordo com a idade do animal. As lesões tumorais são típicas em animais acima de 3 anos de idade quando há o surgimento de tumores volumosos e nodosos localizados em regiões relacionadas ao sistema linfático, sugerindo neoplasias nesse local (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

A técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) identifica, em células bovinas infectadas, sequências de DNA características do retrovírus (AGOTANI et al., 2012). Esta técnica apresenta maior sensibilidade em animais naturalmente infectados, taxas superiores a 10 e 17%, comparadas com o ELISA e IDGA, respectivamente; e distingue bezerras infectadas dos soropositivos devido à ingestão de anticorpos colostrais (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

2.6. PROFILAXIA E CONTROLE

O animal infectado com o vírus da LEB tem um prognóstico desfavorável, pois não possui tratamento (ALVES et al., 2011). Portanto, medidas de prevenção, controle e erradicação são necessárias e economicamente vantajosas para produtores que exportam e comercializam bovinos (BRAGA et al., 1998).

Não há vacinas comerciais disponíveis por não existir nenhum método de imunização eficaz contra o vírus da LEB, porém há várias pesquisas para o desenvolvimento de uma vacina capaz de proteger os bovinos contra a infecção ou até mesmo contra o desenvolvimento da LP e ou linfossarcoma (ALVES et al., 2011). Foi avaliada uma vacina recombinante, expressando o envelope de VLB em ovinos. Essa vacina os protegeu de uma infecção experimental e suprimiu a replicação viral em animais soropositivos. Nesse estudo, ficou evidente o envolvimento da imunidade celular, e que esse tipo de vacina poderá ser utilizado com propósitos profiláticos e terapêuticos (SUGIMOTO et al., 1994).

A velocidade de disseminação da LEB entre os animais é relativamente lenta, indicando que a doença não é altamente contagiosa. Isso faz com que programas de controle e erradicação da doença em rebanhos individuais ou em uma população maior possam ter êxito,

e serem planejados sem a imediata remoção e sacrifício dos animais infectados (BRAGA et al., 1998).

De acordo com o que foi descrito por Braga et al. (1998), para um programa de controle alcançar seus objetivos, o manejo deve ser apontado como um dos mecanismos de transmissão do vírus, assim como a identificação dos animais infectados através de testes laboratoriais e os procedimentos para controle devem ser economicamente viáveis: teste e remoção dos animais reagentes, separação dos animais positivos dos negativos e implantação das boas práticas de manejo com objetivo de impedir a transmissão horizontal e vertical. Fernandes et al. (2009) apontam o bom estado nutricional dos animais como um fator no aumento da transmissão da doença, visto que retarda o descarte dos animais infectados, mediante a evolução crônica da doença, e favorece as condições de transmissão devido ao convívio entre animais infectados e sadios.

Quando a doença é diagnosticada em uma propriedade, seja por testes sorológicos ou sintomatologia clínica dos animais, Agotani (2012) recomenda testar todo o rebanho a cada três ou a cada seis meses até a identificação de todos os animais. Quando há alta prevalência de animais positivos no rebanho, separá-los dos negativos, em dois lotes, em pastos diferentes, com distância de 150 metros, para evitar a transmissão mecânica por insetos hematófagos. A ordenha deve iniciar com os animais sorologicamente negativos e, após a ordenha dos positivos, realizar desinfecção da ordenhadeira com desinfetantes eficazes, como o hipoclorito de sódio ou Biocid. Nunca utilizar materiais que possam causar infecção iatrogênica sem prévia desinfecção, após sua utilização em animais sorologicamente positivos. O mesmo se aplica a neonatos filhos de vacas positiva, pois são considerados negativos até a realização do primeiro teste sorológico, no 6º mês. Providenciar um banco de colostro na propriedade, obtido nas primeiras 24 horas de fêmeas não reagentes, e armazená-lo na temperatura de -20°C. O primeiro teste sorológico em bezerros nascidos de vacas positivas deve ser realizado após o 6º ou 8º mês de vida para evitar falso-positivos; os animais reagentes serão considerados positivos e separados dos demais negativos. Como a infecção vertical ocorre em 10% nos recém-nascidos, tentar obter crias negativas de vacas positivas de alto padrão genético, e considerá-los positivos se, após o 8º mês, for detectado anticorpos para o VLB. Em propriedades com baixa prevalência de animais positivos, recomenda-se eliminar do rebanho os reagentes ou retirar aqueles em final de atividade econômica, os seja, a partir dos oito anos de idade. Introduzir no rebanho, somente animais com sorologia negativa e combater os insetos hematófagos que possam veicular o vírus da LEB .

Os animais que apresentarem sintomas clínicos devem ser eliminados sem o aproveitamento da carcaça e realizar testes sorológicos anuais no rebanho. Outro fator importante no controle da LEB é a limitação do transporte e comércio de animais infectados, como, por exemplo, a participação em feiras e exposições, para evitar novos contágios (AGOTANI, 2012).

As normas técnicas da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) para o controle da LEB estão descritas no Anexo A.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a prevalência e a epidemiologia da Leucose Enzoótica Bovina em bovinos fêmeas de corte e leite em microrregiões do Triângulo Mineiro pelo teste de IDGA.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detectar anticorpos específicos para LEB em amostras de soro de bovinos.
- Verificar, através de inquérito epidemiológico, o conhecimento dos produtores sobre a doença.
- Obter dados referentes ao sistema de manejo, atividade principal, existência de manejo reprodutivo e a tecnificação da propriedade.
- Verificar a existência de associação entre os dados sorológicos e epidemiológicos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. REGIÃO DO ESTUDO

O trabalho foi desenvolvido em 83 propriedades de 14 municípios pertencentes a três microrregiões do Triângulo Mineiro: Araxá, Uberaba e Frutal.

Na microrregião de Araxá, foram avaliados os municípios de Araxá, Nova Ponte e Sacramento, com o total de 23 propriedades. Na microrregião de Uberaba, os municípios de Uberaba, Conceição das Alagoas, Campo Florido, Delta, Conquista e Veríssimo, com o total de 25 propriedades. Na microrregião de Frutal os municípios de Comendador Gomes, Fronteira, Pirajuba e Planura, com o total de 35 propriedades. Totalizando 14 municípios.

O estudo abrangeu propriedades de bovinos tanto de corte quanto de leite.

4.2. NÚMERO DE AMOSTRAS

O número de amostras foi determinado conforme orientação metodológica do Centro Pan-Americano de Zoonoses (CEPANZO, 1979) nos procedimentos adotados para o estudo de prevalência de enfermidades crônicas. Estimou-se em 27% a prevalência do VLB na população a ser estudada, tendo como base o trabalho de Modena et al. (1984). Admitiu-se a margem de erro de 20% e depositou-se nesse resultado um grau de confiança de 95%. Para o cálculo da amostragem, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$N = P \cdot (100 - P) \cdot g^2 / (E \cdot P / 100)^2$$

Onde:

N = número de amostras a serem utilizadas

g^2 = fator determinante do grau de confiança ($1,96^2 = 3,84$)

P = prevalência estimada (27,0%)

e = margem de erro admissível (20,00%)

Assim,

$$N = 27. (100 - 27). 3,84 / (20. 27/100)^2$$

$N \cong 260$ amostras

Com a finalidade de se ter uma maior confiabilidade dos resultados, foram colhidas 853 amostras juntamente com o estudo epidemiológico sobre brucelose, realizado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária, no mesmo período experimental. As amostras foram colhidas em bovinos fêmeas com idade superior a 24 meses, em lactação. Nas propriedades onde não havia fêmeas em lactação foram colhidas amostras de fêmeas não lactantes.

Os critérios para seleção dos animais foram seguidos de acordo com o Manual de Procedimentos do estudo epidemiológico da Brucelose e Tuberculose em Bovinos e Bubalinos (2010), da seguinte forma: se a propriedades com até 99 fêmeas existentes, acima de 24 meses de idade, foram colhidas 10 amostras e, em propriedades com 100 ou mais fêmeas existentes, acima de 24 meses de idade, colheu-se 15 amostras.

4.3. COLHEITA DAS AMOSTRAS

Foram colhidos 10 ml de sangue da veia jugular utilizando-se agulhas 25 x 0,8 mm em tubos, tipo vacutainer, sem anticoagulante, devidamente identificados e foi preenchido um formulário de colheita de amostras (ANEXO C). Após a colheita, as amostras foram mantidas a 4°C em recipientes isotérmicos e transportadas ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva - Hospital Veterinário de Uberaba/ Universidade de Uberaba (HVU/ UNIUBE). Para obtenção do soro, as amostras foram centrifugadas em velocidade de 1000 rpm durante 15 minutos. Posteriormente, o soro obtido foi depositado e acondicionado em tubos tipo eppendorf de 1,5 ml, devidamente identificados e mantidos na temperatura de -20°C até a realização do teste.

4.4. AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DE ANTICORPOS ANTI-BLV

Para a avaliação sorológica dos animais foi realizado o teste de Imunodifusão em Gel de Ágar adaptada de Miller e Van Der Maaten (1976).

A técnica foi executada de acordo com as recomendações do fabricante (Tecpar[®]) utilizando-se antígeno glicoproteico (gp51), soro controle positivo e soros teste em lâminas contendo gel de Agar 0,9%, pH 7,3. As leituras foram realizadas 72 horas após, utilizando-se sistema de iluminação com luz indireta e fundo escuro. O soro, cuja linha de precipitação apresentou identidade com a linha formada pelo soro controle, foi considerado positivo. O soro foi considerado negativo quando não houve formação de linha de precipitação ou a linha formada não apresentou identidade com a do soro controle.

4.5. AVALIAÇÃO CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA

Foi feita uma vistoria nos animais durante a colheita das amostras avaliando-se as condições físicas e aspectos corporais e busca de lesões clínicas aparentes.

Para a avaliação epidemiológica foi utilizado um questionário para obtenção de informações nas propriedades como: a atividade principal (corte, leite ou mista), sistema de criação (intensivo, semi-intensivo ou extensivo), tipo de ordenha (manual ou mecânica), forma de utilização de agulhas (troca, não troca, troca a cada 10 animais, desinfeta), manejo reprodutivo (sim ou não), luvas de palpação retal (descarta ou não), inseminação artificial (prática ou não) e conhecimento sobre a LEB (ANEXO B).

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados epidemiológicos obtidos do inquérito foram tabulados e submetidos à análise estatística pelo teste do Qui-quadrado, com nível de significância de 5% ($P < 0,05$). A força de associação foi obtida por meio do cálculo do Odds Ratio (OR) com intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Statistica 8.0 (STATSOFT, 2008).

5. RESULTADOS

As 853 amostras foram colhidas de bovinos fêmeas mestiças para corte ou leite dependendo do tipo de atividade realizada na propriedade, com idade superior a 24 meses pertencentes a 83 propriedades de 14 municípios das microrregiões de Uberaba, Frutal e Araxá (TABELA 2).

Tabela 2. Número de amostras coletadas por município das microrregiões estudadas.

Microrregião	Municípios estudados	Propriedade por município		Total de fêmeas nas propriedades estudadas		Amostras coletadas	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Microrregião de Araxá	Araxá	5	6,02	811	8,38	55	6,45
	Nova Ponte	5	6,02	818	8,45	45	5,28
	Sacramento	13	15,66	1298	13,41	136	15,94
	Sub total	3	23	27,71	2927	30,27	236
Microrregião de Frutal	Comendador Gomes	5	6,02	539	5,57	55	6,45
	Frutal	17	20,48	1233	12,74	162	18,99
	Fronteira	1	1,20	52	0,54	10	1,17
	Pirajuba	1	1,20	32	0,33	10	1,17
	Planura	1	1,20	85	0,88	10	1,17
	Sub total	5	25	30,12	1941	20,03	247
Microrregião de Uberaba	Delta	1	1,20	629	6,50	15	1,76
	Campo Florido	4	4,82	588	6,07	45	5,28
	Conceição das Alagoas	5	6,02	456	4,71	50	5,86
	Conquista	3	3,61	677	6,99	35	4,10
	Uberaba	18	21,69	2142	22,13	190	22,27
	Veríssimo	4	4,82	321	3,32	35	4,10
Sub total	6	35	42,17	4813	49,71	370	43,37
TOTAL	14	83	100,00	9681	100,00	853	100,00

Das 236 amostras de soro de bovinos fêmeas pertencentes a 23 propriedades (TABELA 2) da microrregião de Araxá, 19,5% (46/236) apresentavam anticorpos anti VLB (FIGURA 3A). Em 78,3% (18/23) das propriedades, pelo menos uma amostra positiva para a LEB foi encontrada (FIGURA 3B).

Das 247 amostras de soro de bovinos fêmeas pertencentes a 25 propriedades (TABELA 2) da microrregião de Frutal, 10,5% (26/247) apresentaram anticorpos anti VLB

(FIGURA 3C). Em 72,0% (18/25) das propriedades, pelo menos uma amostra positiva para a LEB foi encontrada (FIGURA 3D).

