

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS**

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA
LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA, PARATUBERCULOSE E
ANTÍGENOS DO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA EM
BOVINOS VIVOS DESTINADOS À EXPORTAÇÃO NO ESTADO
DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Dissertação de Mestrado

Matheus Piovesan

Porto Alegre

2021

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS**

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA
LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA, PARATUBERCULOSE E
ANTÍGENOS DO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA EM
BOVINOS VIVOS DESTINADOS À EXPORTAÇÃO NO ESTADO
DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL**

Autor: Matheus Piovesan

Dissertação de mestrado apresentada
como requisito parcial ao grau de
Mestre em Ciências Veterinárias,
área de Microbiologia Veterinária –
Virologia.

Orientador: Paulo Michel Roehle

Porto Alegre

2021

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

CIP - Catalogação na Publicação

Piovesan, Matheus
PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA, PARATUBERCULOSE E ANTÍGENOS DO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA EM BOVINOS VIVOS DESTINADOS À EXPORTAÇÃO NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL / Matheus Piovesan. -- 2021.
33 f.
Orientadora: Paulo Michel Roehe.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Prevalência. 2. Leucose enzootica bovina. 3. Paratuberculose. 4. Diarreia viral bovina . I. Roehe, Paulo Michel, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Matheus Piovesan

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA LEUCOSE
ENZOÓTICA BOVINA, PARATUBERCULOSE E ANTÍGENOS DO VÍRUS DA
DIARREIA VIRAL BOVINA EM BOVINOS VIVOS DESTINADOS À
EXPORTAÇÃO NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Aprovado em 27/05/2021

Pela comissão examinadora

Prof. Dr. Paulo Michel Roehe

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Orientador e Presidente da Comissão

Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Franco

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Membro da Comissão

Prof. Dr. Marcelo De Lima

Universidade Federal de Pelotas

Membro da Comissão

Dr.^a Raíssa Nunes dos Santos

Universidade Federal do Tocantins

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela vida que me concedeu e suas bênçãos por todos estes anos.

Aos meus pais, Almir e Luci, por todo apoio, amor e incentivo de buscar ser uma pessoa e profissional melhor a cada dia. Aos meus irmãos; Felipe, Fernando e Luana pelo carinho e altruísmo de sempre.

A Anne, minha namorada, por todo amor e tornar esse período o mais agradável possível. Além de todo apoio em prol do meu crescimento profissional.

Ao Fabrício, Eduardo e demais colaboradores do Laboratório Axys, sou imensamente grato por permitir e apoiar a realização deste estudo.

Aos pesquisadores do LabVir – ICBS, especialmente ao Prof. Paulo, o qual acreditou e abriu as portas do laboratório para que fosse possível a realização desta especialização, meus sinceros agradecimentos.

Agradeço a Deus ter escolhido pessoas tão boas em minha trajetória, as quais contribuíram significativamente em minha vida. Aos demais familiares e amigos, fica aqui registrado meu carinho e gratidão por tudo.

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas,
mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana”

Carl G. Jung.

RESUMO

Neste estudo foram realizadas análises de 109.327 amostras de soro de bovinos *Bos taurus taurus*, machos não castrados de raças europeias com até 24 meses de idade originados de diferentes regiões do Rio Grande do Sul. Os animais amostrados (2017-2019) foram mantidos em estabelecimentos pré-embarque (EPE) em regime de quarentena. As amostras de soro foram submetidas a ensaios sorológicos para leucose enzootica bovina (LEB), paratuberculose (PTB) e à pesquisa de antígenos do vírus da diarréia viral bovina (BVDV). A prevalência de anticorpos para o vírus da LEB foi 0,26%; para PTB a prevalência de anticorpos foi de 0,80%; e a prevalência de antígenos do BVDV foi 0,67%. Os resultados destes estudos permitem contribuir para o gerenciamento de futuras exportações, adotando-se estimativas de descarte de animais positivos, assim como contribuir para o conhecimento das prevalências destas doenças em bovinos de corte dos rebanhos do estado Rio Grande do Sul.

Palavras-chave: BVD, BLV, MAP, testes sorológicos, epidemiologia.

ABSTRACT

In this study, 109.327 bovine serum samples were analyzed from *Bos taurus taurus*, uncastrated males from european breed up to 24 months of age originating from different regions of the Rio Grande do Sul. The sampled animals were collected (between 2017-2019) and kept in pre-shipment establishments (EPE) as a quarantine regime. Serum samples were processed to serological assays for bovine Leukemia virus (LEB), Paratuberculosis (PTB) and for antigens for Bovine viral diarrhea virus (BVDV). The prevalences presented in this research are 0,26% for LEB; 0,80% for PTB; and 0,67% for BVDV. The results allow the management of future cattle exportations including the number estimative for discard positive animals, as well as to contribute to know of the prevalence of these diseases in beef cattle from herds in the state of Rio Grande do Sul.

Keywords: BVD, BLV, MAP, serological test, epidemiology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Densidade de bovinos por km ² no mundo em 2010. Fonte: FAO, 2021.	15
Figura 2. Número de exportações internacionais de bovinos nos anos de 2016 a 2019. Fonte: USDA, 2021.....	17
Figura 3. Porcentagem de bovinos vivos exportados no ano de 2020 de acordo com os estados brasileiros. Fonte: MDIC, 2021.....	18
Figura 4. Principais países importadores e número de bovinos vivos exportados no Brasil durante os anos de 2018 a 2020. Fonte: MDIC, 2021.....	19
Figura 5. Número de bovinos vivos exportados nos últimos dez anos oriundos do Rio Grande do Sul. Fonte: MDIC, 2021.....	20
Figura 6. Bovinos destinados para exportação no Rio Grande do Sul por faixas etárias no período de 2015-2019. Fonte: Secretaria da Agricultura Pecuária e Desenvolvimento Rural.....	21
Figura 7. Distribuição da ocorrência de doenças em bovinos exportados entre os anos de 2017 a 2019. LEB = leucose enzoótica bovina; PTB = paratuberculose; BVDV = vírus da diarreia viral bovina.	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rebanho bovino brasileiro entre os anos de 2017 a 2019, de acordo com os estados. Fonte: IBGE, 2021.	16
Tabela 2. Número de amostras analisadas e prevalência de animais positivos durante o período do estudo.	24
Tabela 3. Associação dos períodos de exportação com a ocorrência de doenças em bovinos.	26

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABIEC: Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes
- BLV: Bovine leukemia vírus
- BVD: Diarreia viral bovina
- BVDV: Vírus da diarreia viral bovina
- ELISA: Ensaio imunoenzimático
- EPE: Estabelecimento pré-embarque
- EUA: Estados Unidos da América
- IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- LabVir: Laboratório de Virologia
- LEB: Leucose enzootica bovina
- MAP: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*
- PI: Persistentemente infectado
- PIB: Produto Interno Bruto
- PTB: Paratuberculose
- RS: Rio Grande do Sul
- RT-PCR: Reação da transcriptase reversa seguida da reação em cadeia da polimerase
- SPSS: Statistical Package for the Social Science
- SV: Setor de Virologia
- TI: Transitoriamente infectado
- UFPel: Universidade Federal de Pelotas
- UFSM: Universidade Federal de Santa Maria
- USDA: United States Department of Agriculture

