

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM REBANHOS DA BACIA LEITEIRA DO ESTADO DO MARANHÃO

H.P. Santos¹, H.M. Pereira², S.A. Nascimento³, L.C.A. Coutinho^{3*},
W.C. Teixeira³, R.C.N. Arruda⁴, N.P.C. Bezerra⁵, D.C. Bezerra⁶, R.S. Castro⁷

¹Universidade Estadual do Maranhão, Departamento de Patologia, CP 9, CEP 65055-970, São Luís, MA, Brasil. E-mail: hpsluiza@yahoo.com.br

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo determinar a frequência e os possíveis fatores de risco associados à ocorrência da Leucose Enzoótica Bovina (LEB) na bacia leiteira do Estado do Maranhão. Amostras de soro de 920 animais da raça girolanda foram submetidas à técnica de imunodifusão em gel de ágar. O estudo foi realizado em 92 propriedades leiteiras, pertencentes a 23 municípios localizados nas regionais de Açailândia, Bacabal, Ilha de São Luís, Imperatriz e Pedreiras. Em cada propriedade avaliada, aplicou-se questionário epidemiológico para investigar os fatores de risco que poderiam estar associados a esta infecção. Das 920 amostras de soro analisadas, 53,80% foram reagentes. Nas regionais obtiveram-se frequências de 63,50%, 61,87%, 60,62%, 41,18% e 30,83%, para Bacabal, Ilha de São Luís, Pedreiras, Imperatriz e Açailândia, respectivamente. Nos 23 municípios amostrados foram encontrados animais reagentes, com detecção de bovinos sorologicamente positivos em 98,91% das propriedades. Dentre os fatores de risco avaliados, uso repetido da mesma agulha para colheita de sangue ou vacinação, uso repetido da mesma luva obstétrica, estabulação dos animais e ausência de assistência veterinária apresentaram significância estatística ($P < 0,05$) associada à LEB. Os resultados do estudo indicam que a frequência de anticorpos para a Leucose Enzoótica Bovina foi elevada na bacia leiteira do Estado do Maranhão e que os fatores relacionados ao manejo estiveram associados ao risco de infecção nos bovinos.

PALAVRAS-CHAVE: Epidemiologia, frequência, leucose enzoótica, bovino, Maranhão.

ABSTRACT

FREQUENCY OF ANTIBODIES AND RISK FACTORS ASSOCIATED TO ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS IN DAIRY HERDS OF THE STATE OF MARANHÃO, BRAZIL. This study was performed in order to determine the frequency of antibodies to enzootic bovine leukosis (EBL), and the main factors related to the infection in dairy herds of Maranhão State, Brazil. Serum samples from 920 animals were submitted to the agar gel immunodiffusion technique. The study was carried out on 92 dairy properties, in 23 districts located in the regions of Açailândia, Bacabal, São Luis Island, Imperatriz and Pedreiras. An epidemiological questionnaire was applied for each herd to investigate variables that could be associated with this infection. Of the 920 serum samples examined, 53.8% were reagent. The frequency breakdown by region was 63.50%, 61.87%, 60.62%, 41.18% and 30.83%, for Bacabal, São Luis Island, Pedreiras, Imperatriz and Açailândia, respectively. Reagents animals were found in the 23 districts studied, with detection of serologically positive bovines on 98.91% of the properties. Variables identified as risk factors included the repeated use of the same needle for blood sampling or vaccination, repeated use of the same obstetric glove, animal housing and absence of veterinary assistance. These risk factors presented a statistical significance ($P < 0.05$) associated to infection. These results indicate that enzootic bovine leukosis infection is

²Universidade Estadual do Maranhão, Departameno de Pós-Graduação, São Luís, MA, Brasil.

³Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

⁴Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, São Luiz, MA, Brasil.

⁵Governo do Estado do Maranhão, AGED, São Luís, MA, Brasil.

⁶Veterinário Autônomo, São Luís, MA, Brasil.

⁷Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, PE, Brasil.

*Alunos de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, UFRPE.

high in dairy herds of the state of Maranhão and that factors related to livestock management were associated with the risk of EBL infection.

KEY WORDS: Epidemiology, frequency, enzootic leukosis, Maranhão.

INTRODUÇÃO

O Maranhão apresenta grande potencialidade para o desenvolvimento da exploração pecuária. No entanto, apesar de apresentar o segundo maior rebanho bovino da região Nordeste, totalizando 6.600.000 animais (IBGE, 2008), os valores médios de produção dos rebanhos maranhenses situam-se entre os mais baixos do Brasil. Esta ineficiência na produção de carne e leite é altamente influenciada pela baixa produtividade dos rebanhos.