Na microrregião de Uberaba, das 370 amostras analisadas, encontrou-se 25% (91/370) de positividade (FIGURA 3E). Em 85,7% (30,35) das propriedades, pelo menos uma amostra foi positiva para a LEB (FIGURA 3F).

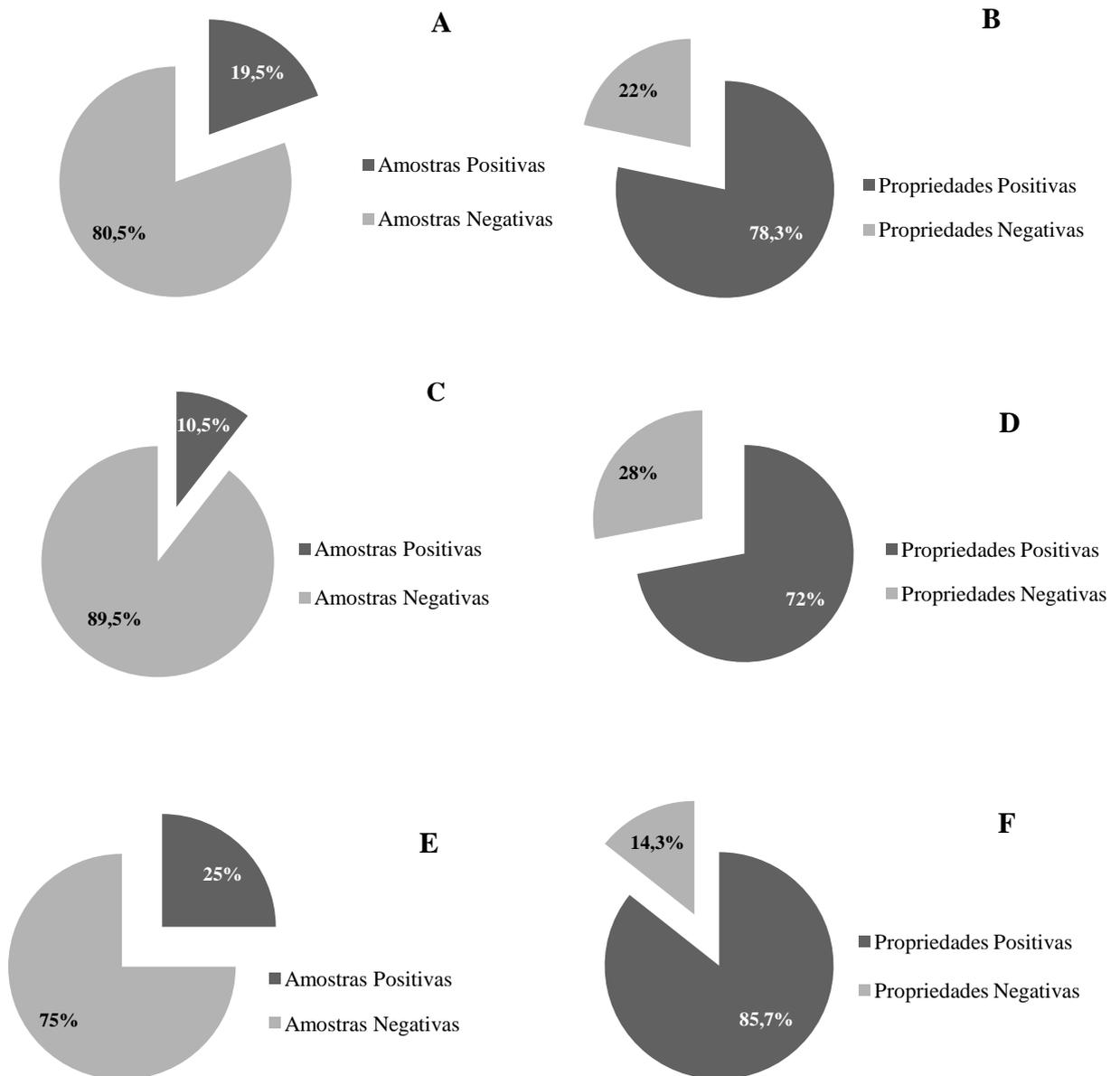


Figura 3: Perfil sorológico para LEB estudadas por amostras (A, C e E) e por propriedade (B, D e F) da microrregião de Araxá, Frutal e Uberaba, respectivamente.

Analisando o percentual de positividade no total de amostras analisadas (853) e por propriedades (83), a prevalência foi respectivamente de 19,0% (164/853) e 79,5% (66/83) (FIGURAS 4A e 4B).

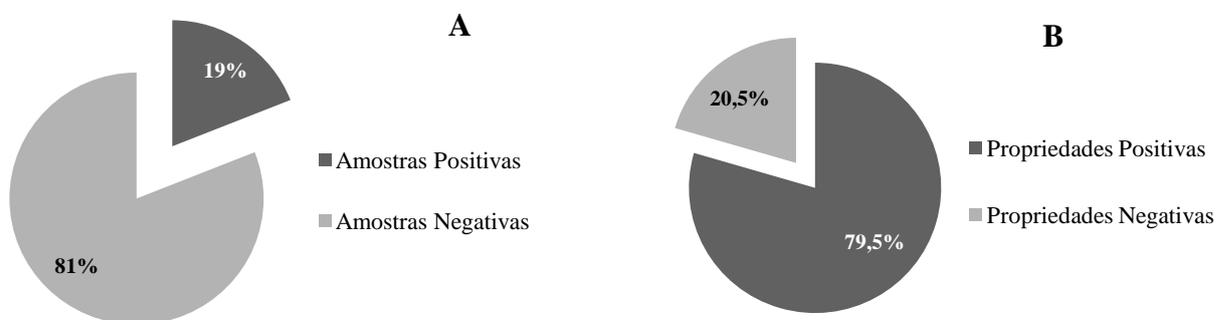


Figura 4: Perfil sorológico para LEB das microrregiões estudadas por amostras (A) e por propriedade (B) de três microrregiões do Triângulo Mineiro.

Os animais estudados não apresentaram sinais clínicos ou aumento de linfonodos na vistoria durante a colheita das amostras.

Avaliando a prevalência da LEB nas propriedades, quanto ao conhecimento dos proprietários e funcionários, pode-se notar que nas microrregiões de Araxá, Frutal e Uberaba, 95,6% (22/23), 100% e 88,6% (31/35) das propriedades, proprietários e funcionários não conheciam a doença. Portanto, em 94% (78/83) das propriedades estudadas nas três microrregiões do Triângulo Mineiro, proprietários e funcionários responderam não ter conhecimento sobre a LEB. Apenas em 6% (5/83), onde havia proprietários com formação em zootecnia, conheciam a doença e afirmaram que nunca observaram casos clínicos no rebanho.

Em relação à atividade desenvolvida nas propriedades estudadas, na microrregião de Araxá, em 13,0% (3/23) das propriedades estudadas a atividade principal era corte, 82,6% (19/23) leite e 4,3% (1/23) mista. Na microrregião de Frutal, em 4,0% (1/25) das propriedades estudadas a atividade era corte, 88,0% (22/25) leite e 8,0% (2/25) mistas, e na microrregião de Uberaba, em 34,3% (12/35) das propriedades estudadas a atividade principal era corte, 57,1% (20/35) leite e 8,6% (3/35) mista.

O percentual de positividade das amostras nas microrregiões de Araxá, Frutal e Uberaba foram respectivamente de 14,0% (5/35) corte, 21,0% (40/191) leite e 10,0% (1/10) mista (FIGURA 5A); 0% (0/3) corte, 10,3% (23/224) leite e 15,0% (3/20) mista (FIGURA 5B); 20,1% (25/124) corte, 25,0% (51/204) leite, e 35,7% (15/42) mista (FIGURA 5C).

Pode-se observar diferença estatisticamente significativa nas propriedades leiteiras de Araxá e propriedades mistas de Uberaba ($P < 0,05$) e não houve diferença estatística em relação ao tipo de criação na microrregião de Frutal.

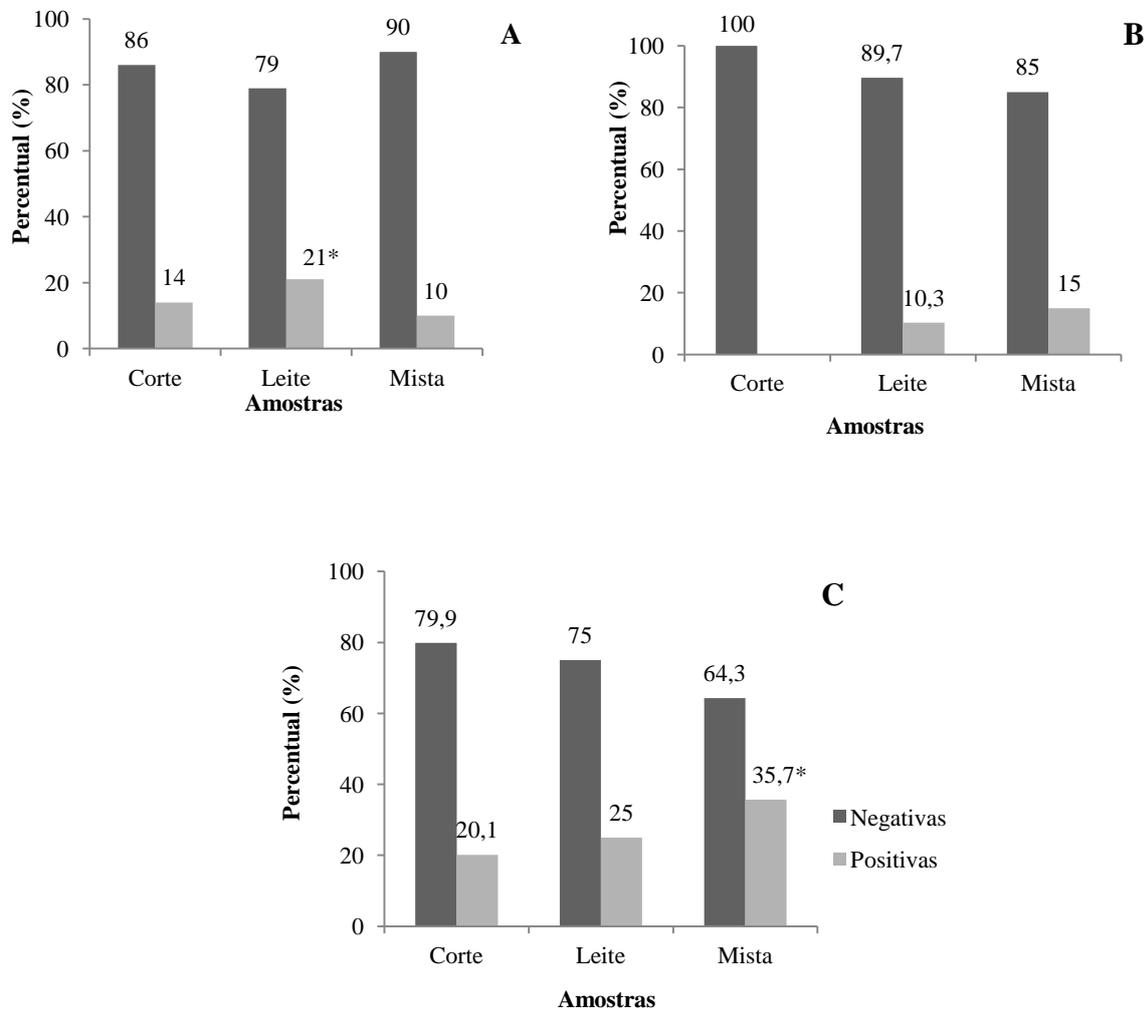


Figura 5: Perfil sorológico para LEB em relação ao tipo de atividade desenvolvida nas propriedades da microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C). * $P < 0,05$.

O percentual de positividade das amostras totais das microrregiões estudadas em relação ao tipo de atividade foi: 19,0% (33/162) corte; 18,0% (113/619) leite e 28,0% (20/72) mistas (FIGURA 6). Pode-se observar que, nas propriedades onde a atividade principal era mista, houve aumento significativo da LEB ($P < 0,05$). O número de animais positivo foi maior nas propriedades leiteiras de Araxá e propriedades mistas de Uberaba ($P < 0,05$).

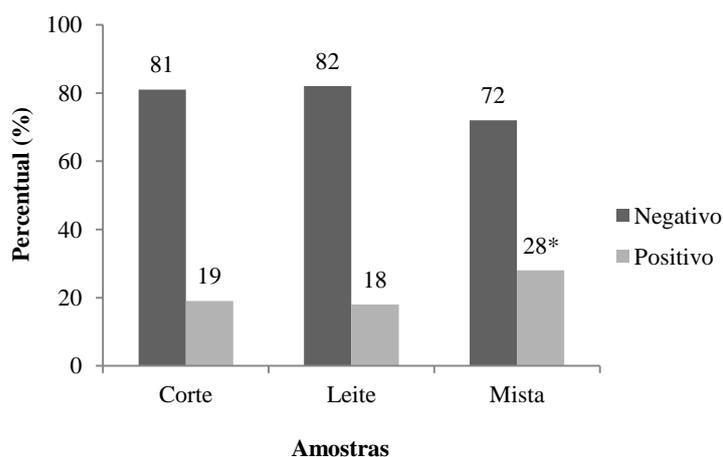


Figura 6: Perfil sorológico para LEB em relação ao tipo de atividade desenvolvida nas propriedades de três microrregiões do Triângulo Mineiro * $P < 0,05$.