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Rebanho bovino	15
2.2 Comércio mundial de bovinos vivos.....	17
2.3 Comércio brasileiro de bovinos vivos.....	18
2.4 Exportação de bovinos vivos do Rio Grande do Sul.....	20
2.5 Enfermidades pesquisadas	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 Amostras	23
3.2 Métodos de diagnóstico.....	23
3.3 Análise estatística.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
5. CONCLUSÕES	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1. INTRODUÇÃO

Conhecido mundialmente pela importância da sua pecuária, o Brasil detém um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, com aproximadamente 214,9 milhões de bovinos (IBGE, 2021). Em 2019 a pecuária de corte representou 8,5% do PIB brasileiro, crescendo 2% em relação ao ano anterior, evidenciando a notabilidade deste segmento para o país (ABIEC, 2020).

Neste setor produtivo, a exportação de animais vivos apresenta um significativo mercado ainda em expansão. Entre os anos de 2017 a 2019 o Brasil foi responsável pela exportação de aproximadamente 1,5 milhões de animais vivos, com média de peso de 306 kg, representando uma receita superior a um bilhão de dólares (MDIC, 2021). Neste mesmo período o Rio Grande do Sul (RS) foi responsável por 22,9% deste volume, significando 358.366 animais exportados (MDIC, 2021).

Em relação aos países importadores nesta modalidade de comércio destacam-se Egito, Emirados Árabes Unidos, Iraque, Jordânia e Turquia, sendo esta última responsável por 85,3% de todos os bovinos vivos exportados do RS nos anos de 2017 a 2019 (MDIC, 2021). Entretanto, para que os rebanhos bovinos estejam aptos a serem comercializados, as empresas exportadoras devem seguir rigorosos protocolos sanitários estabelecidos pelos países importadores.

Dentre os testes requeridos por estes países, estão o diagnóstico da leucose enzootica bovina (LEB), paratuberculose (PTB), a diarreia viral bovina (BVD), brucelose e tuberculose, sendo estas duas últimas realizadas no próprio estabelecimento pré-embarque (EPE). A identificação de anticorpos contra a LEB e PTB permite a identificação de animais reagentes, os quais são excluídos do lote a ser exportado. Além disso, a presença de antígenos do BVDV no soro pode identificar animais com infecções persistentes ou transitórias (RIDPATH *et al.*, 2017). Estes, portanto, igualmente devem ser excluídos do lote destinado à exportação.

Ao considerar a importância sanitária, prejuízos econômicos e números de diagnósticos, foram selecionadas para o estudo os resultados obtidos através dos exames sorológicos da LEB, PTB e BVDV. O presente trabalho reporta os achados de um levantamento epidemiológico para determinar a prevalência de anticorpos contra LEB e PTB, assim como a prevalência de animais potencialmente persistentemente infectado (PI) para BVDV (revelados pela presença de antígenos de BVDV no soro) em animais

em quarentena destinados à exportação, entre os anos de 2017 a 2019, animais estes provenientes de rebanhos no estado do RS.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Rebanho bovino

Os bovinos (*Bos indicus* e *B. taurus*) são as espécies mais propagadas de grandes ruminantes e são criados com a finalidade de produção de leite, carne, peles e força de tração animal (FAO, 2010). A distribuição dos rebanhos bovinos está presente em todos os continentes, exceto a Antártida (figura 1). Atualmente o Brasil é possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, porém ocupa a segunda posição na produção de carne mundial, ficando atrás apenas dos EUA (ABIEC, 2020).

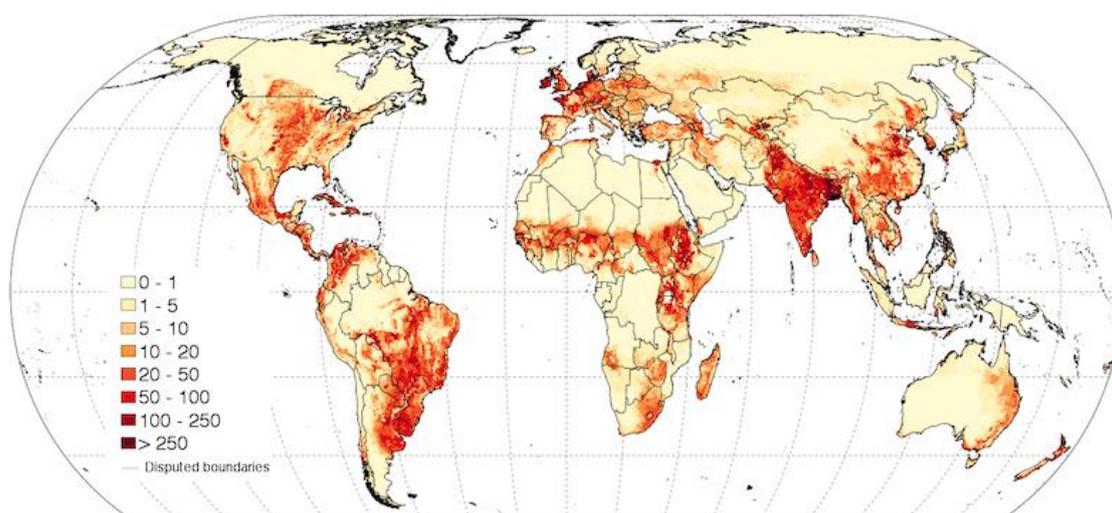


Figura 1. Densidade de bovinos por km² no mundo em 2010. Fonte: FAO, 2010.

Estima-se que a produção de carne crescerá 12% até 2029, a maior parte deste crescimento terá origem em países emergentes e de baixa renda, como; Brasil, China, Índia, México, Paquistão e Turquia (OECD/FAO, 2020). Neste mesmo período a projeção da produção da carne bovina deve expandir em cerca de 9%, sendo a Ásia e América Latina representando mais da metade deste crescimento da produção global (OECD/FAO, 2020).

O rebanho bovino brasileiro encontra-se distribuído em todos os estados, sendo o Mato Grosso com o maior plantel do país e Amapá com o menor (tabela 1). Os cinco maiores estados com planteis bovinos representam mais que a metade do rebanho bovino do país (tabela 1).

Com a valorização econômica do cultivo da soja no RS, houve um recente crescimento desta atividade em áreas do bioma pampa e, por consequência, diminuição das lavouras temporárias e da pecuária extensiva (FEIX; LEUSIN JÚNIOR, 2019). Dentre outros fatores, a impulsão do plantio de soja no RS contribuiu para a redução do rebanho bovino do estado (tabela 1).