Conhecimentos das áreas de epidemiologia estão sendo aplicados em saúde animal com vistas ao esclarecimento das relações causais das doenças de modo a permitir a predição e/ou mensuração das perdas econômicas específicas, e de otimizar as medidas de controle e/ou prevenção das doenças que determinam perdas econômicas.

A Leucose Enzoótica Bovina - LEB é um fator limitante para o crescimento dos rebanhos bovinos, limita a oferta de alimentos e causa grandes prejuízos econômicos e, por isso, possui importância econômica em países cujo comércio internacional de animais e produtos de origem animal é significativo (OIE, 2003).

Esta enfermidade é causada por um vírus, conhecido como Vírus da Leucose Enzoótica Bovina (VLEB), denominado oficialmente Bovine leukemia virus, pertencente ao gênero *Deltaretrovirus*, subfamília Orthoretrovirinae, família Retroviridae. O prefixo retro origina-se da enzima transcriptase reversa (DNA polimerase RNA - dependente) que está presente nos vírions de todos os membros da família, responsável pela síntese de DNA a partir do RNA viral (INTERNACIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2009).

A Leucose Enzoótica Bovina caracteriza-se por proliferação linfocitária nos órgãos hematopoéticos, bem como naqueles ricos em tecido retículo-histiocitário, determinando formações tumorais por infiltrações de células mononucleares (linfócitos, pró-linfócitos e linfócitos atípicos), com quadro sintomático pleomórfico e alterações hematológicas, evidenciadas por leucocitose e linfocitose persistente, com aumento das formas linfocitárias atípicas (BIRGEL, 1982).

O linfossarcoma é a fase mais avançada da doença, que acomete principalmente animais de rebanho leiteiro (FERRER *et al.*, 1979), devido ao manejo intensivo e a manutenção destes animais por maior tempo na propriedade, tornando-os mais susceptíveis (BARROS FILHO *et al.*, 2009).

A transmissão do VLEB ocorre principalmente por via horizontal, pelo contato entre animais portadores e susceptíveis, podendo também ocorrer por via vertical (transplacentária), em pequeno número de casos (HUBNER *et al.*, 1997). O uso repetitivo de agulhas, materiais cirúrgicos, luvas obstétricas, premunicação contra babesiose e anaplasmose, ação mecânica de tabanídeos, contato com saliva e alimentação com leite e colostro oriundos de vacas infectadas, sêmen e colostro contaminados, transferência de embriões e inseminação artificial também são citadas na literatura como formas importantes de transmissão do vírus (JOHNSON; KANEENE, 1992; LUCAS, 1992; HUBNER *et al.*, 1997; PEREIRA; ZANINI, 1997).

O diagnóstico da LEB inicialmente era feito pela observação das manifestações clínicas e lesões. Atualmente, várias técnicas sorológicas são utilizadas para o diagnóstico da LEB, sendo a prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) (MILLER; VAN DER MAATEN, 1977) a mais utilizada.

A infecção pelo VLEB está difundida no rebanho bovino brasileiro. Estudos epidemiológicos têm demonstrado a ampla distribuição de animais reagentes em todas as regiões do país (ANDRADE; ALMEIDA, 1991; CARNEIRO *et al.*, 2003; MEGID *et al.*, 2003; MATOS *et al.*, 2005; SPONCHIADO, 2008).

A importância econômica da infecção pelo VLEB é decorrente de fatores como desvalorização e restrições ao comércio de animais vivos, sêmen e embriões de animais soropositivos, perdas na exportação para mercados que requerem animais livres da infecção, custos com o diagnóstico, medicamentos e assistência veterinária, descarte prematuro ou morte de animais, particularmente aqueles de alto potencial genético, ocorrência de linfossarcomas, condenação de carcaças em frigoríficos com serviço de inspeção veterinária (OIE, 2008; SPONCHIADO, 2008).

Deste modo, considerando a importância da bovinocultura leiteira para o Maranhão aliada a ausência de dados epidemiológicos sobre a LEB no Estado, este trabalho foi desenvolvido como o objetivo de determinar a frequência e os possíveis fatores de risco associados à ocorrência da Leucose Enzoótica Bovina na bacia leiteira do Estado do Maranhão.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e população

O Estado do Maranhão ocupa uma área territorial de aproximadamente 331.918 km², está situado

a noroeste da região Nordeste, localizado a 05° 05' 12" latitude sul e 42° 48' 42" a oeste do Meridiano de Greenwich, com uma precipitação pluviométrica de 197 mm e temperatura média de 26° C, possui um efetivo bovino de aproximadamente 6.600.000 cabeças, sendo 625.000 (9,47%) de exploração leiteira (ATLAS DO MARANHÃO, 2006; IBGE, 2008).