O sistema de criação nas propriedades estudadas na microrregião de Araxá eram 47,8% (11/23) semi-intensivo e 52,2% (12/23) extensivo. Na microrregião de Frutal 28,0% (7/25) em sistema semi-intensivo e 72,0% (18/25) sistema extensivo. Na microrregião de Uberaba 3,0% (1/35) sistema intensivo, 23,0% (8/35) semi-intensivo e 74,0% (26/35) sistema extensivo.

Avaliando-se a positividade das amostras, segundo o sistema de criação, pode-se observar que na microrregião de Araxá a prevalência foi estatisticamente superior ($P < 0,05$) nas propriedades que realizavam sistema semi-intensivo 26,7% (24/90) do que nas de sistema extensivo 15,0% (22/146). Não havia propriedades em sistema intensivo nessa microrregião. (FIGURA 7A).

Na microrregião de Frutal não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre a positividade das amostras, em relação ao sistema de criação semi-intensiva 10,8% (8/74) e extensiva 10,4% (18/173) (FIGURA 7B).

Nas microrregiões de Araxá e Frutal não havia propriedades em sistema intensivo.

O percentual de positividade para a LEB, na microrregião de Uberaba, segundo o sistema de criação, foi: 40,0% (4/10) sistema intensivo, 36,2% (29/80) semi-intensivo e 21,7% (58/280) extensivo (FIGURA 7C). A prevalência para LEB nas propriedades que possuíam sistema extensivo de criação foi estatisticamente inferior às propriedades com outros tipos de sistema de criação ($P < 0,05$).

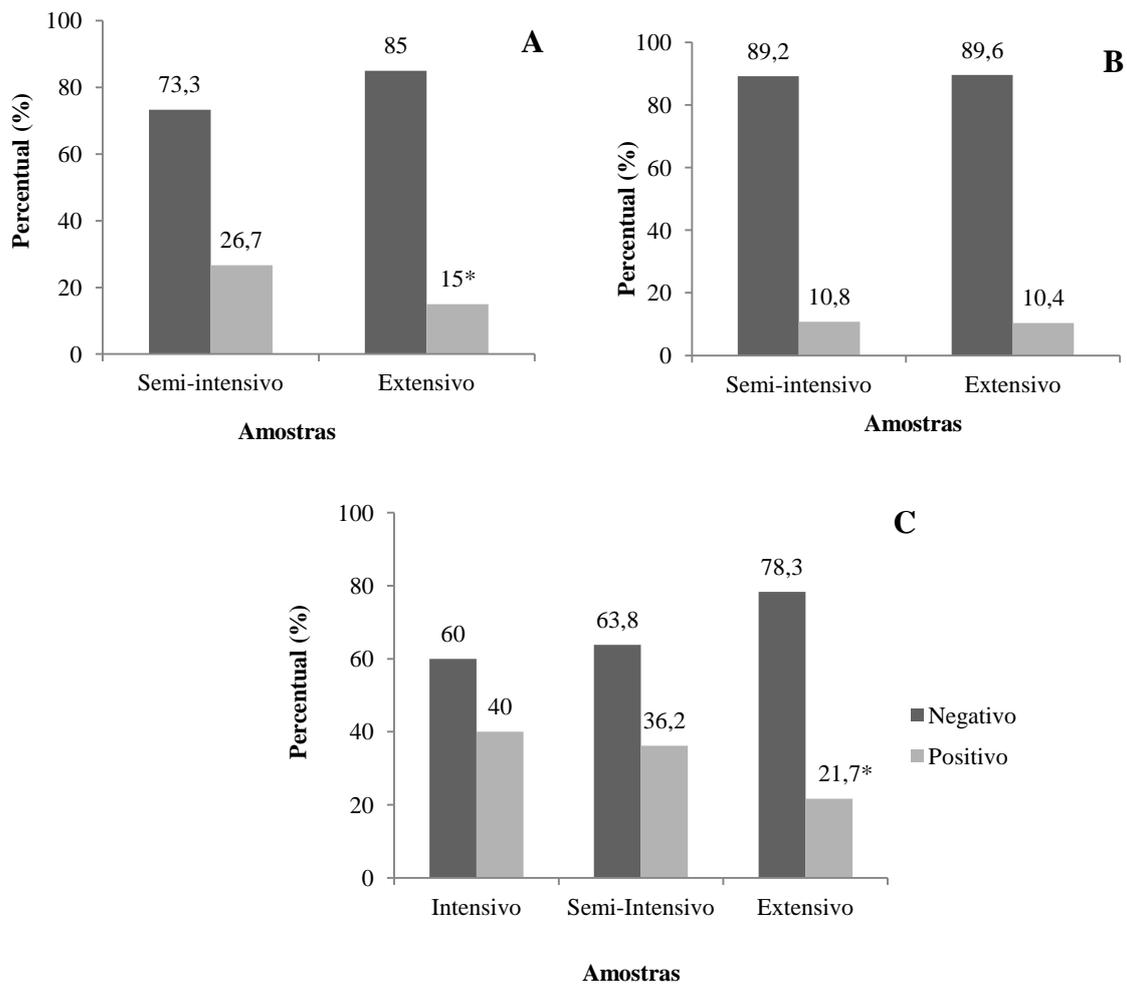


Figura 7: Perfil sorológico da LEB em relação ao sistema de criação na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C). * $P < 0,05$

Avaliando-se as amostras das três microrregiões do Triângulo Mineiro, a positividade para LEB nas propriedades que realizavam o manejo intensivo, semi-intensivo e extensivo foram respectivamente de: 40,0% (4/10), 23,0% (103/449) e 14,0% (56/390) (FIGURA 8). Pode-se observar aumento significativo da LEB nas propriedades que trabalhavam com o sistema intensivo ($P < 0,05$).

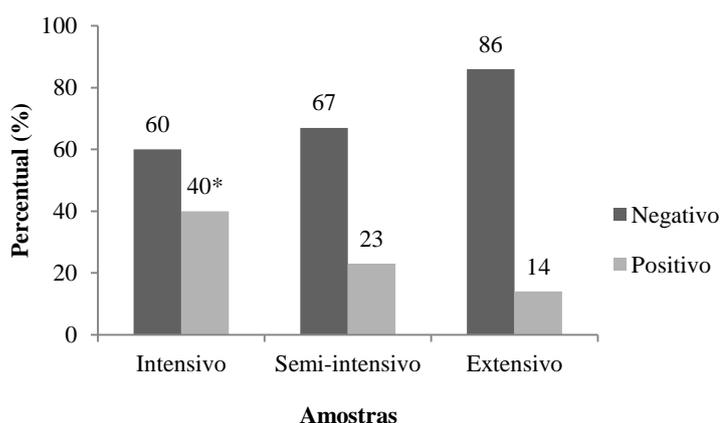


Figura 8: Perfil sorológico da LEB em relação ao sistema de criação de três microrregiões do Triângulo Mineiro. * $P < 0,05$.

Foi feita análise quanto ao manejo reprodutivo nas propriedades estudadas (palpação retal para diagnóstico gestacional, inseminação artificial, ultrassonografia para diagnóstico de prenhez ou sexagem fetal), em que considerou principalmente: a existência desse manejo e prática de inseminação artificial (IA).

Em 26,0% (6/23) das propriedades na microrregião de Araxá não havia manejo reprodutivo dos animais e em 74,0% (17/23) das propriedades havia. Na microrregião de Frutal, em 48,0% (12/25) das propriedades não havia manejo reprodutivo dos animais e em 52,0% (13/25) havia. Na microrregião de Uberaba, em 40,0% (14/35) das propriedades não havia manejo reprodutivo dos animais e em 60,0% (21/35) havia.

Pode-se observar que na microrregião de Araxá, nas propriedades onde havia manejo reprodutivo dos animais, 20,6% (37/180) das amostras foram positivas para LEB e nas propriedades sem o manejo reprodutivo, 16,1% (9/56) (FIGURA 9A). Não houve diferença estatística em relação a realização ou não de manejo reprodutivo ($P > 0,05$).

Na microrregião de Frutal a positividade das amostras foi de 11,9% (16/134) nas propriedades com manejo e 8,8% (10/113) nas sem manejo. Não houve variação significativa na positividade para LEB de acordo com o tipo de manejo reprodutivo ($P > 0,05$). (FIGURA 9B).

Na microrregião de Uberaba, o percentual de positividade para a LEB foi, 27,1% (29/141) nas propriedades sem manejo e 20,6% (62/229) nas propriedades com manejo reprodutivo (FIGURA 9C), e não se observou diferença estatística entre a realização ou não de manejo reprodutivo em relação a positividade para LEB.

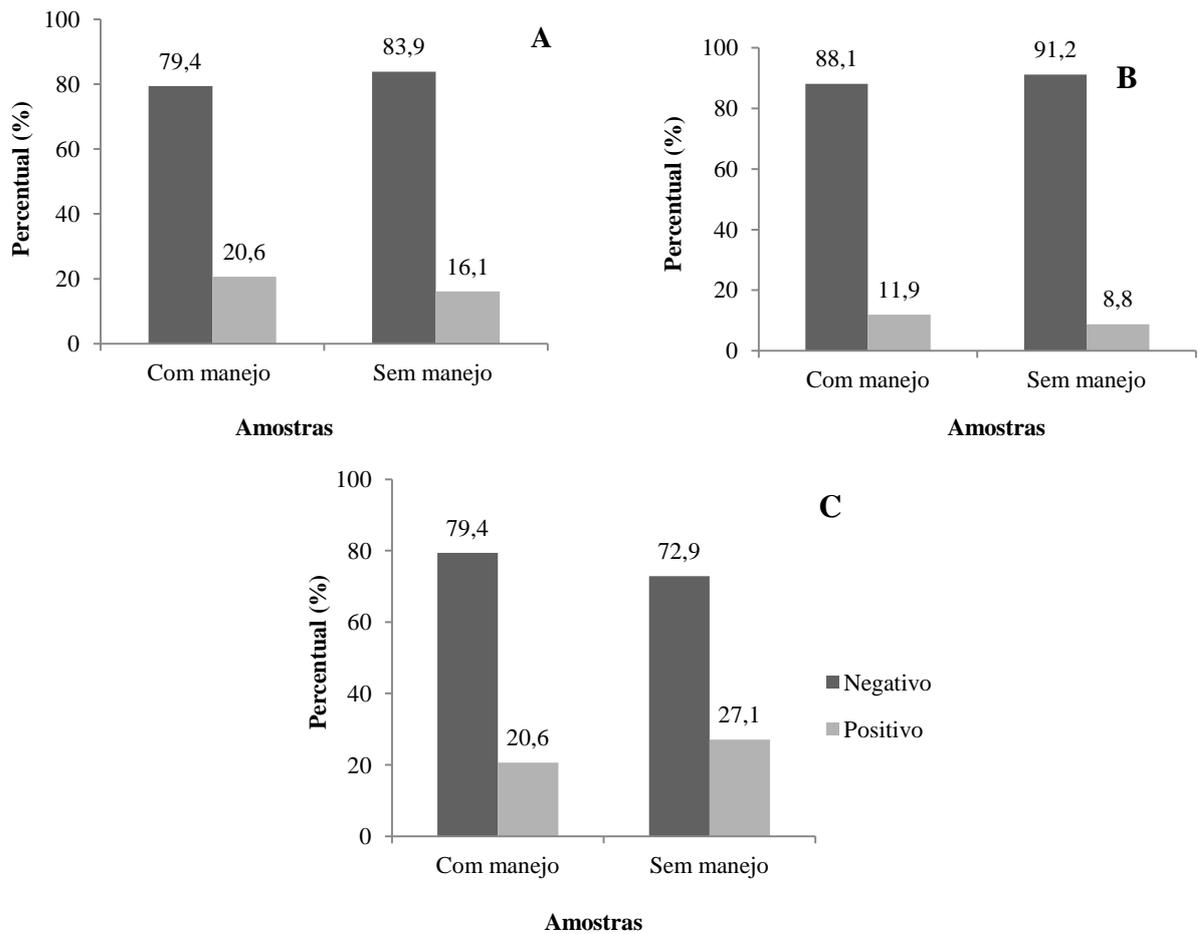


Figura 9: Perfil sorológico da LEB em relação manejo reprodutivo na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).

Analisando o percentual de positividade nas propriedades das três microrregiões, observou-se aumento significativo da LEB ($P < 0,05$) nas propriedades que realizavam manejo reprodutivo, (21,1% (118/558) amostras positivas), em relação às que não realizavam manejo reprodutivo (15,2% (45/295) amostras positivas) (FIGURA 10).