Tabela 1. Rebanho bovino brasileiro entre os anos de 2017 a 2019, de acordo com os estados. Fonte: IBGE, 2021.

Estado	Anos		
	2017	2018	2019
Mato Grosso	29.725.378	30.199.598	31.973.856
Goiás	22.835.005	22.651.910	22.785.151
Minas Gerais	21.971.713	21.810.311	22.020.979
Pará	20.585.367	20.628.651	20.881.204
Mato Grosso do Sul	21.474.693	20.896.700	19.407.908
Rondônia	14.091.378	14.367.161	14.349.219
Rio Grande do Sul	13.353.122	12.550.379	11.968.216
São Paulo	11.109.523	10.771.635	10.486.465
Bahia	10.037.814	9.923.931	10.214.863
Paraná	9.370.139	9.275.271	8.971.675
Tocantins	8.738.477	8.352.513	8.480.724
Maranhão	7.687.695	7.793.180	8.008.643
Santa Catarina	4.302.861	4.296.052	4.452.571
Acre	2.895.028	3.303.633	3.509.682
Rio de Janeiro	5.531.239	2.552.587	2.533.164
Ceará	2.287.400	2.403.371	2.479.289
Espirito Santo	1.937.604	1.976.903	2.006.027
Pernambuco	1.804.876	1.862.181	1.933.900
Amazonas	1.343.574	1.376.210	1.455.842
Piauí	1.625.006	1.464.196	1.447.817
Paraíba	1.202.781	1.240.004	1.293.769
Alagoas	1.208.404	1.247.619	1.233.394
Sergipe	1.067.121	1.039.346	1.052.263
Rio Grande do Norte	870.000	863.284	929.451

Estado	Anos		
	2017	2018	2019
Roraima	787.318	817.198	897.007
Distrito Federal	93.141	90.199	84.425
Amapá	66.921	55.422	54.296

2.2 Comércio mundial de bovinos vivos

O comércio de bovinos é um importante segmento para a valorização dos rebanhos locais, pois aumenta a competitividade do mercado interno e beneficia os produtores com a valorização animal. Atualmente os maiores exportadores mundiais são; México, Austrália, União Europeia, Canadá e Brasil (figura 2).

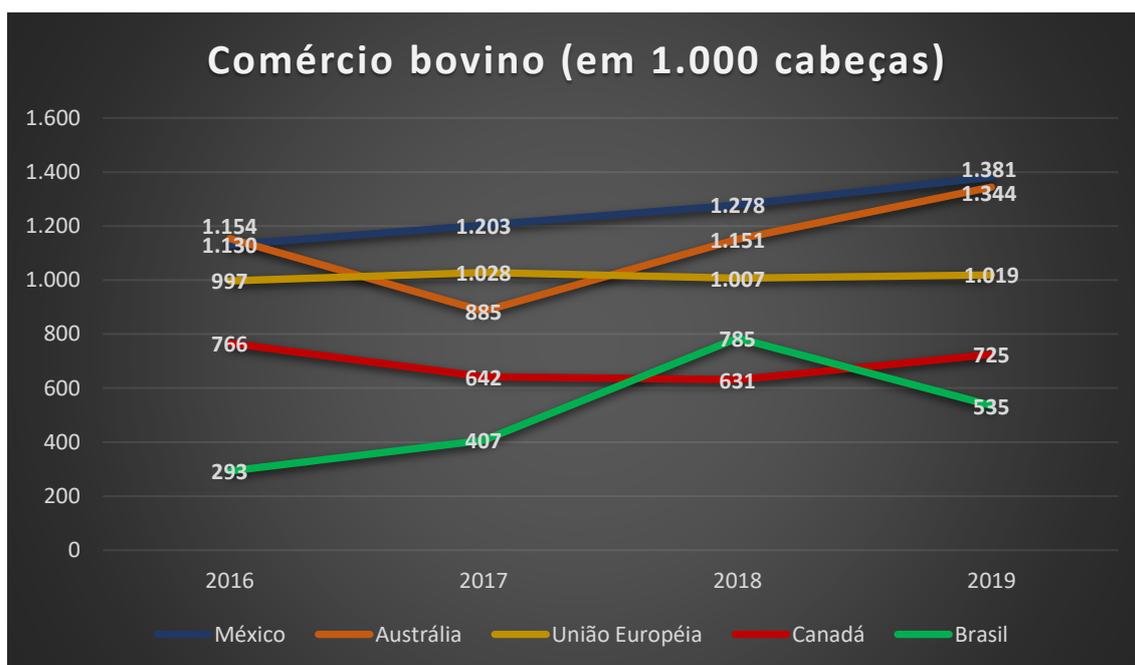


Figura 2. Número de exportações internacionais de bovinos nos anos de 2016 a 2019. Fonte: USDA, 2021.

O número total de exportações em 2019 foi de aproximadamente 5,652 milhões. Deste número, os cinco principais exportadores representam aproximadamente 5 milhões (89%) do total de animais exportados no ano de 2019 sinalizando a importância deste comércio para estes países. Neste cenário é importante destacar que a exportação do

México e Canadá atende a demanda do mercado dos Estados Unidos da América (EUA), o qual o transporte é realizado via terrestre, diferente do que ocorre no caso da Austrália e Brasil, na maioria das exportações.

2.3 Comércio brasileiro de bovinos vivos

A pecuária brasileira, consolidada por ser a maior produtora de carne bovina do mundo (ABIEC, 2020), também apresenta número expressivos na exportação de bovinos vivos. Seu crescimento em 2018 demonstra que o setor tem potencial para atingir níveis ainda maiores com a expansão do comércio internacional. Dentre os estados brasileiros que atuam na exportação de bovinos vivos, destacam-se, principalmente três; Pará, Rio Grande do Sul e São Paulo, responsáveis por exportar 87.599, 42.025 e 9.434 bovinos, respectivamente, no ano de 2020 (Figura 3).

