

FREQÜÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA EM BOVINOS DO ENTORNO DE GOIÂNIA, EM REGIME DE CRIAÇÃO SEMI-EXTENSIVO

PATRÍCIA LORENA DA SILVA NEVES GUIMARÃES¹, NILO SÉRGIO TRONCOSO CHAVES²,
LUIZ ANTÔNIO FRANCO DA SILVA³ E CLÉVERSON SANTOS ACYPRESTE⁴

1 Médica Veterinária/MMV / Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, C.P: 131, Escola de Veterinária, Hospital Veterinário. Goiânia-GO. CEP: 74.001-970 E-mail: guimaraes@vet.ufg.br

2 Prof. Dr. Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, C.P: 131, Escola de Veterinária, Hospital Veterinário. Goiânia-GO.

3 Prof. Dr. Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, C.P: 131, Escola de Veterinária, Hospital Veterinário. Goiânia-GO.

4 Médico Veterinário/MMV/ Universidade de Brasília.

RESUMO

Foram estudadas 207 amostras de soro bovino, colhidas entre dezembro de 1997 e novembro de 1998, com o objetivo de estabelecer a freqüência de anticorpos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em bovinos do entorno de Goiânia (GO), através do ensaio imunoenzimático (EIE) e soroneutralização (SN). A prevalência de anticorpos

para BVDV encontrada pela técnica de EIE foi de 47,83%; pela SN foi de 52,17%, não havendo diferença estatística significativa entre ambas. Considerando a reatividade dos soros em uma ou em ambas as técnicas, a prevalência de anticorpos na região foi de 54,11%.

PALAVRAS-CHAVE: Bovino, diarreia viral bovina, prevalência, testes sorológicos, pestivírus.

SUMMARY

ANTIBODY FREQUENCY AGAINST BOVINE DIARRHEA VIRUS IN BOVINES RAISED IN HALF-EXTENSIVE SYSTEM IN THE SURROUNDING REGION OF GOIÂNIA, BRAZIL

Serum samples of 207 dairy cows were collected between December 1997 and November 1998, in an attempt to estimate the prevalence of antibodies against the bovine viral diarrhea virus (BVDV). The sera were tested by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and by serum neutralization (SN). The prevalence for

BVDV was 47,83% as detected by ELISA or 52,17% by the SN technique. There was no statistically significant difference between the tests. Regarding the reactivity of sera for both tests, the prevalence of antibodies was 54,11% for the studied region.

KEY WORDS: Bovine, bovine viral diarrhea, prevalence, serologic test, pestivirus.

INTRODUÇÃO

A diarreia viral bovina (BVD) é uma enfermidade infecto-contagiosa dos bovinos com diferentes apresentações clínicas (Blood et al., 1991; Corrêa & Corrêa, 1992). O agente

etiológico pertence à família *Flaviviridae* e ao gênero *Pestivirus* (OIE Manual, 1996; Baker, 1987) com distribuição mundial (Weiblen, 1997). Olafson et al. (1946) e Childs (1946) descreveram, simultaneamente, essa enfermidade como uma doença entérica de bovinos, sendo mais tarde

confirmada a sua etiologia viral e denominada, então, diarréia viral bovina (BVD). Posteriormente, o mesmo vírus foi implicado como causador da doença das mucosas (DM), enfermidade fatal descrita primeiramente por Ramsey & Chivers (1956), sempre precedida de infecção pelo vírus da BVD (BVDV), que ocorre em bovinos persistentemente infectados (PI_s) e imunotolerantes ao vírus.

O BVDV foi isolado pela primeira vez no Brasil por Vidor (1974), a partir de amostras de soro bovino colhidas em abatedouros.