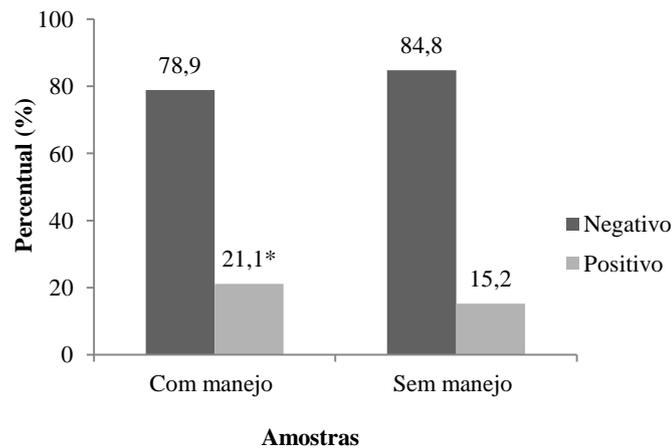


Figura 10: Perfil sorológico da LEB em relação manejo reprodutivo nas propriedades de três microrregiões do Triângulo Mineiro. * $P < 0,05$.

Quanto à análise das amostras em relação à prática de IA nas propriedades que realizavam o manejo reprodutivo dos animais, na microrregião de Araxá, em 11,7% (2/17) praticavam a IA e em 88,3% (15/17) não havia IA. A positividade para a LEB foi estatisticamente superior ($P < 0,05$) nas amostras pertencentes a propriedades que realizavam IA 35,0% (7/20) em relação às que não realizavam IA 19,0% (30/160) (FIGURA 11A).

Na microrregião de Frutal, 15,4% (2/13) das propriedades praticavam a IA e 84,6% (11/13) não, e a positividade para a LEB foi: 10,0% (2/20) nas amostras pertencentes a propriedades que realizavam IA, e 12,3% (14/114) nas que não realizavam IA (FIGURA 11B). Não se observou diferença estatística significativa quanto ao emprego ou não de IA e ocorrência de LEB.

Na microrregião de Uberaba, 42,9 (9/21) praticavam a IA e 47,1% (12/21) não havia IA, e a positividade das amostras para a LEB foi: 28,8% (30/104) com IA e 25,6% (32/125) sem IA, e não se observou diferença estatística significativa ($P > 0,05$) (FIGURA 11C).

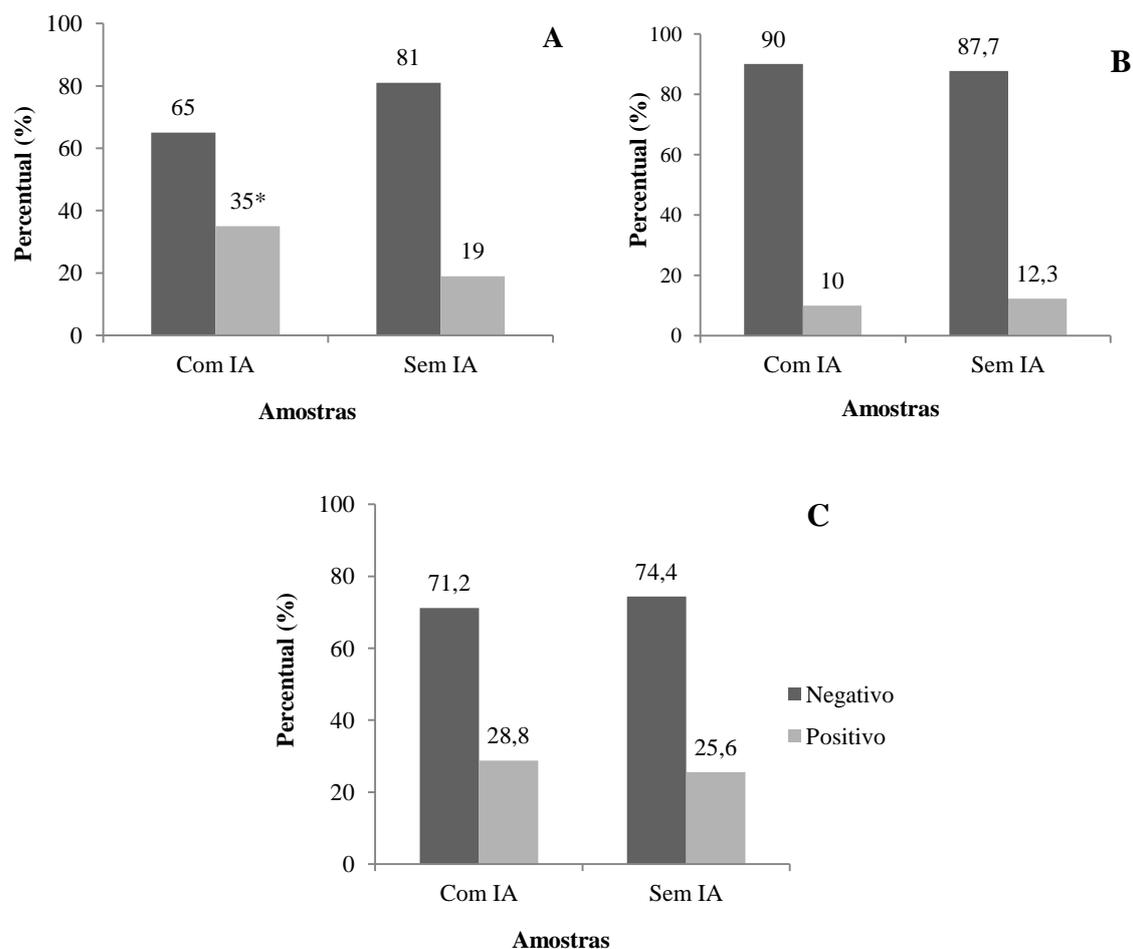


Figura 11: Perfil sorológico das amostras nas propriedades que realizavam manejo reprodutivo em relação a prática ou não de inseminação artificial na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C). * $P < 0,05$.

O percentual de positividade para a LEB das amostras pertencentes às propriedades das microrregiões estudadas foi de 27% (39/144) nas que realizam IA e de 17,9% (74/414) nas que não havia prática de IA (FIGURA 12). A prevalência da LEB foi estatisticamente inferior nas propriedades que não realizavam IA ($P < 0,05$).

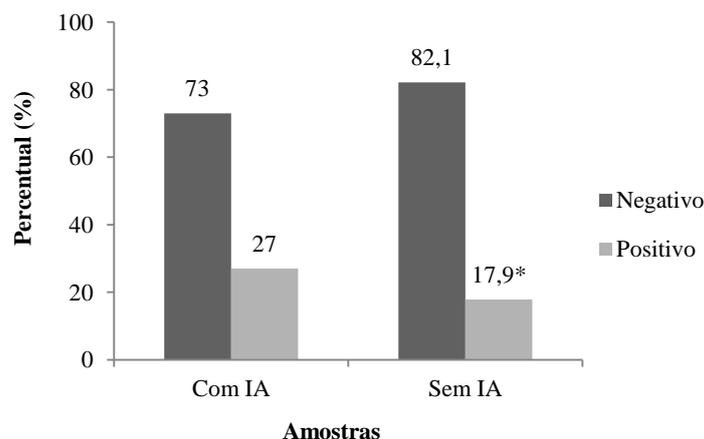


Figura 12: Perfil sorológico das amostras nas propriedades que realizavam manejo reprodutivo em relação a prática ou não de inseminação artificial de três microrregiões do Triângulo Mineiro. * $P < 0,05$.

A prevalência da LEB também foi avaliada em relação ao estado fisiológico dos animais (em lactação ou não) e ao tipo de ordenha realizado nas propriedades.

Ressalta-se que a colheita das amostras foi feita preferencialmente nos animais em lactação, porém em propriedades onde não havia animais nessa condição fisiológica coletou-se amostras de sangue de fêmeas não lactantes.

Na microrregião de Araxá foram colhidas 10,6% (25/236) das amostras em fêmeas não lactantes em duas propriedades, e 89,4% (211/236) das amostras em fêmeas lactantes em 21 propriedades. A positividade para a LEB nessas amostras foi: 12,0% (3/25) em não lactantes e 20,3% (43/211) em lactantes, sendo estatisticamente superior nas amostras de fêmeas lactantes ($P < 0,05$) (FIGURA 13A).

Na microrregião de Frutal foram colhidas 99,0% (244/247) das amostras de fêmeas lactantes em 24 propriedades, e 1,0% (3/247) das amostras de fêmeas não lactantes em uma propriedade. A positividade em fêmeas em lactação (10,7% (26/244)) foi estatisticamente superior ($P < 0,05$) em fêmeas solteiras. Essa categoria não apresentou soro reação (FIGURA 13B).

Na microrregião de Uberaba foram colhidas 80,0% (295/370) das amostras de fêmeas lactantes e 20,0% (75/370) das amostras de fêmeas não lactantes e a positividade para a LEB nas fêmeas lactantes (28,1 % (83/295)) foi estatisticamente superior ($P < 0,05$) à positividade das fêmeas não lactantes (12,0% (9/75)) (FIGURA 13C).

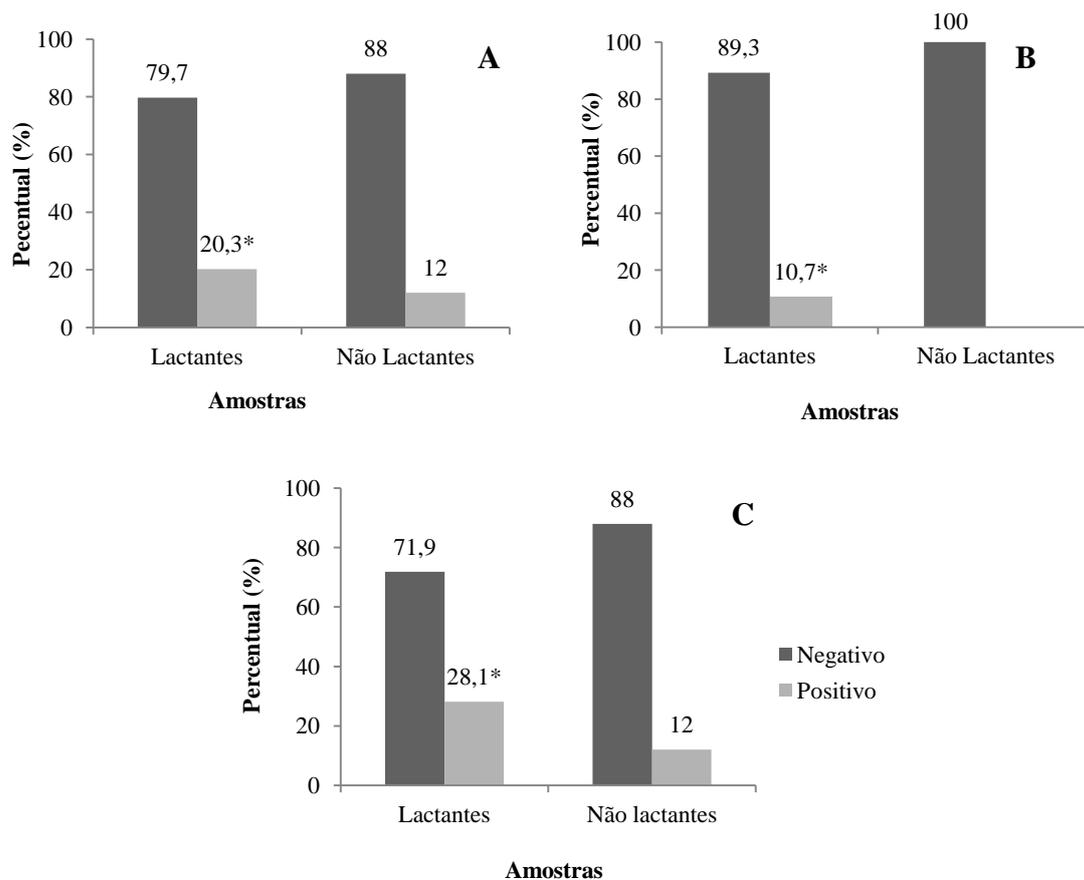


Figura 13: Perfil sorológico da LEB nas amostras colhidas segundo a condição de produção leiteira dos animais nas propriedades estudadas na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C). * $P < 0,05$.

Analisando o percentual de positividade nas amostras das três microrregiões em relação às fêmeas em lactação e não lactantes, notou-se que 20,3% (152/750) das fêmeas lactantes e 11,7% (12/103) das não lactantes apresentaram soro reação para LEB (FIGURA 14). Diferença estatisticamente significativa foi observada entre animais lactantes e não lactantes ($P < 0,05$).