O estudo foi realizado na bacia leiteira do Estado do Maranhão, onde existem as principais aglomerações da pecuária leiteira, constituída pelas regionais da Ilha de São Luís (municípios de Paço do Lumiar, Raposa, São José de Ribamar e São Luís), Imperatriz (Amarante, Imperatriz, João Lisboa, Lajeado Novo, Porto Franco, São João do Paraíso e Senador La Roque), Açailândia (municípios de Açailândia, Cidelândia e São Francisco do Brejão), Pedreiras (Bernardo do Mearim, Igarapé Grande, Pedreiras e Trizidela do Vale) e Bacabal (Bacabal, Bom Lugar, Lago Verde, Olho d'Água das Cunhas e São Luís Gonzaga). Essas regionais não são todas contíguas, existindo três aglomerações distintas: Ilha de São Luís, ao nordeste; Bacabal e Pedreiras, ao centro; e Açailândia e Imperatriz, a oeste (Fig. 1).

Em linhas gerais, os rebanhos criados na bacia leiteira do Estado do Maranhão são formados geralmente por até 50 cabeças, sendo a maioria de vacas em lactação, seguida por bezerras (as), vacas secas, novilhas de reposição, e um ou dois touros por rebanho. A maioria dos animais é mestiça resultante do cruzamento das raças gir e holandês, nos diversos graus de sangue.

Amostragem

Foram coletadas 920 amostras de soro de animais da raça girolanda, em 92 propriedades. Para se estabelecer o tamanho da amostra, foi adotada, como valor de referência, a prevalência observada por BIRGEL JUNIOR *et al.* (2006), que foi de 30%, correspondente à média obtida de vários estudos do país, sendo considerado uma margem de erro (e) de 10% e um nível de confiança (Z) de 95%, segundo o CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS (1979).

Para cada um dos 23 municípios foram amostrados quatro rebanhos/propriedades, totalizando 92 rebanhos. Como nas propriedades amostradas o rebanho bovino era menor ou igual a 100 cabeças, coletaram-se amostras de 10 animais (BRASIL, 2001), obedecendo à seguinte estratificação: duas novilhas de reposição (12 - 24 meses), sete vacas (>2 4 meses) e um touro (> 24 meses).

Colheita das amostras

O sangue foi coletado por punção da veia jugular, com agulhas descartáveis e sistema de vácuo. O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 1.000 g, durante 5min e acondicionado em microtubos,

no Laboratório de Virologia do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e, posteriormente, estocado à temperatura de -20° C até a realização da técnica sorológica no Laboratório de Virologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Técnica sorológica

A técnica utilizada para detecção de animais portadores de anticorpos anti-VLEB foi a Imunodifusão em Gel de Ágar (MILLER; VAN DER MAATEN, 1977), utilizando-se o kit produzido pelo Instituto Tecnológico do Paraná (TECPAR), que detecta anticorpos anti-gp51, de acordo com as instruções do fabricante.

Análise dos fatores de risco

Para cada propriedade estudada, foi aplicado questionário epidemiológico para obtenção de informações referentes aos animais estudados e ao manejo. As seguintes variáveis foram analisadas no questionário: conhecimento da LEB, uso repetido da mesma agulha para vacinação, vermifugação etc., uso repetido da mesma luva obstétrica de vacas, assistência veterinária, aquisição de animais de outras criações para reprodução e estabelecimento dos animais. Foi considerado estabelecido o rebanho onde os animais eram recolhidos e permaneciam em abrigos, no mínimo, durante a noite.

Análise estatística

Para o estudo da associação entre a soropositividade e as variáveis analisadas, foi utilizado o teste Qui-quadrado de independência. O nível de significância utilizado foi de 5%, com intervalos de confiabilidade de 95%. Também foram calculados a razão de probabilidades (*Odds ratio-OR*) e o risco relativo (THRUSFIELD, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teste de IDGA para pesquisa de anticorpos contra o VLEB em bovinos leiteiros, de acordo com as regionais e municípios da bacia leiteira do Estado do Maranhão, estão apresentados na Tabela 1.

A frequência estimada foi de 53,80% (intervalo de 50,58% a 57,03%) de animais reagentes, distribuídos em 98,91% (n = 91) dos rebanhos (propriedades) estudadas. A frequência observada por regional foi de 63,50%, 61,87%, e 60,62%, 41,18% e 30,83% para Bacabal, Ilha de São Luís, Pedreiras, Imperatriz e Açailândia, respectivamente, com diferença estatística entre as regionais (P < 0,05).