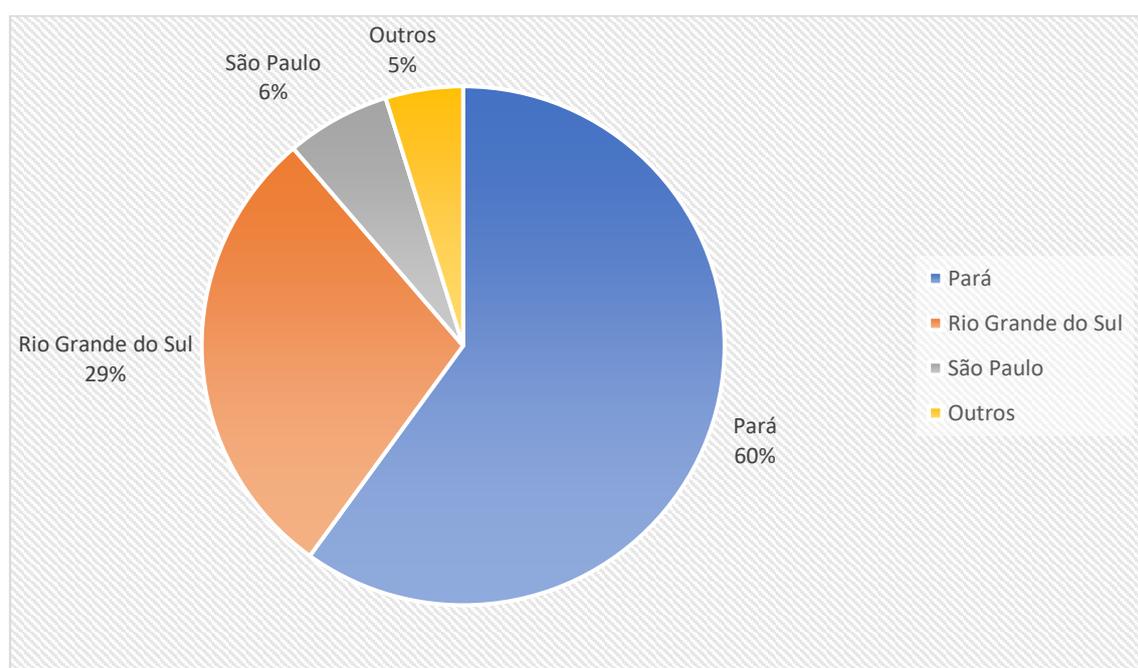


Figura 3. Porcentagem de bovinos vivos exportados no ano de 2020 de acordo com os estados brasileiros. Fonte: MDIC, 2021.

No ano de 2019 e 2020 se observou um importante declínio no número de bovinos exportados, qual está significativamente atrelado com a menor importação pelo mercado turco, principal importador (Figura 4). Em números, o percentual de queda chegou a ser

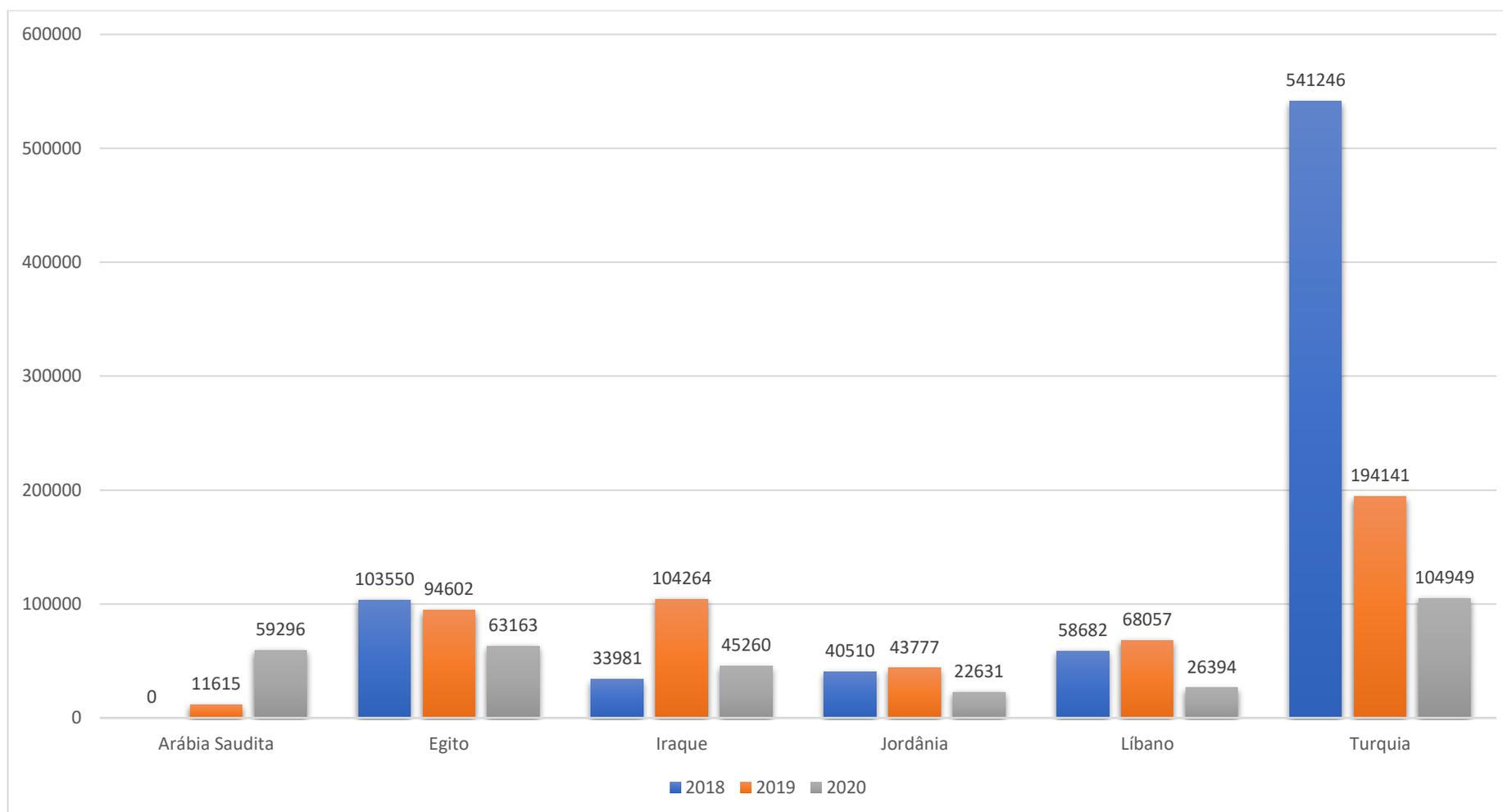


Figura 4. Principais países importadores e número de bovinos vivos exportados no Brasil durante os anos de 2018 a 2020. Fonte: MDIC, 2021.

aproximadamente 64% em 2019 e 80% em 2020, comparado com o número de bovinos importados pela Turquia em 2018 (Figura 4). Mesmo com a relevante baixa no número de animais exportados nos últimos dois anos, houve uma projeção de crescimento deste setor, pois surgiram novos mercados, como foi o caso da Arábia Saudita, Emirados Árabes Unidos e Libéria (MDIC, 2021).

2.4 Exportação de bovinos vivos do Rio Grande do Sul

As exportações no estado do RS começaram a apresentar resultados expressivos a partir de 2016, onde este comercio começou a se tornar cada vez mais atrativo e sólido para a pecuária local (Figura 5).



Figura 5. Número de bovinos vivos exportados nos últimos dez anos oriundos do Rio Grande do Sul. Fonte: MDIC, 2021.