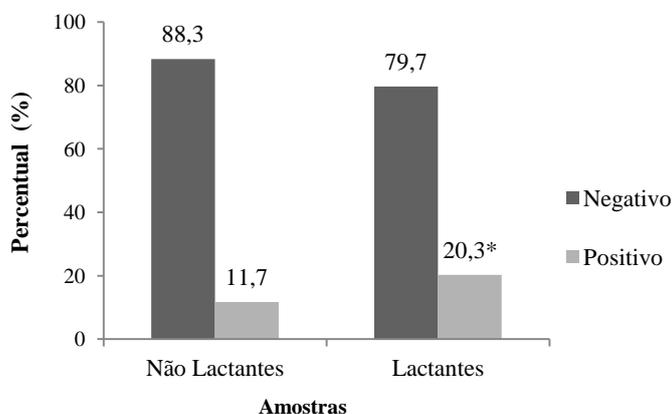


Figura 14: Perfil sorológico da LEB nas amostras colhidas segundo a condição de produção leiteira dos animais nas propriedades de três microrregiões do Triângulo Mineiro. * $P < 0,05$.

Em relação a fômites que podem veicular o VLB, o tipo de ordenha, os procedimentos com as luvas de palpação retal e a forma de utilização das agulhas na vacinação ou aplicação de medicamentos foram avaliados.

O percentual de propriedades da microrregião de Araxá, que realizavam ordenha manual, mecânica ou não realizavam ordenha, era, respectivamente, de 47,8% (11/23), 43,5% (10/23) e 8,7% (2/23). Pode-se observar que o percentual de positividade das amostras onde os animais eram submetidos à ordenha manual, mecânica e que não eram ordenhados foi respectivamente de: 12,1% (11/91), 28,2% (31/110) e 11,4% (4/35) (FIGURA 15A). A prevalência da LEB foi estatisticamente superior nas propriedades com ordenha mecânica ($P < 0,05$).

Em todas as propriedades da microrregião de Frutal havia ordenha. Em relação ao tipo de ordenha, em 79% (19/24) das propriedades utilizavam ordenha manual e 21% (5/24) ordenha mecânica. A positividade das amostras nas propriedades com ordenha manual e mecânica foi respectivamente de: 10,4% (20/193) e 11,1% (5/39). Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) em relação ao tipo de ordenha nessa microrregião (FIGURA 15B).

Na microrregião de Uberaba, em 54,2% (19/35) das propriedades a ordenha era manual e 22,8% (8/35) a ordenha era mecânica e em 22,8% (8/35) não havia ordenha. A positividade das amostras em relação ao tipo de ordenha foi de 23% (46/200) ordenha manual, 38,9% (37/95) ordenha mecânica e 12,0% (9/75) nas propriedades onde não havia ordenha (FIGURA 15C). A prevalência para LEB foi estatisticamente inferior ($P < 0,05$) nos animais pertencentes a propriedades que não realizavam ordenha.

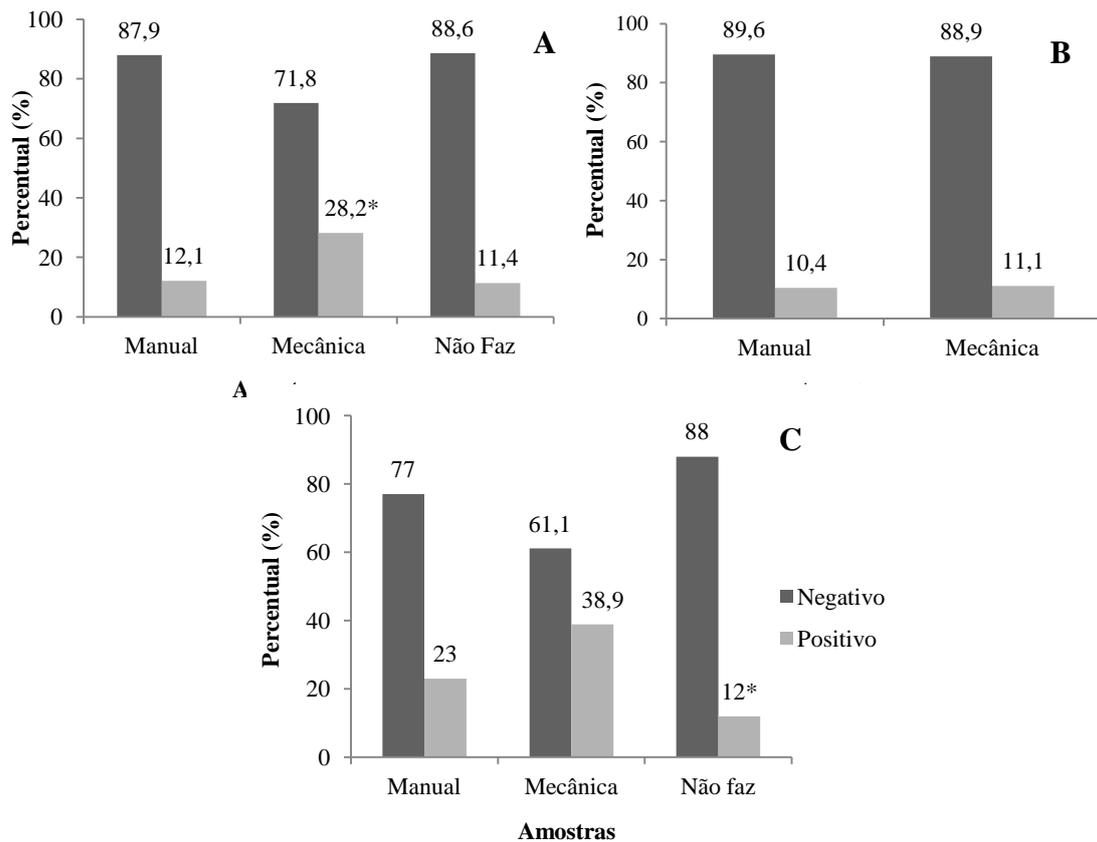


Figura 15: Perfil sorológico da LEB segundo o tipo de ordenha nas propriedades estudadas na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).

O percentual de positividade nas amostras das três microrregiões estudadas, em relação ao tipo de ordenha, foi: 28,5% (74/259) nas propriedades onde a ordenha era mecânica, 15,6% (75/481) nas que realizavam ordenha manual, e 12,4% (14/113) nas que não realizavam ordenha (FIGURA 16). A LEB foi estatisticamente inferior nos animais que não eram submetidos à ordenha ($P < 0,05$).

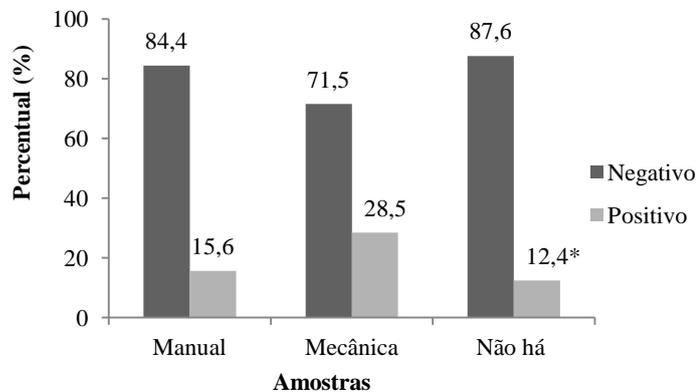


Figura 16: Perfil sorológico da LEB segundo o tipo de ordenha nas propriedades de três microrregiões do Triângulo Mineiro. * $P < 0,05$.

Em relação aos procedimentos com as luvas de palpação retal nas propriedades que praticavam o manejo reprodutivo dos animais na microrregião de Araxá, 6,2% (1/16) das propriedades reutilizavam luvas de palpação e 93,8% (15/16) não reutilizavam. O percentual de positividade para a LEB nas amostras pertencentes a propriedades que reutilizavam luvas foi de 60,0% (6/10) e estatisticamente superior ($P < 0,05$) a amostras pertencentes a propriedades que não reutilizavam luvas 18,2% (31/170) (FIGURA 17A).

Na microrregião de Frutal não havia reutilização de luvas de palpação retal nas propriedades estudadas com manejo reprodutivo dos animais.

Na microrregião de Uberaba, nas propriedades com manejo reprodutivo, 23,8% (5/21) reutilizavam luvas de palpação e 76,2% (16/21) não reutilizavam e não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre o percentual de positividade para a LEB nas amostras pertencentes a propriedades que reutilizavam luvas (20,0% (13/65)) ou não (26,0% (47/179)) (FIGURA 17B).

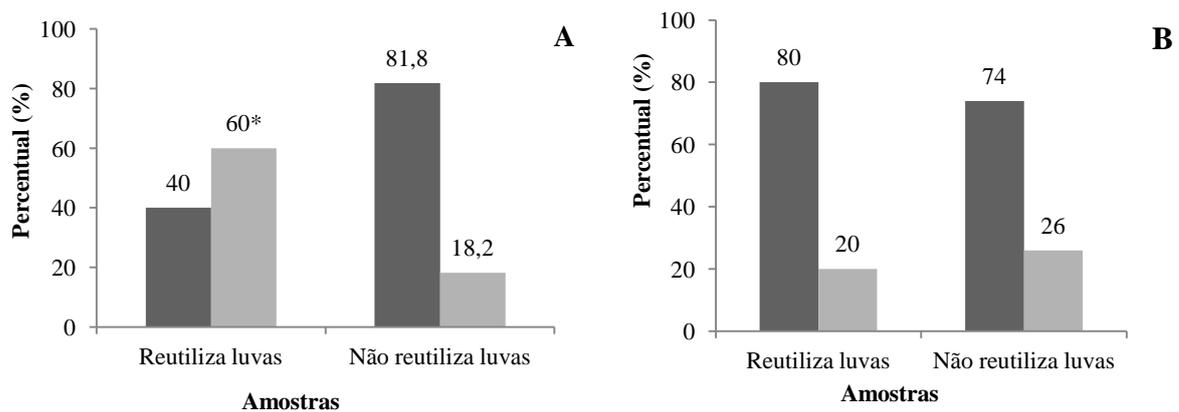


Figura 17: Perfil sorológico da LEB nas propriedades com manejo reprodutivo nas propriedades estudadas na microrregião de Araxá (A) e Uberaba (B), em relação ao procedimento com as luvas de palpação retal. * $P < 0,05$.

O percentual de positividade para LEB no total de amostras colhidas nas microrregiões estudadas, segundo a reutilização de luvas de palpação e o descarte das mesmas foi: 25,3% (19/75) reutilizavam e 18,2% (88/483) não reutilizavam (FIGURA 18). Não se observou diferença estatística em relação a esse procedimento sanitário ($P > 0,05$).

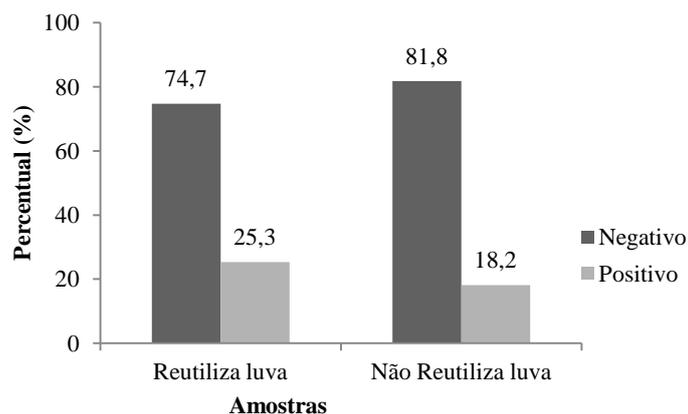


Figura 18: Perfil sorológico da LEB nas propriedades com manejo reprodutivo em relação ao procedimento com as luvas de palpação retal de três microrregiões do Triângulo Mineiro.

Em relação ao manejo com as agulhas na microrregião de Araxá, em 56,5% (13/23) das propriedades não havia a utilização de agulhas descartáveis, em 13,0% (3/23) havia a desinfecção das mesmas, 21,7% (5/23) trocavam a agulha a cada 10 animais e 8,7% (2/23) faziam uso de agulhas descartáveis. 19,8% (16/81) das amostras positivas para a LEB pertenciam a propriedades que não trocavam agulhas, 13,8% (9/65) nas que usavam agulhas descartáveis, 18,3% (11/60) nas que trocavam a cada 10 animais e 23,3% (7/30) nas que desinfetavam antes do uso (FIGURA 19A).

Na microrregião de Frutal não havia uso de agulhas descartáveis, ou mesmo desinfecção das mesmas após utilização nas propriedades estudadas: 44% (11/25) trocavam a agulha a cada 10 animais e 56% (14/25) utilizavam a mesma agulha para todos os animais. Observou-se 12,0% (16/133) de positividade para a LEB nos animais pertencentes a propriedades que não trocavam agulhas e 8,8% (10/114) nos animais pertencentes a propriedades que trocam a cada 10 animais (FIGURA 19B).

Na microrregião de Uberaba, 74,3% (26/35) das propriedades não faziam descarte das mesmas, em 5,7% (2/35) desinfetavam antes da utilização a cada animal, 14,3% (5/35) trocavam a agulha a cada 10 animais e 5,7% (2/35) faziam uso de agulhas descartáveis. A positividade para LEB nas amostras, em relação à forma de utilização das agulhas, foi: 58,2% nas propriedades que não faziam descarte (32/101), 5,3% (1/19) nas que desinfetavam antes da utilização a cada animal, 21,8% (12/55) nas que trocavam a agulha a cada 10 animais e 0% nas que faziam uso de agulhas descartáveis (0/15) (FIGURA 19C).