Todos os municípios apresentaram animais reagentes, com frequências variando de 22,50% (São Francisco do Brejão) a 75,00% (Bernardo do Mearim). Entre as frequências observadas nos municípios das regionais da Ilha de São Luís e Açailândia não houve diferença estatística significativa, porém houve diferença ($P < 0,05$) entre as frequências dos municípios das regionais de Bacabal, Pedreiras e Imperatriz.

A observação de alta frequência de animais reagentes para LEB em praticamente todos os rebanhos e em todos os municípios estudados demonstra a ampla distribuição desta doença na população bovina da bacia leiteira do Estado do Maranhão, com

pequenas variações entre os municípios de algumas regionais.

Os diversos inquéritos sorológicos realizados no Brasil, envolvendo diferentes populações, metodologias, períodos e locais de realização têm levado a resultados diversificados com frequência média de 27,60% de reagentes (BIRGUEL JÚNIOR *et al.*, 2006). A frequência observada neste estudo é superior à média nacional e às relatadas para bovinos leiteiros das regiões Norte, que apresenta média de 18,30% (CARNEIRO *et al.*, 2003), Nordeste, 29,94% (TAVORA; BIRGEL, 1991), Sudeste, 46,72% (MEGID *et al.*, 2003); Sul, 22,93% (SPONCHIADO, 2008) e Centro-Oeste, 40,13% (ANDRADE; ALMEIDA, 1991).

Tabela 1 - Distribuição de frequências de bovinos reagentes à imunodifusão em ágar gel (IDGA) para Leucose Enzoótica Bovina de acordo com as regionais e municípios da bacia leiteira do Estado do Maranhão.

Regionais	Municípios	Resultado da IDGA					Total
		Reagente	(%)	IC	Não reagente	(%)	
Bacabal	Bacabal	29	72,50 ^a	55,80 - 84,20	11	27,50	40
	São Luís Gonzaga	28	70,00 ^a	50,22 - 79,78	12	30,00	40
	Bom Lugar	26	65,00 ^{ab}	58,66 - 86,34	14	35,00	40
	Lago Verde	26	65,00 ^{ab}	50,22 - 79,78	14	35,00	40
	Olho D'água Cunhas	18	45,00 ^b	29,58 - 60,42	22	55,00	40
Subtotal		127	63,50 ^A	59,11 - 72,50	66	36,50	200
São Luís	Raposa	29	72,50 ^a	58,66 - 86,34	11	27,50	40
	São José de Ribamar	26	65,00 ^a	50,22 - 79,78	14	35,00	40
	São Luís	24	60,00 ^a	44,82 - 75,18	16	40,00	40
	Paço Lumiar	20	50,00 ^a	34,50 - 65,50	20	50,00	40
Subtotal		99	61,87 ^A	54,35 - 69,40	61	38,13	160
Pedreiras	Bernardo do Mearim	30	75,00 ^a	24,82 - 55,18	10	25,00	40
	Pedreiras	26	65,00 ^a	50,22 - 79,78	14	35,00	40
	Trizidela do Vale	25	62,50 ^{ab}	47,50 - 77,50	15	37,50	40
	Igarapé Grande	16	40,00 ^b	61,58 - 88,42	24	60,00	40
Subtotal		97	60,62 ^A	53,05 - 68,20	63	39,38	160
Imperatriz	Senador La Roque	25	62,50 ^a	44,82 - 75,18	15	37,50	40
	João Lisboa	24	60,00 ^a	42,18 - 72,82	16	40,00	40
	Imperatriz	23	57,30 ^a	47,50 - 77,50	17	42,50	40
	Amarante	19	47,50 ^{ab}	32,02 - 62,98	21	52,50	40
	Lageado Novo	17	42,50 ^{ab}	13,66 - 41,34	23	57,50	40
	São João do Paraíso	16	40,00 ^{ab}	24,82 - 55,18	24	60,00	40
	Porto Franco	11	27,50 ^b	27,18 - 57,82	29	72,50	40
Subtotal		135	41,18 ^B	42,36 - 54,07	145	51,78	280
Açailândia	Cidelândia	16	40,00 ^a	9,56 - 35,44	24	60,00	40
	Açailândia	12	30,00 ^a	24,82 - 55,18	28	70,00	40
	São Fco do Brejão	09	22,50 ^a	15,80 - 44,20	31	77,50	40
Subtotal		37	30,83 ^C	22,57 - 39,10	83	69,17	120
Total		495	53,80	50,58 - 57,03	425	46,20	920

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (Qui-quadrado; $P < 0,05$) entre os municípios da mesma Regional.