Na Bahia, Ribeiro et al. (1987) detectaram que, em uma amostragem de 1.618 soros, 237 (14,64%) eram soropositivos. Castro et al. (1993), após realização da soroneutralização para BVD em 288 soros bovinos, oriundos do Estado do Pernambuco, obtiveram uma prevalência de 72,6%. Em São Paulo, Langoni et al. (1995) estudaram a ocorrência de BVD em 184 soros bovinos, pelo método de ensaio imunoenzimático, e encontraram 39,5% das amostras positivas. Amostras de soro de 77 matrizes nelore colhidas, aleatoriamente, em uma propriedade localizada no Pantanal, foram testadas para a presença de anticorpos soroneutralizantes para BVDV, mostrando 43,6% de reações positivas (Pellegrin et al., 1996). Foram estudadas 102 amostras de soros bovinos, provenientes do Estado do Sergipe, através da soroneutralização de *screening*, encontrando-se uma prevalência entre 58,23% e 71,18% (Melo et al., 1997). No Rio Grande do Sul, Krahl et al. (1997) pesquisaram anticorpos para BVD em 1.823 soros bovinos pela técnica de soroneutralização, encontrando 23,4% de amostras soropositivas, sendo que, das 265 propriedades examinadas, 171 (64,53%) apresentaram animais reagentes. Em Minas Gerais, Figueiredo et al. (1997) avaliaram, também pela soroneutralização, a prevalência de anticorpos contra o BVD em 287 soros bovinos de diversas regiões colhidos em matadouro, encontrando soropositividade entre 61,47% e 75,13% das amostras. Richtzeinhain (1997) analisou, através do mesmo método, 2.448 amostras provenientes de 56 propriedades em diversos Estados e encontrou prevalência de 65% em Minas Gerais, 84% no Mato Grosso do Sul,

67% no Paraná, 71% no Rio de Janeiro, 73% no Rio Grande do Sul e 78% em São Paulo, sendo que em todas as fazendas havia pelo menos um animal soropositivo.

Um aspecto epidemiológico importante dos animais persistentemente infectados é que estes são, na maioria das vezes, clinicamente normais. O vírus está presente na maioria dos tecidos, é eliminado intermitentemente e pode ser isolado de qualquer secreção e excreção, tais como descarga nasal, saliva, sêmen, urina, lágrima e leite (Coria & McClurkin, 1978; Radostits & Littlejohns, 1988; Meyling et al., 1990).

Brock (1995) cita vários métodos de diagnóstico para BVD, dentre eles o isolamento viral, a vírus-neutralização, o ensaio imunoenzimático (EIE) e a reação em cadeia da polimerase (PCR). Baron et al. (1994) referem-se ainda a outras provas sorológicas, como fixação de complemento, imunofluorescência indireta e imunofluorescência anticomplemento.

Esse trabalho teve como objetivo estabelecer a prevalência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina, em bovinos do entorno de Goiânia, em regime de criação semi-extensivo, através do ensaio imunoenzimático (EIE) direto competitivo e pela prova de soroneutralização (SN).

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foram realizados sorteios para determinar quais as propriedades deveriam ser amostradas. As amostras foram colhidas entre os meses de dezembro de 1997 e novembro de 1998. O tamanho amostral determinado foi de 207 animais, utilizando-se um intervalo de 95% de confiança e uma margem de erro de 0,4% (Stevenson, 1981).

A fórmula de determinação do tamanho amostral, segundo Stevenson (1981), consiste de:

$$M = Z^2 \left[\frac{p(1-p)}{e} \right]$$

Onde:

n = tamanho amostral

Z = fator determinante do grau de confiança

p = prevalência

e = margem de erro

Alguns critérios foram considerados por ocasião da escolha dos criatórios, entre eles presença de bovinos não vacinados contra BVD; condições de manejo e nutrição semelhantes; regime de criação semi-extensivo. Com essas características, foi possível selecionar 14 propriedades rurais localizadas no entorno de Goiânia (GO).