Não houve diferença estatística significativa entre os procedimentos realizados com as agulhas ($P > 0,05$) em nenhuma das microrregiões avaliadas.

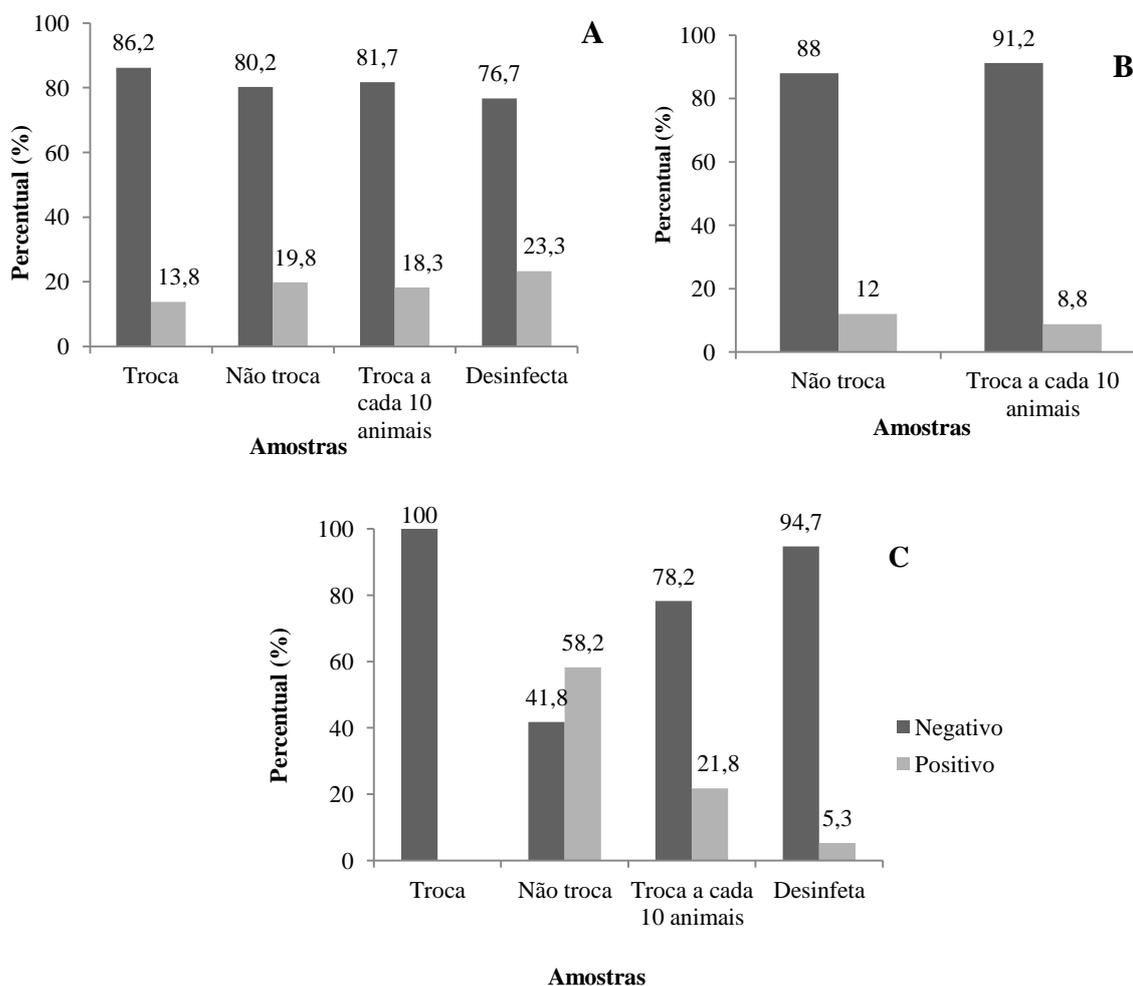


Figura 19: Perfil sorológico da LEB nas amostras das propriedades, segundo a forma de utilização das agulhas para vacinação e/ou aplicação de medicamentos na microrregião de Araxá (A), Frutal (B) e Uberaba (C).

Quanto ao perfil sorológico dos animais, nas três microrregiões estudadas, nas propriedades que não trocavam as agulhas 22,6% (112/495) das amostras foram positivas. Nas propriedades em que os proprietários descartavam as agulhas, 11,3% (9/80) das amostras foram positivas. O percentual de positividade das amostras nas propriedades onde havia a troca das agulhas a cada 10 animais foi de 14,4% (33/229), e onde havia a desinfecção foi de 16,3% (8/49) (FIGURA 20). Não se observou diferença estatística em relação à positividade da LEB em relação aos procedimentos com as agulhas ($P < 0,059$).

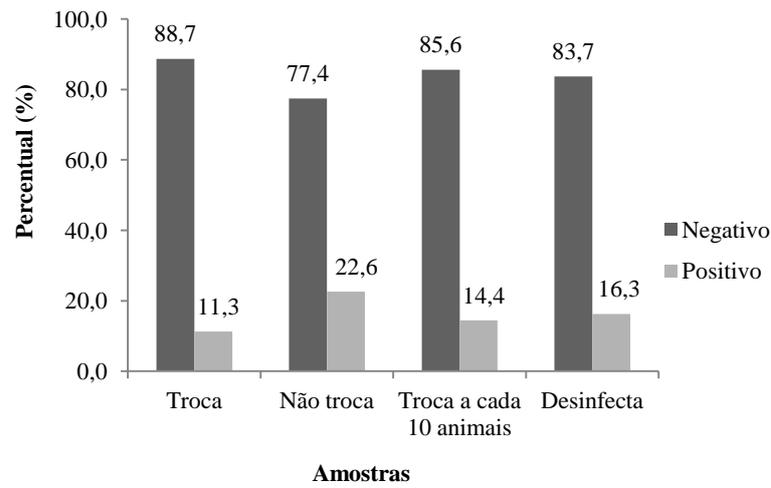


Figura 20: Perfil sorológico da LEB nas amostras das propriedades, segundo a forma de utilização das agulhas para vacinação e/ou aplicação de medicamentos de três microrregiões do Triângulo Mineiro.

6. DISCUSSÃO

No estudo realizado nas microrregiões do Triângulo Mineiro, o índice de positividade encontrado (19%) foi inferior ao estimado para o Brasil, pois, segundo Fernandes et al. (2009), a prevalência estimada é de 23,7%. A prevalência observada no estudo classifica as microrregiões estudadas do Triângulo Mineiro com prevalência média (11-30%), segundo a classificação dos índices de prevalência para LEB descrita por Shettigara et al. (1986), na qual prevalência é baixa quando for menor que 11%, média quando ficar em 11 e 30%) e alta quando for maior que 30%.

Apesar dos prejuízos causados, poucos são os trabalhos que relatam a prevalência da LEB, no estado de Minas Gerais. Os últimos relatos referentes à prevalência da LEB nesse estado são datados de 1984 e 2002 (LEITE et al., 1984; MODENA et al., 1984, CAMARGOS et al., 2002) e revelaram prevalência da doença variando de 1,7 a 38,7 (RAJÃO et al., 2012).

Comparando-se individualmente as prevalências das microrregiões de Araxá (19%), Frutal (10,5%) e Uberaba (25%) pode-se notar que a prevalência em Uberaba foi superior à média estimada para o Brasil (23,7%) e seguindo a classificação de Shettigara et al. (1986), Uberaba e Araxá tem prevalência média (11-30%) para LEB enquanto Frutal apresenta baixa prevalência (<11%).

As prevalências encontradas para LEB nas microrregiões do Triângulo Mineiro, Araxá e em Frutal foram inferiores aos índices encontrados por Moraes et al. (1996) no Rio Grande do Sul (23,5%), Barros Filho et al. (2010) no Paraná (56,34%), Leite et al. (1984) no Rio de Janeiro (53,3%), Megid et al. (2003) em São Paulo (51,8%), Modena et al. (1984), em Minas Gerais (27,0%), Andrade e Almeida (1991) em Goiás (35,9%), Fernandes et al. (2009) em Tocantins (37,0%), Mendes et al. (2011) em Pernambuco (32,2%), Abreu et al. (1990) em Rondônia (23,0%,) e Molnár et al. (1999) no Pará (26,0%).

A prevalência da LEB nas microrregiões do TM (19,0%) foi menor comparando-se com os estudos encontrados por Fernandes et al. (2009) no estado do Tocantins e Barros Filho et al. (2010) no estado do Paraná, onde trabalharam, respectivamente, rebanhos de exploração leiteira criados em regime semi-intensivo e com intensa rotatividade de animais, e somente bovinos leiteiros e criados em regime semi-intensivo. Nas microrregiões do TM estudadas foram trabalhadas as propriedades independente do tipo de exploração e atividade principal desenvolvida.

Os índices de positividade para LEB nas microrregiões do Triângulo Mineiro, em Araxá e em Uberaba foram superior aos dos estados de Santa Catarina (7,6%) (LURDES, 2001), Paraíba (8,3%) (SIMÕES, 1998), Piauí (16,9%) (SILVA, 2001), Rio Grande do Norte (5,1%) (SIMÕES et al., 2001), Alagoas (10,6%) (BIRGEL et al., 1999), Acre (9,0%) (ABREU et al., 1990) e Amazonas (9,6%) (CARNEIRO et al., 2003).

Segundo Carneiro et al. (2003), o frequente trânsito de animais entre propriedades intra ou interestadual corroboram para o aumento da LEB. E segundo Fernandes et al. (2009) a maior frequência da LEB ocorre em rebanhos com animais provenientes do comércio, de exposição e leilão. O trânsito intenso de animais favorece a transmissão horizontal.

Analisando a positividade em propriedades que possuíam no mínimo um animal positivo, observa-se que a prevalência nas microrregiões do Triângulo Mineiro estudadas era elevada (79,5%), e superior a encontrada por Sponchiado (2008) no estado do Paraná que observou prevalência de 72,73% de propriedades positivas. Essa prevalência também foi superior em Uberaba (85,7%) e Araxá (78,3%).

Segundo informações obtidas no IMA (2011), existe trânsito intenso de animais na microrregião de Uberaba onde ocorrem, em média, de três a quatro leilões semanais, com a participação de gado de corte e leite e durante as exposições ocorrem, em média, 120 leilões ao todo, com a participação de animais oriundos, principalmente, dos estados de São Paulo (prevalência LEB 51,8%), Rio de Janeiro (prevalência LEB 53,3%), Goiás (prevalência LEB 35,9%) e Tocantins (prevalência LEB 37,0%), estados em que a prevalência da LEB é elevada (MEGID et al., 2003; LEITE et al., 1984; ANDRADE; ALMEIDA, 1991; FERNANDES et al., 2009). Essa movimentação pode ter contribuído para a introdução do vírus na região, principalmente na microrregião de Uberaba, pois, segundo Rajão et al. (2012), Carneiro et al. (2003) e Fernandes et al. (2009), a movimentação e a alta rotatividade de animais contribui para a disseminação do vírus da leucose nos rebanhos através da introdução de um animal doente .

Outro ponto importante a ser observado se refere à idade dos animais estudados (acima de 24 meses), pois segundo Birgel Júnior et al. (1995) as faixas etárias mais elevadas apresentam maior prevalência para LEB devido a exposição continuada ao risco de infecção com o passar dos anos e, segundo Rajão et al. (2012), a prevalência de anticorpos contra o VLB aumenta de uma maneira gradativa, de forma significativa, em animais com idade maior que 12 meses. Neste contexto, apesar dos animais estudados estarem dentro da faixa etária que favorece a exposição ao VLB e apresentarem anticorpos contra o vírus, não foram observados sinais clínicos, corroborando com as afirmações de Kabeya (2001), que os

animais podem ficar assintomáticos por um longo período após a infecção e com as afirmações de Radostits et al. (2002) para quem o animal, com a forma benigna da doença, pode viver muitos anos sem apresentar outros sinais.

Segundo Bitencourt e Lima (2008), a pecuária leiteira vem se destacando e substituindo a pecuária de corte na região, por receber investimentos relacionados à genética bovina, construções de silos para forragens e tanques de resfriamento de leite. Apesar da baixa prevalência encontrada no estudo (19%), pode-se inferir que o desenvolvimento da pecuária leiteira na região (74% das propriedades estudadas eram de leite) desencadeará o aumento da LEB. Isso já pode ser observado quando se avalia a prevalência da LEB nas propriedades estudadas (79,5% de propriedades positivas), pois o índice de positividade foi maior nas amostras de propriedades com fêmeas em lactação (20,3% positivas).

Essa situação se compara ao estado de Tocantins onde nas décadas de 80-90 a principal atividade era corte e, a partir do novo milênio, há constante crescimento da pecuária leiteira, que pode estar associado aos índices de positividade alcançados nesse estado (FERNANDES et al., 2009).