Letras maiúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (Qui-quadrado; $P < 0,05$) entre as Regionais.

IC = Intervalo de confiança de 95%.

A Bacia Leiteira do Maranhão não é uma área homogênea, existindo três aglomerações, formadas pelas regionais da Ilha de São Luís (nordeste), Bacabal e Pedreiras (centro) e Açailândia e Imperatriz (oeste). Observa-se que nas regionais situadas no nordeste e centro do Estado foram registradas as frequências mais elevadas e naquelas situadas mais a oeste, frequências mais baixas (Fig. 1). Isto indica a existência de algum fator relevante relacionado à distribuição espacial da LEB, possivelmente o fluxo de animais na Bacia Leiteira do Estado do Maranhão.

O desenvolvimento da pecuária leiteira no Estado do Maranhão tem sido intensificado nas três últimas décadas, com aperfeiçoamentos no processo de produção e aquisição de animais de outros estados. De modo geral há três principais

fluxos de animais: da região Sudeste principalmente (Minas Gerais) e do Nordeste (Pernambuco e Alagoas), para São Luís, Bacabal e Pedreiras, onde ocorrem as frequências mais elevadas, e da região Centro-Oeste para Açailândia e Imperatriz, onde as frequências são mais baixas, coincidindo, em linhas gerais, com as frequências previamente descritas, nas regiões sudeste (46,72%) (MEGID *et al.*, 2003; SPONCHIADO, 2008) e centro-oeste (40,13%) (ANDRADE; AMEIDA, 1991).

Ao analisar a distribuição de frequências de animais reagentes ao VLEB em relação à idade dos animais, observa-se que houve diferença estatisticamente significativa entre as faixas etárias ($P < 0,05$), ou seja, animais com idade superior a 48 meses (vacas e touros) apresentaram maior percentual de positividade (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição de frequência de bovinos da bacia leiteira do Estado do Maranhão reagentes à imunodifusão em ágar gel (IDGA) para Leucose Enzoótica Bovina de acordo com a faixa etária.

Faixa etária (meses)	Resultado da IDGA					
	Reagente	(%)	IC	Não reagente	(%)	Total
12 - 24	70	38,04 ^a	31,03 - 45,06	114	61,96	184
25 - 48	25	36,76 ^a	25,30 - 48,23	43	63,24	68
49 - 72	185	59,49 ^b	54,03 - 64,94	126	40,51	331
> 72	215	60,22 ^b	55,15 - 65,30	142	39,78	357
Total	495	53,80	50,58 - 57,03	425	46,20	920

Letras minúsculas distintas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa (Qui-quadrado; $P < 0,05$) entre as faixas etárias.

IC = Intervalo de confiança de 95%.

Tabela 3 - Distribuição de frequências de bovinos reagentes à imunodifusão em ágar gel (IDGA) para Leucose Enzoótica Bovina em relação às variáveis estudadas na bacia leiteira do Estado do Maranhão.

Variáveis		IDGA (n = 920)				Indicadores epidemiológicos		
		Positivo	(%)	Negativo	(%)	P<0,05	OR (IC)	RR (IC)
Conhecimento da LEB	Sim	51	51,00	49	49,00	0,6244	0,88	0,94
	Não	444	54,15	376	45,85			
Uso repetido da mesma agulha	Sim	463	56,46	357	43,54	0,0000	2,76	1,76
	Não	32	32,00	68	68,00			
Uso repetido da luva obstétrica	Sim	110	64,71	60	35,29	0,0021	1,74	1,26
	Não	385	51,33	365	48,67			
Ausência de assistência veterinária	Sim	348	56,68	266	43,32	0,0161	1,42	1,18
	Não	147	48,04	159	51,96			
Aquisição de animais	Sim	182	55,15	148	44,85	0,5864	1,09	1,04
	Não	313	53,05	277	46,95			
Estabulação	Sim	452	55,80	358	44,20	0,0014	1,97	1,43
	Não	43	39,09	67	60,91			

Pro = Probabilidade de ocorrência ao acaso (95%).

OR = Odds ratio.

RR = risco relativo.

IC = Intervalo de confiança de 95%.

Este resultado pode ser explicado biologicamente, uma vez que a LEB é uma doença de evolução crônica, potencialmente transmitida em diferentes fases da vida produtiva é esperado que quanto maior tempo de exposição, mais elevadas serão as taxas de reagentes. Achados semelhantes são citados por outros autores (LEUZZI JÚNIOR *et al.*, 2003; SPONCHIADO, 2008).