Os principais parceiros comerciais desta atividade no RS são; Arábia Saudita, Egito, Emirados Árabes Unidos, Iraque, Jordânia, Líbano, Turquia e Venezuela. Sendo a Turquia o principal destino dos bovinos vivos exportados no ano de 2020, correspondente a aproximadamente 46%, seguido do Egito e Jordânia com cerca de 21% e 17%, respectivamente (MDIC, 2021).

A idade dos animais destinados a este tipo de comércio no RS se concentra em bovinos de até 12 meses de idade (figura 6).

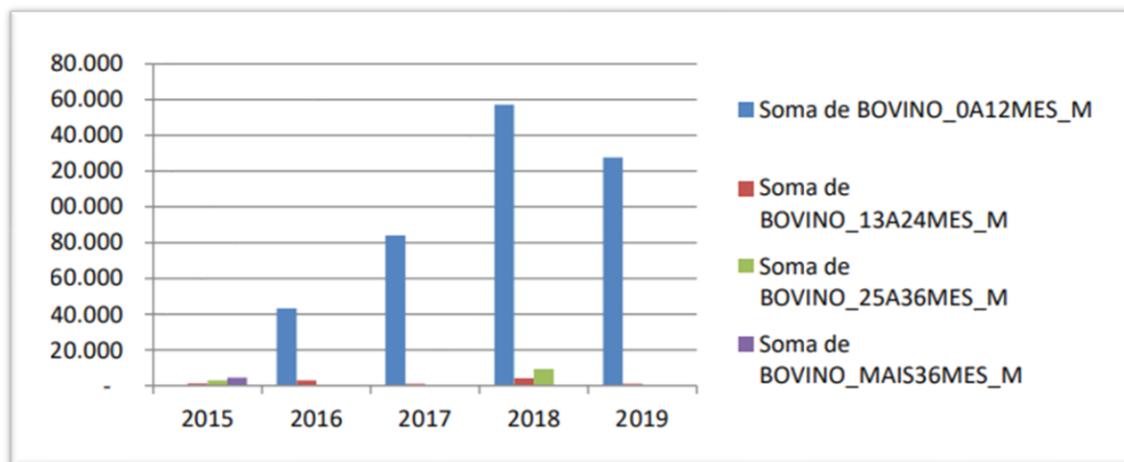


Figura 6. Bovinos destinados para exportação no Rio Grande do Sul por faixas etárias no período de 2015-2019. Fonte: Secretaria da Agricultura Pecuária e Desenvolvimento Rural.

2.5 Enfermidades pesquisadas

O vírus da leucose enzoótica bovina (bovine leukemia virus; BLV), agente etiológico da LEB, pertence à família *Retroviridae*, gênero *Deltraretrovirus*. (ICTV, 2021). As principais células infectadas pelo BLV são os linfócitos B, e assim como ocorre em outros retrovírus, uma vez infectado os animais são considerados portadores do agente por toda a vida (SCHWARTZ *et al.*, 1994; RAVAZZOLO; COSTA., 2017). Estima-se que aproximadamente 2 a 5% dos animais infectados desenvolvem a forma clínica da doença apresentando linfossarcomas ou linfomas malignos. Porém, 30% dos animais infectados podem desenvolver linfocitose persistente e aumento de linfócitos B circulantes (RODAKIEWICZ *et al.*, 2018).

A transmissão horizontal é a principal forma de disseminação da doença, principalmente através da via iatrogênica. Entretanto, outras fontes como o colostro e parto podem ser consideradas importantes para a infecção de animais jovens (JULIANO *et al.*, 2014). O teste sorológico é empregado para identificar animais portadores (RAVAZZOLO; COSTA., 2017). O controle da LEB está relacionado a inúmeras medidas, como a utilização de agulhas e luvas de palpação individuais para cada animal, lavagem e desinfecção de instrumentos cirúrgicos, controle de insetos hematófagos, manejo dos bezerros filhos de mães positivas e estratégias de segregação do plantel entre positivos e negativos (RAVAZZOLO; COSTA., 2017).

A paratuberculose, também denominada doença de Johne, é causada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), um agente intracelular

obligatório, ácido forte e gram positivo (VALENCIA *et al.*, 2018). A PTB apresenta um longo período de incubação e é caracterizada por perda de peso, diarreia, caquexia progressiva e morte (GILARDONI *et al.*, 2016; BENAVIDES *et al.*, 2016). A infecção entre animais se dá através da via fecal-oral, intrauterina e transmamária (VALENCIA *et al.*, 2018). Devido à possibilidade do MAP estar presente em leite destinado a consumo humano e sua possível relação com a doença de Crohn, caracterizada por inflamação intestinal crônica, a PTB pode apresentar um potencial risco à saúde pública (ABENDAÑO *et al.*, 2013; GILARDONI *et al.*, 2016).

O controle da PTB baseada nos testes diagnósticos, para identificação de animais infectados, deve ser empregado com cautela, pois a sensibilidade dos testes no estágio inicial da infecção pode não ser suficiente para detecção. Entretanto, medidas como a vacinação, práticas de manejo, detecção precoce e eliminação dos animais portadores são estratégias indicadas no controle desta enfermidade (GILARDONI *et al.* 2016).

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV), pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* e pode ser classificado em três diferentes espécies: vírus da diarreia viral bovina 1 (*Pestivirus A*), vírus da diarreia viral bovina 2 (*Pestivirus B*) e HoBi-like pestivirus (*Pestivirus H*) (ICTV, 2021). O BVDV está amplamente distribuído no mundo, principalmente em países onde há expressiva produção bovina (RIDPATH *et al.*, 2017). Sua transmissão ocorre principalmente por contato direto e indireto de animais, por fontes iatrogênicas e de maneira vertical. A circulação do BVDV pode gerar prejuízos relacionados a reprodução, imunossupressão, teratogenia e nascimentos de animais PI (BACCILI *et al.*, 2019). Programas de controle e erradicação do BVDV estão relacionados a identificação e eliminação de animal PI, medidas de biossegurança e estratégias de vigilância (BAUERMANN *et al.*, 2012).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras

No presente estudo foram examinadas 109.327 amostras de soro de bovinos provenientes de EPE, em regime de quarentena, enviadas para exame entre os anos de 2017 a 2019. Os animais coletados cumpriam os requisitos impostos pelos importadores: machos não castrados de raças europeias (*Bos taurus taurus*), com até 24 meses de idade. Não foi possível determinar a região de origem no Rio Grande do Sul que os animais pertenciam antes do transporte à EPE. As amostras de soros foram remetidas sob refrigeração e estocadas a 4°C até posterior processamento. Deste total de amostras, foram realizados 109.327 para LEB, 109.327 para PTB e 50.392 testes para BVDV.