A prevalência da LEB nas microrregiões do Triângulo Mineiro estudadas foi maior em rebanhos mistos (28,0%) corroborando com Honma et al. (1980), cujo levantamento realizado no Japão, encontraram 32,2% de positividade em rebanhos de corte submetidos ao pastoreio comunitário, durante os meses do verão, o que permitiu concluir que a proximidade entre animais e/ou rebanhos, independente da finalidade da exploração, favoreceu a transmissão horizontal. Isso pode ter favorecido a maior ocorrência em rebanhos mistos observados nos estudos.

No estudo, a prevalência de animais positivos para a LEB foi maior em propriedades com sistema intensivo (40,0%) que realizavam manejo reprodutivo como IA (27,0%) e possuíam ordenha mecânica (28,2% na microrregião de Araxá). Esses resultados corroboram com Rajão et al. (2012) e Barros Filho et al. (2010), para quem as práticas de manejo, a manipulação frequente dos animais criados em sistema intensivo e de alta tecnificação facilitam a disseminação do VLB e dificultam o controle da infecção.

A ordenha interferiu diretamente na prevalência da LEB nas microrregiões estudadas do Triângulo Mineiro, pois, nas propriedades onde não havia ordenha, a prevalência da LEB foi menor (12,4%), bem como em Araxá (11,4%) e Uberaba (12,0%). Segundo Rajão et al. (2012) maiores taxas de prevalências foram encontradas nos rebanhos com mais tecnificação e confirmam a relação entre o sistema de criação e a prevalência da LEB.

Flores et al. (1992) no Estado do Rio Grande do Sul relataram que quanto maior a tecnificação da propriedade maior seria a prevalência da doença, pois mais intensas são as práticas de manejo realizado nos animais aumentando, assim, o risco de transmissão da doença.

Segundo Birgel Júnior et al. (2006) fômites contaminadas, como: equipamentos de ordenha, agulhas e luvas na palpação retal favorecem a transmissão do VLB. Porém, não se observou correlação positiva entre a prevalência da LEB nas propriedades que faziam ou não descarte de agulhas e luvas de palpação retal nas microrregiões do Triângulo Mineiro. Apesar da não correlação, não se pode descartar a possibilidade de ser responsáveis pela transmissão do vírus dos animais positivos para os susceptíveis, pois segundo Johnson e Kaneene (1992) esses materiais veiculam o VLB. Na microrregião de Araxá observou-se diferença estatística significativa em relação à prevalência da LEB nas propriedades que reutilizavam luvas de palpação retal.

A menor prevalência da LEB nos animais da microrregião de Frutal (10,5%) pode ser justificada pelo sistema de criação, pois nas propriedades estudadas não havia manejo intensivo o que impossibilitou a propagação do vírus dentro do mesmo rebanho (menos stress, contato entre animais e menor manipulação do rebanho).

Comparando as microrregiões de Araxá e Uberaba, na última a prevalência de animais positivos foi superior, devido aos fatores: tipo de atividade (mista) e sistema de manejo (intensivo) o que não havia na microrregião de Araxá.

Segundo Fernandes et al. (2009), a falta de informação sobre a doença ou o descaso dos próprios médicos veterinários e proprietários sobre a LEB, associada a perdas econômicas pouco visíveis e diretas, como aqueles que ocorrem com outras doenças como Brucelose e Tuberculose, além dos efeitos negativos advindos da pouca estrutura de órgãos oficiais competentes envolvidos com a sanidade animal potencializam a disseminação da doença.

Segundo Rajão et al. (2012), a Dinamarca e a Alemanha iniciaram um controle da LEB através das chaves leucométricas e posteriormente erradicaram a doença com uso das provas imunossorológicas. Segundo os autores, a prevenção e o controle da LEB só serão alcançados quando medidas sanitárias profiláticas forem aplicadas de uma forma que englobe todos os rebanhos bovinos, principalmente os leiteiros.

Nesse contexto, o estabelecimento de um programa de prevenção e controle da doença no Triângulo Mineiro se faz necessário. Esse programa deverá ser embasado em inquéritos sorológicos, controle do trânsito de animais, principalmente o controle interestadual, exigência de atestados negativos dos animais para participação de leilões e exposições,

controle sanitário nos abatedouros quando da presença de alterações macroscópicas (linfossarcomas). Essas medidas, associadas a uma supervisão sanitária permanente dos rebanhos, poderá evitar a disseminação da LEB e de outras enfermidades que podem ocorrer devido a depressão no sistema imunológico dos animais positivos.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- a Leucose Enzoótica Bovina está presente em três microrregiões do Triângulo Mineiro Uberaba (25%), Araxá (19,5%) e Frutal (10,5%);

- a prevalência média da LEB em três microrregiões do Triângulo Mineiro (19%) está abaixo da média nacional;

- a disseminação da doença dentro do rebanho está relacionada à manipulação dos animais, principalmente ao uso de ordenha e prática de IA, e relacionada ao sistema de manejo intensivo e semi-intensivo na propriedade;

- a falta de conhecimento sobre a LEB, pelos produtores contribui para a disseminação da doença na região;

- medidas de controle e supervisão sanitária permanente dos rebanhos devem ser implantadas na região para evitar a disseminação do VLB.

As informações referentes à falta de conhecimento sobre a doença e seu manejo sanitário pelos produtores rurais e funcionários (94%) permitem inferir que haverá um aumento da disseminação do VLB ocorrerá no Estado de Minas Gerais.

Como se pode notar a doença está disseminada nas microrregiões do Triângulo Mineiro como Araxá, Frutal e Uberaba e, portanto, justifica o desenvolvimento de programas que possam controlar a LEB e maior rigor no cumprimento das exigências estabelecidas pelos órgãos oficiais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, V. L. V.; SILVA, J. A.; MODENA, C. M.; MOREIRA, E. C. Prevalência da Leucose Enzoótica Bovina nos Estados de Rondônia e Acre. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 42, n. 3, p. 203-210, 1990.

AGOTANI, J. V. B. **Leucose Enzoótica Bovina: Diagnóstico, Prevenção e Controle**. In: VETERINARIA PREVENTIVA. [ONLINE], 2012. Disponível em: <www.veterinariapreventiva.com.br/leucose.htm>. Acesso em: 11 jul. 2012.

ALENCAR FILHO, R. A. Imunodifusão como recurso diagnóstico da leucemia linfática crônica em bovinos. **O Biológico**, São Paulo, v. 44, p. 27-28, 1978.

ALVES, G.B.; SILVA, H. T.; MAGALHÃES, M. G. Leucose Bovina, um enfoque nos principais meios de diagnóstico. **V & Z em Minas**, Belo Horizonte, n. 108, p. 15-22, jan/fev/mar., 2011.

ANDRADE, J. R. A.; ALMEIDA, M. M. R. Prevalência da Leucose Enzoótica Bovina na Bacia Leiteira de Goiânia, Goiás. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 10, n. 60, p. 49-53, 1991.

BARROS FILHO, I. R.; GUIMARÃES, A. K.; SPONCHIADO D.; KRÜGER, E.R.; WAMMES, E.V.; OLLHOFF, R.D. ; DORNBUSCH, P.T. ; BIONDO A.W. Soroprevalência de anticorpos para o Vírus da leucose enzoótica em bovinos criados na região metropolitana de Curitiba, Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 511-515, 2010.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; D'ANGELO, J. L.; 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**, Brasília, 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**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2006.

BIRGEL, E. H.; AYRES, M. C. C.; BIRGEL JUNIOR, E. H. Prevalência de anticorpos séricos antivírus da leucose enzoótica dos bovinos, em animais criados na bacia leiteira do estado de Alagoas, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 3., 1999. São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 66, suppl., p. 129, 1999.

BITENCOUT, G. M.; LIMA, J. E. **Perfil do Desenvolvimento Rural dos Municípios da Mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba**. 2008. Dissertação (Mestrando em Economia Aplicada) - Departamento de Economia Rural da UFV, Viçosa, 2012. Disponível em: <http://web.cedeplar.ufmg.br/cedeplar/seminarios/ecn/ecn-mineira/2012/arquivos/Perfil%20do%20Desenvolvimento%20Rural.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2013.

BRAGA, F. M.; LAAN, C. W. V.; SCHUCH, L. F.; HALFEN, C. Infecção pelo vírus da Leucose Enzoótica Bovina (BLV). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 1, 1998.

CAMARGOS, M. F.; MELO, C. B.; LEITE, R. C.; STANCEK, D.; LOBATO, Z. I. P.; ROCHA, M. A.; SOUZA, G. N.; REIS, J. K. P. Frequência de soropositividade para Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos de Minas Gerais. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 5, p. 20-26, 2002.

CARNEIRO, P. A. M.; ARAUJO, W. P.; BIRGEL, E. H.; SOUZA, K. W. Prevalência da Infecção pelo Vírus da Leucose dos Bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado do Amazonas, Brasil. **Acta-Amazonica**, Manaus, v. 33, n. 1, p. 111-125, 2003.

CEPANZO. Centro Panamericano de Zoonosis. Procedimentos para estudios de prevalencia por muestro. Buenos Aires, **Nota técnica**, 18, rev. 1, 1979. 35 p.

COCKERELL, G. L.; REYES, R. A. Bovine Leukemia Virus-Associated Lymphoproliferative Disorders. In: SCHALM, O. W.; FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Lippincott: Williams & Williams, 2000. p. 614-619.

FERNANDES, C. H. C.; MELO, L. E. H.; TENÓRIO, T. G.; MENDES, E.I.; FERNANDES, FERNANDES, A. C. de; RAMALHO, T.R.R.; MOURA SOBRINHO, P.A.; MOTA, R.A. Soroprevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da Leucose Bovina dos bovinos em rebanhos leiteiros da região Norte do estado do Tocantins, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 237-334, 009.

FERRER, J. F. Bovine leukosis: Natural transmission and principles of control. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 175, n. 12, p. 1281-1286, 1979.

FLORES, E.F; WEIBLEN, R. OLIVEIRA, C.; KREUTZ, L.C. Anticorpos contra o vírus da Leucose bovina (VLB) em soro de bovinos provenientes da Republica Oriental do Uruguai. **A Hora Veterinária**, Porto alegre, v. 12, n. 68, p. 5-8, 1992.

FLORINS, A.; BOXUS, M.; VANDERMEERS, F.; VERLAETEN, O.; BOUZAR, A.; DEFOICHER, J.; HUBAUX, R.; BURNY, A.; KETTMANN, R.; WILLEMS, L. Emphasis on cell turnover in two hosts infected by bovine leukemia virus: rationale for host susceptibility to disease. **Science Direct**, Gembloux, Belgium, Veterinary Immunology and Immunopathology , v. 125, p. 1-7, 2007.

GUILLET, N.; FLORINS, A.; BOXUS, M.; BURTEAU, C.; NIGRO, A.; VANDERMEERS, F.; BALON, H.; BOUZAR, A.; DEFOICHE, J.; BURNY, A.; REICHERT, M.; KETTMANN, R.; WILLEMS, L.; Mechanisms of leukemogenesis by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. **Retrovirology**, Gembloux, Belgium, v. 4, n. 18, p. 14-18, 2007.

HONMA, T.; ONUMA, M.; MIKAMI, T.; IZAWA, H. Bovine leukemia virus infection in Japan: antibody and virus detection in cattle. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 42, p. 5-8, 1980.

IMA - INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Sistema de Defesa Agropecuária, SIDAGRO**. 2011. Disponível em: <http://200.198.28.118/sidagro/menu.wsp?wi.redirect=KKQWL3REQDSIAW57_LWY8>. Acesso em: 10 jul. 2011.

JOHNSON, R.; KANEENE, J. B. Bovine Leukemia Virus and Enzootic Bovine Leukosis. **Veterinary Bulletin**, Farnham Royal, v. 62, n. 4, p. 287-311, 1992.

KABEYA, H.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Host Immune Response in the Course of Bovine Leukemia Virus Infection. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 63, n. 7, p.703-708, 2001.

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**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 47-57, 1984.

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

LEUZZI JUNIOR, L. A.; GUIMARÃES 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 Veterinária**, Niterói, 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. 30 f. Dissertação - (Mestrado em Ciências Agroveterinária/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 da Leucose Enzoótica Bovina na microrregião da Serra de Botucatu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 5, p. 645-646, 2003.

MENDES, E. I.; MELOS, L. E. H.; TENÓRIO, T. G. S.; SÁ, L. M. Intercorrência entre leucose enzoótica e tuberculose em bovinos leiteiros do estado de Pernambuco. **Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v. 78, n. 1, p. 1-8, 2011.

MILLER, J. M.; VAN DER MATTEN, M. J. Sorologic detection of Bovine Leukemia Virus infection. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 31, p. 47-55, 1976.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Brucelose e Tuberculose em Bovinos e Bubalinos: estudo epidemiológico. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT)**, Brasília, 2010.

MODENA, C. M.; GOUVEIA, A. M. G.; AZEVEDO, N. A.; SILVA, J. A.; VIANA, F. C.; REHFELD, O. A. M. Leucose Enzoótica Bovina: I - prevalência em rebanhos de alta linhagem no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 39-45, 1984.