Ao se analisar as variáveis estudadas como potenciais fatores de risco para LEB foi verificada associação estatística significativa entre animais reagentes para LEB e uso repetido da mesma agulha para vacinação, vermifugação etc, uso repetido da mesma luva obstétrica, estabulação dos animais e ausência de assistência veterinária ($P < 0,05$). O conhecimento da LEB pelos criadores e a aquisição de animais de outras criações para reprodução não interferiu na soropositividade para LEB ($P > 0,05$) (Tabela 3).

É bem conhecido que a infecção pelo VLEB está associada aos linfócitos, de forma que qualquer material biológico que veicule esse tipo celular serve potencialmente via de transmissão para animais susceptíveis. Tem sido demonstrado, experimentalmente, que a inoculação de quantidade mínima de sangue é suficiente para reproduzir a infecção pelo VLEB (JOHNSON; KANEENE, 1992). Assim, o uso repetido de agulhas e luvas obstétricas aumentou o risco de transmissão do VLEB em 1,26 e 1,76 vezes, respectivamente (Tabela 3). Embora tenha sido previamente citado a associação desses fatores à transmissão do VLEB (JOHNSON; KANEENE, 1992; SPONCHIADO, 2008), não havia estudo mais sistemático que demonstrasse em tal associação em condições de manejo em clima tropical.

A estabulação dos animais aumentou o risco de reagentes para o VLEB em 1,43 vezes. De acordo com o manejo adotado nas criações da bacia leiteira do Estado do Maranhão, os animais que são estabulados permanecem aglomerados a noite e, em parte das criações, durante o dia com acesso a piquetes próximos às instalações. A estabulação dos animais em um sistema de produção voltado para produção leiteira, com contato prolongado, facilita a disseminação de infecções crônicas, como a LEB, através da exposição direta a fluidos biológicos contaminados com linfócitos infectados (MILLER; VAN DER MAATEN,

1982). Isto também é compatível com a observação que o maior tempo de exposição leve a taxas mais elevadas de reagentes.

Por outro lado, tem sido relatado que a intervenção humana, incluindo médicos veterinários e auxiliares envolvidos na pecuária, contribui para o aumento da frequência da LEB (FERNANDES, 2007; SPONCHIADO, 2008). Neste estudo, a assistência veterinária se comportou como fator de proteção, uma vez que sua ausência implicou no aumento do risco de reagentes para LEB em 1,18 vezes. Assim, o que é mais importante a considerar não é só a presença ou ausência de assistência veterinária, mas sim as práticas realizadas e orientadas pelos profissionais veterinários responsáveis pela atenção aos rebanhos, o que deveria ser avaliado em futuros estudos sobre o assunto.

Quando foi feita a distribuição de frequências dos fatores de risco identificados para LEB entre os rebanhos estudados, observa-se que os mais frequentes foram o uso repetido da mesma agulha para vacinação, vermifugação etc. (89,13% das criações) e a estabulação dos animais (88,04%), seguidos da ausência de assistência veterinária (33,70%) e uso repetido da luva obstétrica (18,48%) (Tabela 4). Diante desta constatação, medidas de controle da LEB deveriam ser adotadas visando reduzir a frequência dos fatores de risco nas criações. O uso de agulha descartável para cada animal, intensificação da assistência veterinária, com atenção ao risco de transmissão para LEB, incluindo outros além dos aqui estudados, e uso de luva obstétrica para palpação de cada animal são, aparentemente, as medidas mais práticas de serem adotadas. Essas recomendações também são citadas por SPRECHER *et al.* (1991) e PELZER; SPRECHER (1993). Outras medidas que podem ser adotadas são quarentena e testes sorológicos dos bovinos, com intervalo de no mínimo dois meses, antes da introdução no rebanho de bovinos recentemente adquiridos (JOHNSON; KANEENE, 1992). A redução da estabulação é prática difícil de ser implementada, devido às particularidades do manejo dos bovinos leiteiros, porém, é possível evitar a intensificação excessiva da criação, com permanência dos animais em áreas maiores e mais abertas para circulação de ar e contato menos íntimo entre os indivíduos.

Tabela 4 - Distribuição de frequências dos fatores de risco para Leucose Enzoótica Bovina (LEB) de acordo com os rebanhos estudados na bacia leiteira do Estado do Maranhão.