O material utilizado foi o sangue, colhido através de punção da artéria ou da veia caudal mediana, com auxílio de agulhas (25 x 8 mm)¹ e tubos a vácuo² (10 ml). Após a coagulação do sangue, estas amostras foram encaminhadas, sob refrigeração em caixas isotérmicas, ao Laboratório do Setor de Pós-graduação da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (UFG), para centrifugação³ a 2.500 rpm (5 cm de raio), durante 10 minutos e para armazenamento em tubos tipo eppendorf a -20° C.

A detecção qualitativa dos anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina foi feita pelo método de ensaio imunoenzimático direto competitivo (EIE)⁴ (Idexx, 1997), realizado no Laboratório de Virologia Animal do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da UFG. As mesmas amostras foram testadas através da soroneutralização, conforme OIE (1996), realizada no Laboratório Regional de Apoio Animal de Pedro Leopoldo (MG).

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada por meio do teste Qui-quadrado corrigido (χ^2) (Curi, 1997) e pelo teste de significância de duas amostras para proporções (Stevenson, 1981), com 95% de confiança, para verificar diferença significativa entre as observações. Os resultados calculados foram comparados com um valor tabulado da distribuição normal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência de anticorpos presentes nas 207 amostras de soro bovino colhidas em propriedades rurais no entorno de Goiânia, utilizando um

intervalo de confiança de 95% e uma margem de erro de 6,2%, obtida por meio do EIE, foi de 47,83% (99/207) (Tabela 1). Vale destacar que as amostras caracterizadas como suspeitas, por apresentarem taxa de bloqueio entre 30 e 50%, foram consideradas negativas ao EIE devido à impossibilidade de uma segunda colheita de soro algumas semanas após, como recomenda o fabricante.

A frequência de anticorpos anti-BVDV encontrada nos 207 soros bovinos, analisados pela soroneutralização, foi de 52,17% (108/207) (Tabela 1).

TABELA 1. Frequência de anticorpos contra BVDV, utilizando-se as provas EIE e SN em 207 amostras de soros bovinos, criados em sistema semi-extensivo, no entorno de Goiânia (GO), no período entre dezembro de 1997 e novembro de 1998.

EIE/SN	EIE	SN	EIE e/ou SN
Reações positivas	99 (47,83%)	108 (52,17%)	112 (54,11%)
Reações negativas	108 (52,17%)	99 (47,83%)	95 (45,89%)
Total	207	207	207

Com a finalidade de se estabelecerem as prevalências de anticorpos para BVDV, foram consideradas as reações positivas em uma ou em ambas as técnicas, pois, comparando estatisticamente os resultados obtidos nas duas provas, não houve diferença significativa de resultados nas duas técnicas. Portanto, a prevalência de anticorpos para BVD, entre as 207 amostras de soros bovinos colhidos no entorno de Goiânia, foi de 54,11%. Esse valor foi ligeiramente inferior aos encontrados por Melo et al. (1997), no Estado do Sergipe, que estava entre 58,23% e 71,18%, mas superior aos 43,6% encontrados por Pellegrin et al. (1996), em propriedades localizadas no Pantanal (Melo et al., 1997). Ressalta-se que existem indícios de que no

1. Agulhas Venoject II, Merck S.A., Rio de Janeiro, RJ.

2. Tubos vacutainer Venoject, Merck S.A., Rio de Janeiro, RJ.

3. Centrifuga, Labtec, São Paulo, SP.

4. IDEXX. Bovine viral diarrhoea virus antibody test kit (BVDV). n. 50-0037-02/01, p.1-6, 1997.

Estado do Sergipe não se adota como conduta preventiva o uso de vacinas contra o BVDV. O critério de pesquisar anticorpos em animais não vacinados adotado neste experimento pode justificar a semelhança entre as prevalências encontradas.