3.2 Métodos de diagnóstico

Os exames de LEB e PTB foram utilizados *kits* para detecção de anticorpos através de ensaio imunoenzimático (ELISA) indireto. Já o diagnóstico do BVDV foi realizado a partir de dois métodos: ELISA para captura de antígeno, totalizando 11.568 exames (2017), e reação da transcriptase reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), representando 38.824 exames (2018 a 2019). Todos os exames foram realizados através de *kits* comerciais (IDEXX® e IDVET®), disponibilizados pelas empresas exportadoras e as técnicas executadas de acordo com a fabricante. Importante ressaltar que neste levantamento os resultados como suspeitos contabilizaram como positivos, pois ambos impossibilitam o comércio internacional.

3.3 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o programa *Statistical Package for the Social Science* (SPSS, versão 19). As variáveis LEB, PTB e BVDV foram categorizadas em positivas e negativas. Uma análise descritiva permitiu obter os dados de prevalência que estão expressos em porcentagens e número de casos positivos em relação ao total. O uso do teste Qui-quadrado permitiu avaliar a associação da variável “anos” com as diferentes doenças. Os valores de Odds ratio foram descritos. Diferenças significativas foram consideradas quando o p-valor foi menor que 0,05.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Variações significativas foram observadas dentro de cada ano, entre as prevalências das doenças por ano de exportação (Tabela 2).

Tabela 2. Número de amostras analisadas e prevalência de animais positivos durante o período do estudo.

Ano	Nº de amostras por exportação	Positivos para LEB	Positivos para PTB	Positivos para BVDV
2017	4401	4 (0,09%)	28 (0,63%)	Não testado*
2017	6978	7 (0,10%)	24 (0,34%)	Não testado*
2017	5675	12 (0,21%)	39 (0,68%)	84 (1,48%)
2017	9989	43 (0,43%)	78 (0,78%)	Não testado*
2017	5893	11 (0,18%)	100 (1,69%)	26 (0,44%)
2017	6053	18 (0,29%)	43 (0,71%)	Não testado*
p-valor		0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a
2018	2545	9 (0,35%)	16 (0,62%)	Não testado*
2018	6093	18 (0,29%)	47 (0,77%)	Não testado*
2018	3853	7 (0,18%)	29 (0,75%)	Não testado*
2018	12054	27 (0,22%)	89 (0,73%)	Não testado*
2018	6969	24 (0,34%)	79 (1,13%)	Não testado*
2018	5223	16 (0,30%)	28 (0,53%)	30 (0,57%)
2018	5258	13 (0,24%)	28 (0,53%)	9 (0,17%)
p-valor		0,776 ^b	0,002 ^a	0,001 ^a
2019	5311	28 (0,52%)	38 (0,71%)	40 (0,75%)
2019	10494	17 (0,16%)	105 (1,00%)	79 (0,75%)
2019	5858	8 (0,13%)	31 (0,52%)	27 (0,46%)
2019	3788	8 (0,21%)	37 (0,97%)	28 (0,73%)
2019	2892	14 (0,48%)	37 (1,27%)	20 (0,69%)
p-valor		0,001 ^a	0,002 ^a	0,234 ^b

*Exame realizado em outro laboratório, de acordo com a exportadora. P-valor = valores de significância obtidos pelo teste Qui-quadrado, foi considerado significativo quando p-

valor $<0,05$. Letra ^a demonstra diferença significativa para a doença analisada em relação ao ano e ^b demonstra que não houve.

Os resultados encontrados para LEB foram de 0,24% em 2017, 0,28% em 2018 e 0,26% em 2019 (Tabela 2). Em relação a PTB, as prevalências foram 0,80% em 2017, 0,75% em 2018 e 0,87% em 2019 (Tabela 2). Para BVDV a prevalência por ano analisado foi de 0,95% em 2017, 0,37% em 2018 e 0,68% em 2019 (Tabela 2).

A prevalência de anticorpos para LEB e PTB, do triênio analisado, foram de 0,26% e 0,80%, respectivamente. Já a prevalência de antígenos da BVDV foi de 0,67%. A baixa prevalência de anticorpos contra LEB pode estar justificada por se tratar de rebanho de corte composta, na maior parte, de animais jovens. A ocorrência de LEB é mais comum em bovinos leiteiros, podendo ser até quatro vezes maior que de corte (RAVAZZOLO; COSTA., 2017). Um estudo conduzido no Paraná identificou prevalência de anticorpos no soro em 7% em bovinos de aptidão leiteira e 0% em animais com aptidão para corte de (CARVALHO *et al.*, 1996).

No ano de 2018 observou-se que não houve variação estatística significativa dos resultados entre as exportações para os exames de LEB (p-valor 0,776), assim como para os exames de PTB em 2019 (p-valor 0,234). Dessa maneira é notável o número de variáveis que podem influenciar nos resultados dos exames em cada exportação, como a região de origem dos animais comprados, regime de criação extensiva ou intensiva, manejo sanitário da fazenda e momento da coleta da amostra de sangue para obtenção do soro. Além destes fatores relacionados aos animais, podem existir variáveis relacionadas aos exames, como coleta adequada, condicionamento da amostra, kit comercial utilizado e realização da técnica de diagnóstico.

Outros estabelecimentos do estado do RS, que também atuam no diagnóstico das enfermidades bovinas de animais para exportação, informaram seus dados. Segundo dados disponibilizados pelo Setor de virologia (SV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), foram processadas 15.894 amostras de soro de bezerros de raças de corte, destinados à exportação para a Europa no ano de 2017. Considerando-se amostras positivas e suspeitas, o número de reagentes foi de 30 (0,19%) para LEB; 192 (1,2%) para PTB e 475 (2,98%) para o BVDV. Já os resultados disponibilizados pelo Laboratório de virologia (LabVir) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), o qual também realizou o diagnóstico de bovinos destinados à exportação para a Europa, foi possível observar as prevalências de amostras positivas e suspeitas encontradas nos anos de 2017 a 2019 no estado do RS. Ao longo do triênio o LabVir recebeu o total de 38.054 amostras para o

diagnóstico, das quais 0,29% foram positivas para presença de anticorpos contra LEB, 0,46% positivas para PTB e 0,89% positivas para o antígeno do BVDV. Estes resultados, tendo origem em dois laboratórios distintos, reforçam a baixa prevalência destas doenças em bezerros de corte no estado do RS.

Assim como a LEB, a ocorrência da PTB é considerada uma enfermidade de maior importância na bovinocultura leiteira (RUSSEL, 2011). Em bovinos de corte, a prevalência encontrada tende a ser menor que 5% e pouco reportada (LOMBARD, 2011). Em rebanhos bovinos de corte os animais não chegam a atingir os estágios mais avançados da infecção, momento crítico para a eliminação da MAP causadora da PTB, dessa maneira existe menor chance de ocorrer a contaminação do ambiente (WHITTINGTON *et al.*, 2019).