Fator de risco	Situação do rebanho					
	Presente	(%)	IC	Ausente	(%)	Total
Uso repetido da mesma agulha	82	89,13	82,77 - 95,49	10	10,87	92
Uso repetido da luva obstétrica	17	18,48	10,55 - 26,41	75	81,52	92
Ausência de assistência veterinária	31	33,70	24,04 - 43,35	61	66,30	92
Estabulação	81	88,04	81,41 - 94,67	11	11,96	92

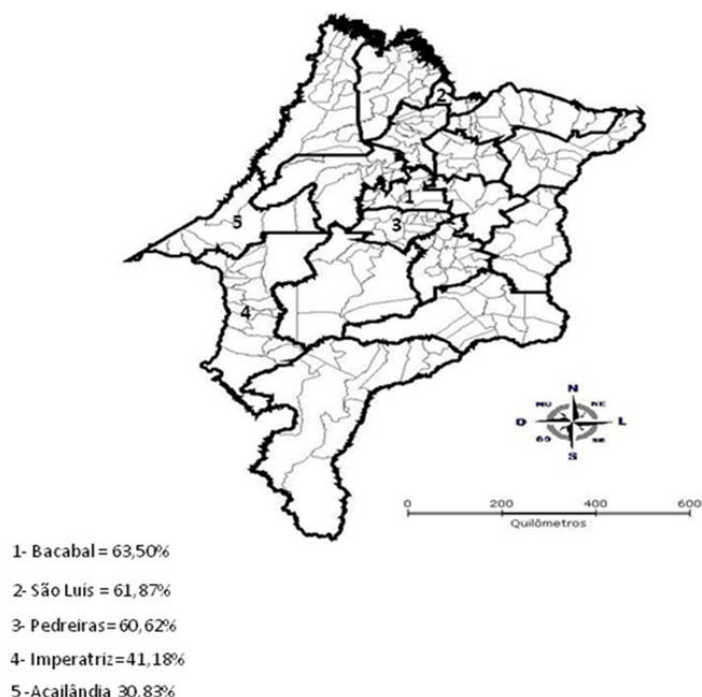


Fig.1 - Mapa do Estado do Maranhão representando cinco regionais, com destaque para a Bacia Leiteira e distribuição da frequência da LEB: 1 - Bacabal, 2 - São Luís, 3 - Pedreiras; 4 - Imperatriz; 5 - Açailândia.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados, pode-se concluir que:

- A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) ocorre com alta frequência nos bovinos leiteiros de todas as regionais e municípios do Estado do Maranhão, com distribuição espacial heterogênea, onde as maiores prevalências foram encontradas nas regionais situadas no nordeste (São Luís) e no centro (Bacabal e Pedreiras) e, as menores frequências nas regionais situadas no oeste (Açailândia e Imperatriz);
- A LEB é mais frequente em bovinos com mais de 48 meses de idade;
- Os fatores de risco para LEB identificados nas criações são: uso repetido da mesma agulha; estabulação dos animais; ausência de assistência veterinária; e uso repetido da luva obstétrica.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa concedida ao professor Roberto Soares de Castro; À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa concessão ao Professor Hamilton Pereira Santos; À Fundação de Apoio à Ciência e Tecnologia do Estado do Maranhão, pela concessão da ajuda através do Programa de Apoio a Projetos de Pesquisa; Ao Instituto do Agronegócio do Estado do Maranhão pela ajuda concedida ao Projeto; Ao

professor Rômulo Cerqueira Leite, da Universidade Federal de Minas Gerais, pela concessão de vírus da Leucose Enzoótica Bovina.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, J. R. A.; ALMEIDA, M. M. R. Prevalência da Leucose Enzoótica Bovina na Bacia Leiteira de Goiânia, Goiás. *A Hora Veterinária*, v.10, n.60, p.49-53, 1991.
- ATLAS DO MARANHÃO. *Gerência de Planejamento e Desenvolvimento Econômico. Laboratório de Geoprocessamento-UEMA*. 2.ed. São Luís: GEPLAN, 2006. p.30-36.
- BARROS FILHO, I.R.; GUIMARÃES, A.K.; BIOND, A.W.O; KRÜGER, E.R.; WAMMES, E.V; OLLHOFF, R.D.; PIEKARZ, C.H.; SPONCHIADO, D. Prevalência da Leucose Enzoótica em bovinos leiteiros criados na região metropolitana de Curitiba - Paraná. *Ciência Animal Brasileira*, 2009. Suplemento 1.
- BIRGEL, E.H. Leucose Enzoótica dos bovinos adultos: aspectos clínicos e diagnóstico. In BIRGEL, E.H.; BENESI, E.J. (Ed.). *Patologia clínica veterinária*. 2.ed. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p.249-260.
- 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*, v.22, n.2, p.122-129, 2006.