MOLNÁR, E.; MOLNÁR, L.; DIAS, H. T.; SILVA, A. O. A.; VALE, W. G. Ocorrência de leucose enzoótica dos bovinos no Estado do Pará, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 171-175, 1999.

MORAES, P. M.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F.; OLIVEIRA, J.C.D.; REBELATTO, M.C.; ZANINI, M.; RABUSKE, M.; HUBNER, S.O.; PEREIRA, N.M. Levantamento sorológico da infecção pelo vírus da Leucose Bovina nos rebanhos leiteiros do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 257-262, 1996.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **International Animal Health Code**. Paris: OIE, 2001. Disponível em: <<http://www.oie.int/Norms/MCode/htm>>. Acesso em: 03 mar. 2012.

PELZER, K. D. Economics of bovine leukemia virus infection. **Veterinary Clinics of North American Animal Food Practice**, Philadelphia, v. 13, p. 129-141, 1997.

PEREIRA, P. L. L. **Estudo Epidemiológico da Febre Aftosa no contexto pecuário do Triângulo Mineiro**. 1986. Tese (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1986. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUOS-8R3JVW/disserta__o_de_mestrado_de_pedro_l_cio_l_pereira.pdf?sequence=1>. Acesso em: 31 mar. 2013.

POETA, P.; COELHO, A. C.; RODRIGUES, J. Situação epidemiológica da leucose bovina enzoótica em Portugal entre os anos de 1995 e 2005. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 5, p. 1250-1254, 2008.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Caprinos e Equinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.1641-1642.

RAJÃO, S. D.; HEINEMANN, M.B.; LEITE, R.C.; REIS, J.K.P. Leucose Enzoótica Bovina. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, n. 64, p. 60-72, 2012.

RANGEL, N. M.; MACHADO, A. V. Contribuição à oncologia comparada em Minas Gerais. **Arquivos da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 1, p. 84-96, 1943.

SHETTIGARA, P. T.; SA, A.; GURGEL, H. 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**, Canada, v. 50, n. 2, p. 221-226, 1986.

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**. 101p. 2008. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SILVA, S. V. **Leucose Enzoótica dos Bovinos. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da Leucose dos Bovinos em rebanhos cruzados – holandês/ zebu e em animais da raça Pé-duro, criados no Estado do Piauí**. 2001. 176 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SIMÕES, S. V. D. **Leucose Enzoótica dos Bovinos. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da Leucose dos Bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado da Paraíba**. 1998. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

SIMÕES, S. V. D.; BIRGEL, E. H.; BIRGEL JUNIOR, E. H., AYRES, M. A. C. Prevalência da leucose bovina em animais criados no estado do Rio Grande do Norte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 4., Campo Grande, 2001. **Anais...** Campo Grande, 2001.

STATSOFT. **Statistics for Windows 7.0**. Tulsa, OK: Statsoft, Inc. 2008.

SUGIMOTO, M.; OHISHI, K.; IKAWA, Y. Role of cell-mediated immunity in bovine leukemia (BLV) infection in ruminants: its implication for the vaccination strategy against retrovirogenesis. **Ther. Immunology**, v. 1, n. 5, p. 297-301, 1994.

TÁVORA, J. P. F.; BIRGEL, E. H. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose bovina em rebanhos leiteiros criados na região de Pólo Itabuna, Estado da Bahia. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, Salvador, v. 14, n. 1, p. 164-83, 1991.

**ANEXO A - NORMAS INTERNACIONAIS DA ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE
SAÚDE ANIMAL**

**Normas Internacionais da Organização Mundial de Saúde animal
Código Sanitário para Animais Terrestres**

CAPÍTULO 11.9.

LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA

ARTIGO 11.9.1.

Disposições Gerais

Os padrões para testes de diagnóstico são descritos no Manual Terrestre.

Para os fins deste capítulo, animais sensíveis incluem os seguintes gado (*Bos indicus* e *Bos taurus*).

ARTIGO 11.9.2.

País ou Zona livre de Leucose Enzoótica Bovina

1. Qualificação

Para se qualificar como livre de Leucose Enzoótica Bovina (LEB), um país ou zona devem cumprir os seguintes requerimentos, por pelo menos 3 anos:

- a) Todos os tumores suspeitos de linfossarcomas devem ser notificados à Autoridade Veterinária e sempre examinados em laboratórios usando-se técnicas diagnósticas adequadas;
- b) Todos os animais que apresentarem tumores, nos quais tenha se confirmado, ou não se possa descartar a LEB, devem ser identificados com relação ao rebanho em que foram mantidos desde o nascimento; todos os bovinos acima de 24 meses de idade deste rebanho devem ser submetidos a testes individuais para a LEB;
- c) 99,8% dos rebanhos, pelo menos, devem estar qualificados como livres da LEB.

2. Manutenção da condição de livre

Um país ou zona livre de Leucose Enzoótica Bovina manterá sua condição se:

a) Realizado inquérito sorológico todos os anos a partir de uma amostra aleatória da população bovina do país ou zona para proporcionar uma chance de 99% de detecção da doença, se a sua prevalência no rebanho é mais do que 0,2% do rebanho;

Todo o gado importado, exceto os de abate, devem estar em conforme com as cláusulas de Artigo 11.9.5.;

b) Todo sêmen e embriões / óvulos bovinos importados devem cumprir as condições estabelecidas nos artigos 11.9.6. e 11.9.7. respectivamente.

ARTIGO 11.9.3.

Propriedade livre de Leucose Enzoótica Bovina

1. Qualificação

Para se qualificar como livre de EBL, a propriedade deve cumprir as seguintes condições:

Todo rebanho da propriedade deve cumprir com os requisitos do artigo 11.9.4., e

a) Todos os animais introduzidos na propriedade, devem ser oriundos de um rebanho livre de LEB;

b) Todo sêmen e embriões / óvulos de bovinos introduzidos no rebanho após o primeiro teste deve cumprir as condições a que se referem, respectivamente, os artigos 11.9.6. e 11.9.7.;

b) O rebanho deve ser gerido no âmbito de um plano de biossegurança comum que responde ao previsto nas Seções 4.3.3. e 4.4.3. e para proteger o gado do contato com o vírus da LEB que poderia resultar da introdução de animais infectados, ou produtos ou aqueles materiais derivados, ou por certas práticas, tais como vacinas ou outras injeções, coleta de sangue ou outras amostras biológicas, chifres, fibrilação marca, diagnóstico de gravidez, etc;

c) Autoridade Veterinária irá aprovar a propriedade de acordo com as disposições dos capítulos 4.3. e 4.4.

2. Manutenção da condição livre

Uma propriedade irá manter a sua condição de livre de LEB se todo rebanho forem mantidos livres da doença nos termos do Artigo 11.9.4. e se vigilância específica aplicada de acordo com as disposições do artigo 4.4.5. não detectar o patógeno.

3. Suspensão e restauração da condição livre

Se um rebanho bovino livre de LEB dá um resultado positivo num teste de diagnóstico para a detecção da doença, tal como descrito no Manual Terrestre, terá suspensa a classificação da propriedade até que todo o rebanho recupere o status de livre da doença nos termos do artigo 11.9.4. e que se restitua a classificação da propriedade nas seguintes medidas segundo descrito nos capítulos 4.3. e 4.4:

ARTIGO 11.9.4.

Rebanho livre de Leucose Enzoótica Bovina

1. Qualificação

Para se qualificar como livre de LEB, um rebanho bovino deve satisfazer as seguintes condições:

- a) Nenhum gado deve mostrar sinais de LEB em exames clínicos, autópsias ou testes de diagnóstico para a detecção da doença durante os últimos dois anos;
- b) Todos os bovinos com mais de 24 meses de idade devem ter resultados negativos em dois testes de diagnóstico para a detecção da LEB feito com um intervalo mínimo de quatro meses, durante os últimos 12 meses;
- c) Os bovinos introduzidos no rebanho após o primeiro teste ter cumprido as condições referidas no artigo 11.9.5.;
- d) Sêmen e embriões / óvulos de bovinos introduzidos no rebanho após o primeiro teste ter cumprido as condições referidas no artigo 11.9.6. e Seção 11.9.7. respectivamente.

2. Conservação da condição

Um rebanho livre de LEB mantém seu status, se todos os bovinos com mais de 24 meses de idade obtêm testes negativos de diagnóstico para a detecção da LEB, feitas com um intervalo máximo de 36 meses, e se ainda preenche as condições estabelecidas nos pontos 1 a), 1 c) e 1 d) acima.

3. Suspensão e restituição da classificação

Se algum bovino de um rebanho livre der de resultado positivo em um teste de diagnóstico para a detecção da doença, tal como descrito no Manual Terrestre, será suspenso e o status não recuperado recuperado, a menos que:

- a) Bovinos que apresentaram reação positiva e sua progênie desde o último teste negativo, devem ser removidos do rebanho imediatamente; entretanto, qualquer animal dentro da

progênie que tenha sido testado por PCR, com resultados negativos, (em estudo) pode permanecer no rebanho;

b) Os animais restantes devem ser submetidos a teste de diagnóstico para LEB, executado como descrito no ponto 1b) acima, com resultados negativos, pelo menos 4 meses após a remoção dos animais positivos e sua progênie.

ARTIGO 11.9.5.

Recomendações para a importação de bovinos destinados a reprodução e cria

Autoridades Veterinárias dos países importadores devem exigir a apresentação de um certificado veterinário internacional atestando que os animais:

1. venho de um país, zona ou compartimento livre de EBL, ou
2. vêm de um rebanho livre de EBL, ou
3. atender às três condições seguintes:
 - a) mantido em um rebanho em que:
 - i. animais não apresentaram sinais de EBL em exames clínicos, autópsias ou testes de diagnóstico para a detecção da doença durante os últimos dois anos;
 - ii. todos os animais com mais de 24 meses de idade foram submetidas a testes de diagnóstico para a detecção do EBL feita a partir de amostras de sangue que foram tiradas com um intervalo mínimo de quatro meses, durante os últimos 12 meses, ou introduzidos uma unidade de isolamento aprovado pela Autoridade Veterinária e foram submetidos a testes de diagnóstico, com um intervalo mínimo de quatro meses, durante a sua estadia nesta unidade;
 - b) foram submetidos a um teste de diagnóstico para a detecção de EBL durante os 30 dias anteriores à expedição;
 - c) se a menos de dois anos de idade, descendente de 'uterino' mães que foram submetidos a um teste de diagnóstico para a detecção de EBL feita a partir de amostras de sangue que foram levados a um intervalo mínimo de quatro meses, durante os 12 últimos meses.

ARTIGO 11.9.6.

Recomendações para a importação de semen de bovinos

As Autoridades Veterinárias dos países importadores devem exigir a apresentação de um certificado veterinário internacional atestando que:

1. O touro que forneceu o sêmen permaneceu em um rebanho livre de LEB, no momento da coleta, e
2. O touro que forneceu o sêmen deve ter menos de dois anos de idade, e filho de mãe sorologicamente negativa, ou
3. O touro que forneceu o sêmen obteve resultados negativos a dois testes de diagnóstico para a detecção da LEB feita a partir de amostras de sangue, os primeiro não menos de 30 dias antes da colheita, e o segundo, no mínimo, 90 dias após ;
4. o sêmen foi colhido, tratado e armazenado em conformidade com as disposições dos capítulos 4.5. e 4,6.

ARTIGO 11.9.7

Recomendações para a importação de embriões / óvulos de bovinos

Autoridades Veterinárias dos países importadores devem exigir a apresentação de um certificado veterinário internacional atestando que os embriões / óvulos foram colhidos, processados e armazenados em conformidade com as disposições do Capítulo 4.7., 4,8. e 4,9.”

ANEXO B - QUESTIONÁRIO DE ESTUDO DE CAMPO

QUESTIONÁRIO DE ESTUDO DE CAMPO ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA

1. Dados da propriedade

1.1 Nome do produtor: _____

1.2 Nome da Propriedade: _____

1.3 Localização/Município: _____

1.4 Atividade principal: _____

1.5 Se a propriedade for leiteira:

a) Volume de leite produzido/dia: _____

b) Tipo de ordenha: () Manual () Mecânica

1.6 N° de bovídeos:

M (0-12m): _____ F (0-12m): _____

M (13-24m): _____ F (13-24m): _____

M (25-36m): _____ F (25-36m): _____

M (+36m): _____ F (+36m): _____

1.7 Sistema de criação:

() intensivo () semi-intensivo () extensivo

2. Dados sobre a doença

2.1 Conhecem a LEB? () sim () não

2.2 Se conhecem, já houve casos na propriedade? () sim () não

2.3 Se já houve, qual grupo de animais (faixa etária) foi acometida? _____

2.4 Quem faz a vacinação dos animais?

() proprietário () funcionário () veterinário

2.5 Há troca de agulhas durante a vacinação ou aplicação de medicamentos nos animais?

() troca () não troca () troca a cada 10 animais () desinfecta

2.6 Realiza manejo reprodutivo? () sim () não

2.6 Realiza inseminação artificial? () sim () não

2.7 Ocorre reutilização de luvas de palpação retal: () sim () não