A prevalência geral de animais PI em bovinos pode variar de 0,5% e 2% entre os rebanhos (GROOMS *et al.*, 2006; SCHARNBÖCK *et al.*, 2018). Em um estudo nos EUA com 4.530 amostras de bezerros, os autores reportaram 0,55% de animais PI (FULTON *et al.*, 2009). Bezerros destinados à engorda na região central dos EUA apresentaram prevalência de 0,1% a 0,3% para PI (BOLIN, 2013).

Um estudo com 1.800 amostras sorológicas de bovinos destinados à exportação, provenientes dos estados de Goiás (GO), Minas Gerais (MG) e São Paulo (SP), foram divulgados. A porcentagem total de animais positivos para cada uma das patologias foi de 10,50% (189) para LEB, 5,4% (97) para PTB e 3,2% (58) para BVDV (CARRILLO *et al.*, 2019). Estes dados refletem a disparidade das prevalências para estas enfermidades em diferentes regiões do país.

Uma associação significativa entre os anos de exportação com a prevalência de doenças ocorreu somente para a ocorrência de BVDV ($P = 0,001$). Resultados significativos não foram observados para as doenças LEB e PTB (Tabela 3).

Tabela 3. Associação dos períodos de exportação com a ocorrência de doenças em bovinos.

	LEB	PTB	BVDV
2017	0,24% (95/38989)	0,80% (309/38989)	0,95% (110/11568)
2018	0,28% (118/41995)	0,75% (316/41995)	0,37% (39/10481)
2019	0,26% (75/28343)	0,87% (248/28343)	0,68% (194/28343)
p-valor	0,584	0,198	0,001

P-valor = valores de significância obtidos pelo teste Qui-quadrado, foi considerado significativo quando p-valor <0,05.

A análise da ocorrência simultânea das doenças ao longo dos anos 2017 a 2019 foram observadas (figura 7). Foram analisados somente os anos onde se realizou o diagnóstico para as três doenças. Dos animais positivos para as doenças estudadas, bovinos com LEB apresentaram 13,1 % (117/896) de positividade, bovinos com PTB apresentaram 48% (430/896) e os animais com BVDV apresentaram 37,1% (332/896). Já os bovinos que apresentaram mais de uma doença, com LEB e PTB, apresentaram 0,7% (6/896). Os bovinos com LEB e BVDV foram representados por 0,4% (4/896), enquanto os bovinos positivos para PTB e BVDV apresentaram 0,8% (7/896) de positividade. Nenhum animal foi positivo para LEB, PTB e BVDV no mesmo rebanho em cada exportação observada.

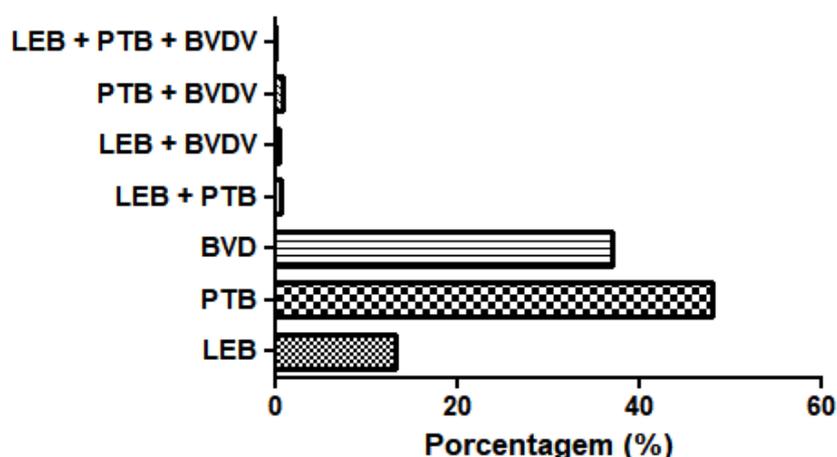


Figura 7. Distribuição da ocorrência simultânea de doenças em bovinos exportados entre os anos de 2017 a 2019. LEB = leucose enzoótica bovina; PTB = paratuberculose; BVDV = vírus da diarreia viral bovina.

O número de animais positivos, para pelo menos uma das doenças deste estudo, reflete o índice de animais impossibilitados de serem exportados. Desta maneira o destino final destes animais positivos é o mercado interno, sendo através do confinamento próprio das exportadoras até o abate ou comercialização. Entre os anos analisados, o ano de 2017 obteve o maior índice de descarte devido a positividade, próximo de 2%, seguido por 1,8% e 1,4% nos anos de 2019 e 2018, respectivamente. No total destes três anos 1.485 animais deixaram de ser exportados por serem positivos, ou suspeitos para pelo menos uma das doenças diagnosticadas. Neste caso o número de animais não aptos para serem exportados tende a ser ainda maior devido a não computação do número de animais positivos para BVDV nos anos que não foram realizados os exames para esta enfermidade

pelo mesmo laboratório. Além disso, este estudo não contabilizou os resultados de brucelose e tuberculose realizados na própria EPE, fator que também impede os animais positivos de serem exportados e tendo como destinados ao abate sanitário.

O rastreio da origem dos animais que chegaram em cada EPE não foi disponibilizado ao laboratório de diagnóstico, sendo assim não foi possível estabelecer qualquer estimativa de prevalência por região do estado do RS. Entretanto, através dos resultados obtidos, é notória a importância da adoção de medidas de controle prevenção para estas doenças, as quais podem estar subestimadas dentro das propriedades de bovinos de corte do estado do RS. É importante salientar que estes resultados não podem ser extrapolados para demais Estados, categorias, idades ou aptidões das raças bovinas.

5. CONCLUSÕES

Com base nos objetivos do trabalho, observou-se que os resultados dos exames em cada exportação não apresentam um padrão que se repete, ou seja, não é possível presumir com exatidão a prevalência de animais positivos ou suspeitos em cada protocolo pré-embarque. Por outro lado, fica claro a baixa prevalência de LEB, PTB e BVD nas amostras analisadas, pois somando-se os resultados deste estudo com as prevalências informadas pelos demais laboratórios (SV e LabVir) do RS, o baixo índice de descarte de animais positivos ou suspeitos é bastante fidedigno. O fator da baixa prevalência pode ser favorável para o Estado do RS, pois além da questão sanitária, o baixo índice de descarte pode ser considerado atraente para os importadores de animais para esta finalidade.

A publicação deste estudo sorológico visa contribuir para o gerenciamento de futuras exportações, favorecendo estimativa de descarte de animais positivos e suspeitos, assim como colaborar para o conhecimento das prevalências destas doenças em bovinos de corte dos rebanhos do Estado do Rio Grande do Sul.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABENDAÑO, N.; JUSTE, R. A.; ALONSO-HEARN, M. Anti-inflammatory and antiapoptotic responses to infection: a common denominator of human and bovine macrophages infected with *Mycobacterium avium* Subsp. Paratuberculosis, **BioMed Research International**, vol. 2013, p. 1-7, jan 2013.