- BRASIL. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). Inquérito Soroepidemiológico da Brucelose: *Manual de Procedimentos*. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2001. 24p.
- 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*, v.33, n.1, p.111-125, 2003.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. *Procedimentos para estudos de prevalencia por muestro*. Buenos Aires: CPZ, 1979. 35p. (Nota técnica, 18, rev. 1).
- FERNANDES, C.H.C. *Leucose Enzoótica dos Bovinos: Soroprevalência, Fatores de Risco e Níveis Séricos de Lisozima em Bovinos Leiteiros do Estado do Tocantins, Brasil*. 2007. 83p. Tese (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.
- FERRER, J.F.; MARSHAK, R.R.; ABT, D.A.; KENYON, S.J. Relationship between lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in cattle: a review. *Journal of the American Medical Association*, v.175, n.7, p.705-708, 1979.
- HUBNER, S.O.; WEIBLEN, R.; MORAES, M.P.; SILVA, A.M.; CARDOSO, M.J.L.; PEREIRA, N.M.; ZANINI, M. Infecção intra-uterina pelo vírus da leucose bovina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.21, n.4, p.8-11, 1997.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo, 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 17 mar. 2009.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. Virus Taxonomy: 2009 release. Disponível em: <<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1>>. Acesso em: jan. 2010.
- JOHNSON, R.; KANEENE, J.B. Bovine Leukemia Virus and Enzootic Bovine Leukosis. *Veterinary Bulletin*, v.62, n.4, p.287-314, 1992.
- LEUZZI JUNIOR, L.A.; GUIMARÃES JUNIOR, J.S.; FREIRE, R.L.; FREIRA, A.F.A. Influência da idade e do tamanho do rebanho na soroprevalência da leucose enzoótica bovina em rebanhos produtores de leite. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.10, n.1, p.21-22, 2003.
- LUCAS, M.H. Enzootic Bovine Leukosis. In: ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H. (Ed.). *Bovine medicine*. London: Blackwell Scientific Publications, 1992. p.530-537.
- MATOS, P.F.; BIRGEL JUNIOR, E.H.; BIRGEL, E.H. Leucose enzoótica dos bovinos: prevalência de anticorpos séricos em bovinos criados na Bahia e comparação entre resultados do teste de Elisa e da imunodifusão em gel de ágar. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.42, p.171-180, 2005.
- MEGID, J.; NOZAKI, C.N.; KURODA, R.B.S.; CRUZ, T.F.; LIMA, K.C. Ocorrência de leucose enzoótica bovina na microrregião da Serra de Botucatu, SP, Brasil. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55, n.5, 2003.
- MILLER, J.M.; VAN DER MAATEN, M.J. Serological detection of bovine leukemia virus. *Veterinary Microbiology*, v.1, n.3, p. 195-202, 1977.
- MILLER, J.M.; VAN DER MAATEN, M.J. Bovine leukosis – Its importance to the Dayre Industry in the United states. *Journal Dary Science*, v.65, n.11, 1982.
- OIE - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SANIDADE ANIMALS. OIE. 2003. *Terrestrial Animal Health Code*. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mcode/A_00047.htm>. Acesso em: set. 2009.
- OIE - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SANIDADE ANIMALS. OIE. 2008. *Terrestrial Animal Health Code*. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mcode/A_00047.htm>. Acesso em: set. 2009.
- PELZER, K; SPRECHER, D. Controlling BLV infection on dairy operations. *Veterinary Medicine*, v.88, n.3, p.275-281, 1993.
- PEREIRA, N.M.; ZANINI, M. Infecção intra-uterina pelo vírus da leucose bovina. *Revista Brasileiro de Reprodução Animal*, v.21, n.4, p.8-11, 1997.
- 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, Brasil*. 101p. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- SPRECHER, D.J.; PELZER, K.D.; LESSARD, P. Possible effect of altered management practices on seroprevalence of bovine leukemia virus in heifers of a dairy herd with history of high prevalence of infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.199, n.5, p.584-588, 1991.
- TÁVORA, J.P.F.; BIRGEL, E.H. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose bovina em rebanhos leiteiros criados na região do pólo de Itabuna, Estado da Bahia. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal da Bahia*, v.14, p.164-183, 1991.
- THRUSFIELD, V. *Veterinary epidemiology*. London: Butterworths, 2007. 610p.

Recebido em 3/3/10
Aceito em 29/4/11