A prevalência de 14,64% foi registrada por Ribeiro et al. (1987), utilizando a soroneutralização no Estado da Bahia (14,64%); Krahl et al. (1997), usando essa mesma prova sorológica, detectaram 23,4% no Rio Grande do Sul; e Langoni et al. (1995), pesquisando em São Paulo, observaram por meio do EIE 39,5%. Todavia, índices variando entre 61,47% e 75,13% foram encontrados por Figueiredo et al. (1997), através da SN, em Minas Gerais e de 72,6% observados em Pernambuco por Castro *et al.* (1993); pelo EIE, Richtzeinhain (1997) observou prevalência de 84% no Mato Grosso do Sul, 67% no Paraná; 71% no Rio de Janeiro; 73% no Rio Grande do Sul e de 78% em São Paulo. Confrontando os resultados encontrados no presente trabalho com os descritos para outras regiões do país, observamos que as diferenças entre as prevalências podem estar relacionadas à metodologia empregada, à origem e ao manejo dos animais testados.

Todas as 14 propriedades examinadas apresentaram animais reagentes. Richtzeinhain (1997), ao analisar 2.448 amostras provenientes de diversos Estados, também encontrou animais reagentes em todas as regiões. Esses resultados indicam que a infecção pode estar amplamente disseminada na região estudada.

Entre os animais examinados, o índice de soropositividade para BVD, por propriedade, variou de 7,4% a 100%. Essa variação ocorreu tanto nas fazendas onde houve aquisição recente de animais como naquelas que não receberam novos bovinos há mais de um ano, o que significa que a fonte de infecção deve provavelmente estar dentro das próprias fazendas e não oriunda de animais recém-adquiridos. É importante lembrar que todas elas tinham como manejo reprodutivo a inseminação artificial, que é considerada por Weiblen (1991) como uma forma de transmissão da doença.

CONCLUSÃO

Nas condições em que foi realizado o presente estudo, os resultados permitiram concluir que a prevalência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina, em bovinos da região do entorno de Goiânia (GO), é de 54,11% e que todas as propriedades examinadas apresentaram animais reagentes. Esses dados são preocupantes, já que se trata de uma região onde não se adota vacinação em seu manejo sanitário; os anticorpos encontrados, portanto, não são de origem vacinal. Ainda, é importante ressaltar que a diarréia viral bovina, embora nem sempre apresente sinais clínicos evidentes, pode causar prejuízos econômicos aos criatórios, pois interfere na produção, na reprodução e no desenvolvimento dos animais. Os resultados trazem informações importantes à sanidade animal, pois nos permitiram conhecer a epidemiologia e a ocorrência da enfermidade na região.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, J. C. Bovine viral diarrhea virus: a review. *Journal of American Veterinary Medical Association*, Chicago, v. 190, n. 11, p. 1449-1458, 1987.
- BARON, E. J., PETERSON, L. R., FINEGOLD, S. M. *Diagnostic microbiology*. 9. ed. St. Louis: Mosby, 1994. 958 p.
- BLOOD, D. C., HENDERSON, J. A., RADOSTIS, O. M. *Clínica veterinária*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1263p.
- BROCK, K. V. Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. In: BAKER, J. C., HOUE, H. Bovine viral diarrhea virus. *The veterinary clinics of North America: food animal practice*, v. 11, n. 3, p. 549-562, 1995.
- CASTRO, R. S., MELO, L. E. H., ABREU, S. R. O., MUNIZ, A. M. M., ALBUQUERQUE, A. P. S. Anticorpos neutralizantes contra pestevírus em soros bovinos do estado de Pernambuco. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 28, n. 11, p. 1327-1331, 1993.

