

**FATORES DE RISCO, SOROPREVALÊNCIA, GENOTIPAGEM E ASSOCIAÇÃO
DO LOCUS BoLA-DRB3 COM A RESISTÊNCIA AO VÍRUS DA LEUCOSE
ENZOÓTICA EM BOVINOS LEITEIROS**

Luísa Fontes Giachini, Ubirajara Maciel da Costa, Felipe Eduardo Fiorin, Anna Caroline Pontel de Almeida, Mariana da Silva Casa, Graziela Vieira Fonteque, Carla Ivane Ganz Vogel, Luiz Cláudio Milette, Guillermo Giovambattista, Shin-Nosuke Takeshima, Joandes Henrique Fonteque

INTRODUÇÃO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma enfermidade linfoproliferativa crônica causada pelo Vírus da Leucose Bovina (BLV) (ALMEIDA et al., 2021), responsável por expressivas perdas econômicas como queda na eficiência reprodutiva, produção leiteira e peso, além de restrições comerciais e óbitos (BENITEZ et al., 2019). Estudos recentes associam o BLV à proliferação de células tumorais mamárias em mulheres (BUEHRING et al., 2015; DELARMELINA et al., 2020; KHATAMI et al., 2020). Sem vacina ou tratamento eficaz (ALMEIDA et al. 2021) o levantamento de dados de prevalência e o estudo dos genótipos virais são essenciais para a criação de estratégias de prevenção e controle da doença, além de análises a partir da associação entre os alelos do gene BoLA-DRB3 com a resistência a enfermidade para uma futura inserção dessa característica em programas de melhoramento genético (RUPP et al., 2007). O gene BoLA-DRB3, componente do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) dos bovinos, é altamente expresso e polimórfico e está associado à tolerância de diversas enfermidades (BALTIAN et. al., 2016). O objetivo do projeto é determinar a prevalência, os fatores de risco e os genótipos do BLV presentes nos rebanhos leiteiros do estado de Santa Catarina, e identificar possíveis associações do locus BoLA-DRB3 com a resistência a infecção pelo vírus.

DESENVOLVIMENTO

Foi realizado o exame físico e colhidas amostras de sangue, em tubos sem e com anticoagulante EDTA, de 447 bovinos, fêmeas, adultas da raça Holandesa em 27 propriedades produtoras de leite acima de 100 vacas em lactação, das seis mesorregiões do estado, sendo 316 animais da região Oeste, 45 da Serrana, 28 do Sul, 28 do Vale do Itajaí, 20 do Planalto Norte e 10 da Grande Florianópolis. A alíquota com EDTA foi destinada para a realização do leucograma, concentração de proteínas totais plasmáticas e fibrinogênio plasmático, enquanto a sem o anticoagulante a 10% foi reservada para a extração e purificação de DNA viral e detecção do BLV por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). O soro foi separado para a elaboração dos testes de Ensaio Imunoenzimático (ELISA). Foram escolhidas, aleatoriamente, 100 amostras positivas e negativas tanto pela técnica de PCR, quanto pelo ELISA, processadas e enviadas para amplificação e genotipagem do locus BoLA-DRB3. Para a obtenção dos fatores de risco foi aplicado um questionário epidemiológico, envolvendo informações dos animais e da propriedade. A análise estatística dos dados foi realizada pela análise de variância (ANOVA), para as variáveis clínicas e hematológicas. Para verificar a associação entre o status do rebanho para a LEB e os fatores de risco foi utilizado o teste de risco relativo, seguida por análise de regressão logística, a qual também foi aplicada para verificar a associação dos alelos BoLA-DRB3 com a presença ou ausência da infecção. Os genótipos foram classificados de 1 a 10 de acordo com substituições específicas de aminoácidos em regiões estruturais e não-estruturais do genoma viral.