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Perfil da pecuária no Brasil: relatório anual 2020**. 2020. Disponível em: <<http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2020/>>. Acesso em: 20 fev. 2021.

BACCILI, C. C.; MARTIN, C. C.; SILVA, K. N.; NICHI, M.; FLORES, E. F.; FILHO, A. E. V.; PITUCO, E. M.; GOMES, V. Serological response against bovine herpesvirus and bovine viral diarrhoea virus induced by commercial vaccines in Holstein heifers. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 11, dec 2019.

BAUERMANN, F. V.; FLORES, E. F.; RIDPATH, J. F. Antigenic relationships between bovine viral diarrhoea virus 1 and 2 and HoBi virus: possible impacts on diagnosis and control. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 2, p. 253-261, feb 2012.

BENAVIDES, B. B.; CADENA, A. V. A.; MISNAZA, C. A. M. Estudio epidemiológico de paratuberculosis bovina en hatos lecheros del sur de Nariño, Colombia. **Revista de medicina veterinária**, n. 31, p. 57-66, jun 2016.

BOLIN, S. R. Diarreia viral bovina e complexo da doença das mucosas. In: Kahn C.M & Scott L. **Manual Merk de Veterinária**, 10 ed. São Paulo, 2013, p. 319-323.

CARRILLO, H. A. M.; SILVEIRA, S. R. B.; MIRANDA, A. S.; RODRIGUES, E. D. L.; SALVARANI, F. M. Prevalence of bovine brucellosis, paratuberculosis, enzootic leucosis, and antigen-reactive agents to bovine viral diarrhoea virus in animals up to one year old. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, jan 2019.

CARVALHO, L.; BENESI, F. J.; BIRGEL Junior, E. H.; BIRGEL, E. H. Prevalence of serum antibodies to bovine leukosis virus in Holstein and Nelore Zebu cattle, reared in Londrina, state of Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 17, n. 1, mar 1996.

FAO, Food and Agriculture Organization. **Global cattle distribution in 2010**. 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/livestock-systems/global-distributions/cattle/en/>>. Acesso em: 16 fev. 2021.

FEIX, R. D., LEUSIN JÚNIOR, S. Painel do agronegócio no Rio Grande do Sul — 2019. **DEPARTAMENTO DE ECONOMIA E ESTATÍSTICA**, Porto Alegre. 2019. Disponível em: <<https://estado.rs.gov.br/upload/arquivos/painel-do-agronegocio-no-rs-2019.pdf>>. Acesso em: 29 jan. 2021.

FULTON, R. W.; WHITLEY, E. M.; JOHNSON, B. J.; RIDPATH, J. F.; KAPIL, S.; BURGE, L. J.; COOK, B. J.; CONFER, A. W. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in persistently infected cattle and BVDV subtypes in affected cattle in beef herds in south central United States. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 4, p. 283-291, oct 2009.

GILARDONI, L. R.; FERNÁNDEZ, B.; MORSELLA, C.; MENDEZ, L.; JAR, A. M.; PAOLICCHI, F. A.; MUNDO, S. L. Mycobacterium paratuberculosis detection in cow's milk in Argentina by immunomagnetic separation-PCR. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.47, n. 2, jun 2016.

GROOMS, D.; BAKER, J. C.; AMES, T. R. Doenças causadas pelo vírus da diarreia viral bovina, In Smith B.P. **Medicina Interna de Grandes Animais**, 3 ed. São Paulo, 2006, p. 707-714.

IBGE, Indicadores da Pecuária. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal**, Brasília. Disponível em: <Available at <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 29 Jan. 2021.

ICTV, Internacional Committee on Taxonomy of Viruses. **Taxonomic Information**. Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>>. Acesso em: 04 Jun. 2021.

JULIANO, R. S.; FIORAVANTI, M. C. S.; BRITO, W. M. E. D.; ABREU, U. G. P.; SOUZA, S. N. Soroepidemiologia da leucemia bovina (LB) em bovinos curraleiros dos estados de Goiás e Tocantins, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.15, n. 3, p. 289-295, set 2014.

LOMBARD, J. E. Epidemiology and Economics of Paratuberculosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, n. 3, p. 525–535, Nov 2011.

MDIC, Ministério da Economia, Indústria, Comércio exterior e serviços. **Exportação e importação geral**, Brasília. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/11479>>. Acesso em: 05 jan. 2021.

MONTEIRO, F. L.; MARTINS, B.; CARGNELUTTI, J. F.; NOLL, J. G.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Genetic identification of pestiviruses from beef cattle in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 2, p. 557-563, mar 2019.

OECD/FAO. Organisation for Economic Co-operation and Development. Food and Agriculture Organization. **OECD–FAO Agricultural Outlook 2020–2029**. 2020. Disponível em: <<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/ece4ff0c-en.pdf?expires=1613500943&id=id&accname=guest&checksum=6595DDA73D83C694965899AFC0BD71BD>>. Acesso em: 22 jan. 2021.

RAVAZZOLO, A. P.; COSTA, U. M. Retroviridae, In: Flores E.F. (Ed.), **Virologia Veterinária: virologia geral e doenças víricas**, 3 ed. Santa Maria, 2017, p. 1019-1053.
RIDPATH, J. F.; BAUERMANN, F. V.; FLORES, E. F. Flaviviridae, In: Flores E.F. (Ed.), **Virologia Veterinária: virologia geral e doenças víricas**, 3 ed. Santa Maria, 2017, p. 675-708

RODAKIEWICZ, S. M.; FERNANDEZ, M. L.; MUNHOZ, M. L.; YAMAKAWA, F. H. S.; URIO, M.; FORELL, F.; FERRAZ, S.; PORTES, V. M.; COSTA, U. M. Heterogeneity determination of bovine leukemia virus genome in Santa Catarina state, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, p. 1-7, aug 2018.

RUSSEL, A. J. Control of paratuberculosis in beef cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, n. 3, p. 593-598, nov 2011.

SCHARNBÖCK, B.; ROCH, F.; RICHTER, V.; FUNKE, C.; FIRTH, C. L.; OBRITZHAUSER, W.; BAUMGARTNER, W.; KÄSBOHRER, A.; PINIOR, B. A meta-analysis of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevalences in the global cattle population. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, sep 2018.

SCHWARTZ, I.; BENSALD, A.; POLACK, B.; BERTHELEMY, M.; LEVY, D. In vivo Leukocyte Tropism of Bovine Leukemia Virus in Sheep and Cattle. **Journal of Virology**, v. 68, n. 7, p. 4589-4596, jul 1994.

VALENCIA, N. C.; TAMAYO, Y. M. G.; SILVA, J. A. F. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in Colombia (1924-2016): A review. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 31, n. 3, p. 165-179, sep 2018.

WHITTINGTON, R. *et al.* Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. **BMC Veterinary Research**, v. 5, n. 198, jun 2019.