- CHILDS, T. Disease of cattle – Saskatchewan. *Canadian Journal Comparative Medicine*, v. 10, p. 316-319, 1946.
- CORBELLINI, C. N. Factores nutricionales de riesgo para las afecciones podales. In: *Enfermedades podales del bovino*. Jornada-Taller para médicos veterinários. Navarro, p. 1-5, 1994.
- CORIA, M. F., McCLURKIN, A. W. Specific immune tolerance in an apparently healthy bull persistently infected with BVD virus. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 172, p. 449-451, 1978.
- CORRÊA, W. M., CORRÊA, C. N. M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda, 1992. 843p.
- CURI, P. R. *Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas*. Botucatu: Tipomic, 1997. 263p.
- FIGUEIREDO, H. C. P., VIEIRA, P. R., LAGE, A. P., LEITE, R. C. Prevalência de anticorpos contra o vírus da diarreia bovina e vírus em Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 21, n. 4, p. 11-15, 1997.
- KRAHL, M., BRABA, A. C., OLIVEIRA, L. G., NETO, J. A. S. P., PRADO, J. A. P., ROSA, J. C. A., WUNDER JÚNIOR, E. Pesquisa de anticorpos para leptospirose, rinotraqueíte infecciosa bovina e diarreia viral bovina em soros bovinos de propriedades rurais do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25, Gramado, 1997. *Anais...* Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária. 1997. p. 174.
- LANGONI, H., PAES, A. C., TONIN, F. B., SILVA, A. V. DENARDI, M. B. Prevalence of BVD, IBR and PI 3 in bovine by ELISA test. In: *VIROLOGIA*, 5, Ribeirão Preto, 1995. *Anais...* Sociedade Brasileira de Virologia. 1995. n. B43.
- MELO, C. B., OLIVEIRA, A. M., FIGUEIREDO, H. C. P., LEITE, R. C., LOBATO, Z. I. P. Prevalência de anticorpos contra herpesvírus bovino 1, vírus da diarreia bovina e vírus e vírus da leucose enzoótica bovina em bovinos do Estado do Sergipe, Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 21, n. 2, p. 160-161, 1997.
- MEYLING, A., HOUSE, H., JENSEN, A. M. Epidemiology of bovine virus diarrhea virus. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, v. 9, n. 1, p. 75-93, 1990.
- OIE. *Manual of standards for diagnostic test and vaccines*. Paris: Office International des Epizooties, 1996. p. 651-659.
- OLAFSON, P. McCALUM, A. D., FOX, F. H. An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Veterinary*, v. 36, p. 205-213, 1946.
- OLIVEIRA, E. A. S. *Caracterização de amostras de pestivirus com anticorpos monoclonais*. Porto Alegre, 1996. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- PELLEGRIN, A. O., SERENO, J. R. B., LEITE, R. C. Soropositividade para o vírus da diarreia viral bovina e herpesvírus bovino tipo 1 em vacas Zebu no Pantanal. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 49, n. 3, p. 375-377, 1996.
- RADOSTITS, O. M., LITTLEJOHNS, I. R. New concepts in the pathogenesis diagnosis and control of disease caused by the bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Journal*, v. 29, p. 513-528, 1988.
- RAMSEY, F. K. CHIVERS, W. H. Mucosal disease of cattle. *North American Veterinarian*, v. 34, p. 629-633, 1956.
- RIBEIRO, M. B., GALVÃO, C. L., COSTA, A. R. RODRIGUES, F. M. SUZART, J. C. C. *Infecções pelo vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina / vulvovaginite pustular infecciosa, diarreia viral bovina e parainfluenza 3, detectadas por meio de avaliação sorológica no Estado da Bahia*. Salvador: EMBRAPA, 1987. (Boletim n. 11).
- RICHTZENHAIN, L. J. Em busca de respostas. *Revista Criadores*, n. 808, p. 40, 1997.
- STEVENSON, N. W. J. *Estatística aplicada à administração*. São Paulo: Harper, 1981. p. 282.
- VIDOR, T. Isolamento e identificação do vírus da doença das mucosas no Estado do Rio Grande do Sul. *Boletim do Instituto de Pesquisas Ve-*

terinárias Desidério Finamor, Porto Alegre, p. 51-58, 1974.

WEIBLEN, R. Doenças víricas que interferem na reprodução bovina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, supl., v. 1, n. 3, p. 120-130, 1991.

WEIBLEN, R. *Diarréia viral bovina*. Santa Maria: Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria, 1997. [Apostila].