RESULTADOS

A prevalência da Leucose Enzoótica Bovina (LEB) foi de 29% (130/447) pela PCR e 52% (232/447) pelo ELISA. A distribuição viral por mesorregião apresentou 28% e 42% no Oeste, 16% e 82% na Serra, 46% e 78% no Sul, 60% e 100% na Grande Florianópolis, 36% e 43% no Vale do Itajaí e 30% e 90% no Planalto Norte, respectivamente para PCR e ELISA. O genótipo mais prevalente foi o G1, presente em todas as regiões e exclusivo no Sul e Planalto Norte, seguido pelo G7, identificado no Oeste, Serrana e Grande Florianópolis, enquanto Oeste e Vale do Itajaí também apresentaram G6. Os animais foram subdivididos em quatro grupos, conforme leucograma e resultados de PCR e ELISA. Foram negativos e sem alterações hematológicas 71% (317/447) e 49% (217/447) dos animais, respectivamente. Entre os positivos, 55% (72/130) e 58% (133/230) não apresentaram leucocitose, 10% (13/130) e 11% (25/230) apresentaram leucocitose alinfocítica e 35% (45/130) e 31% (72/230) leucocitose linfocítica, esta última definida por leucócitos $>15 \times 10^3/\mu\text{L}$ e linfócitos $>10 \times 10^3/\mu\text{L}$. Apesar de maiores contagens no grupo Positivos Linfocíticos, animais negativos também apresentaram leucocitose, além de neutrofilia generalizada, mais acentuada em positivos alinfocíticos. A linfocitose apresentou diferença ($P<0,05$) entre positivos e negativos. A idade foi associada à infecção apenas no ELISA, com maior prevalência em animais acima de quatro anos. A temperatura corporal foi mais elevada em positivos linfocíticos na PCR e em positivos sem linfocitose no ELISA, embora dentro dos valores de referência. Os principais fatores de risco associados foram propriedades com mais de 200 animais, reposição de plantéis externos, ausência de histórico ou diagnóstico da doença, reutilização inadequada de agulhas e seringas, prática de mochação, presença de banco de colostro e ausência de registros de outras enfermidades. Na genotipagem do gene BOLA-DRB3 foram identificados 20 alelos, destacando-se DRB3001:01 (27,6%), DRB3015:01 (20,7%), DRB3010:01 (14%), DRB3011:01 (10,7%) e DRB3014:01:01 (8%), além dos inéditos DRB3020:01:01 e DRB3044:01. O alelo DRB3011:01 foi associado à resistência à LEB ($p=0,036$). A diversidade genética foi considerada baixa ($h_o=0,823$; $h_e=0,839$), sem desvio significativo do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p=0,018$) ou seleção por balanceamento segundo Slatkin ($p=0,111$).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluímos que a Leucose Enzoótica Bovina está presente (29% PCR; 52% ELISA) nos rebanhos leiteiros da raça Holandesa do estado de Santa Catarina, com maior prevalência (60% PCR; 100% ELISA) na mesorregião da Grande Florianópolis. O desenvolvimento de leucocitose foi compatível com a presença do vírus e 30% dos animais infectados demonstraram linfocitose. Os animais não apresentaram sinais clínicos que possam ser relacionados com a presença do vírus e que a maior proporção de animais positivos foi correlacionada com o aumento da idade dos indivíduos. A população de bovinos da raça holandesa em Santa Catarina apresenta baixa diversidade genética para o gene BoLA-DRB3.2. Dois alelos, DRB320:01:01 e DRB3044:01 foram identificados pela primeira vez nessa raça. Além disso, o alelo BoLA-DRB3.2*011:01 demonstrou associação com a resistência à infecção natural pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV). Ressalta-se a necessidade de montar estratégias de prevenção e controle para evitar a perpetuação e maior disseminação do vírus da leucose enzoótica em bovinos leiteiros no estado de Santa Catarina.

Palavras-chave: epidemiologia; Retrovírus; holandesa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, I.C. et al. Seroprevalence and Influence of Bovine Leukemia Virus on the Incidence of Mastitis in Dairy Herds. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 49, n. 1, p. 1783, 2021.
- BALTIAN, L. R. et al. Polimorfismos del exón 2 del gen BoLA-DRB3 asociados con resistencia/susceptibilidad a leucosis en ganado Holstein de La Pampa. *Ciêncie Veterinária*, v. 18, p. 9-27, 2016.
- BENITEZ, O.J. et al. Lack of Bovine leukemia virus transmission during natural breeding of cattle. *Theriogenology*, v. 126, n. 1, p. 187-190, 2019.
- BUEHRING, G.C. et al. Exposure to bovine leukemia virus is associated with breast cancer: a case-control study. *PLoS One*, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2015.
- DELARMELINA, E. et al. High positivity values for bovine leukemia virus in human breast cancer cases from Minas Gerais, Brazil. *PLoS ONE*, v. 15, n. 10, pg. 1-7, 2020.
- KHATAMI, A. et al. Bovine Leukemia virus (BLV) and risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Infectious Agents and Cancer*, v. 15, n. 48, pg. 1-8, 2020.
- RUPP, R. et al. Association of bovine leukocyte antigen (BoLA) DRB3. 2 with immune response, mastitis, and production and type traits in Canadian Holsteins. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 2, p. 1029-1038, 2007.

DADOS CADASTRAIS

BOLSISTA: Luísa Fontes Giachini

MODALIDADE DE BOLSA: Voluntário/PIVIC

VIGÊNCIA: 09/2024 a 08/2025 – Total: 12 meses

ORIENTADOR(A): Joandes Henrique Fontequé

CENTRO DE ENSINO: CAV

DEPARTAMENTO: Medicina Veterinária

ÁREAS DE CONHECIMENTO: Medicina Veterinária/Clínica e Cirurgia Animal/Clínica Veterinária

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: Fatores de Risco, soroprevalência, genotipagem e associação do locus BOLA-DRB3 com a resistência ao vírus da Leucose Enzoótica em bovinos leiteiros

Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA: NPP3979-2022