

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

Gisele Cândida Ramalho

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO PARA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA NO
ESTADO DA PARAÍBA

Patos/PB
2020

Gisele Cândida Ramalho

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO PARA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA NO
ESTADO DA PARAÍBA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Orientador

Prof^a. Dr^a. Carolina de Sousa Américo Batista Santos
Coorientadora

Patos/PB
2020

R165e

Ramalho, Gisele Cândida.

Estudo epidemiológico para leucose enzoótica bovina no estado da Paraíba / Gisele Cândida Ramalho. – Patos, 2020.

57f.: il; color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Saúde Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2020.

“Orientação: Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo”.

Referências.

1. Ciência Veterinária. 2. Leucose Enzoótica - Bovino. 3. Epidemiologia. 4. Leucose Enzoótica – Fatores de Risco. 5. Análise de Aglomerados Espaciais. 6.Revisão Sistemática. I. Azevedo, Sérgio Santos de. II. Título.

CDU 636.09(043)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

GISELE CÂNDIDA RAMALHO
Mestranda


Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

APROVADO EM 20.02.2020


EXAMINADORES:



Prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Presidente (Orientador)



Dra. Luana Cristiny Rodrigues Silva
Universidade Federal de Campina Grande/CSTR/UFCG
Membro Externo



Prof. Dr. Albério Antônio de Barros Gomes
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Membro Externo

AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua misericórdia e por ser meu alicerce. A sua mãe, Maria, por me acalantar em momentos que eu precisei.

Aos meus pais, Geilson e Albertina, e minha irmã, Geovana, por acreditarem em mim, me apoiarem e me encorajarem a sempre evoluir como profissional.

Ao meu esposo, Tássio, pelo amor, apoio, paciência, incentivo, palavras de encorajamento e por ser meu melhor amigo e exemplo como profissional.

Aos demais familiares que me apoiaram, e, principalmente aos meus avós, na pessoa de Irani Ramalho (*in memorian*) que mesmo na ausência do conhecimento científico, sempre me repassou ensinamentos valiosos.

As minhas amigas Lyandra Lésia, Denise Monteiro, Sabrina Cruz, Bruna Conceição, Maria da Conceição, Maíra Abrantes, Karol Naelly, Marilene Fernandes e aos meus amigos João Victor e Samuel Fernandes, pela paciência, conselhos e palavras de incentivos, que foram essenciais para que eu conseguisse completar essa caminhada. As minhas amigas da medicina veterinária e que o mestrado me proporcionou: Daniele Pessoa, Denise Nogueira, Flávia Ribeiro, Katianny Bezerra, Elioneide Farias, Camila Bezerra e Carolina Lúcio, que foram inspiração, luz e conforto para que eu conseguisse superar todos os obstáculos.

A minha amiga, Brunna Falcão, deixo aqui a minha gratidão por todo o auxílio, paciência, conselhos, correções e amor a mim destinados. A minha amiga Karoline Rocha, pelas palavras de apoio e por estar sempre me encorajando a seguir em frente.

Ao meu orientador Sérgio Azevedo pela oportunidade, pela paciência, pelos conhecimentos repassados e por sempre incentivar-me a ser melhor. A minha coorientadora e mãe adotiva Carolina Américo, toda a minha gratidão pela orientação no mestrado e na vida. Desejo que ambos cresçam cada dia mais, como profissionais e como família. Aos dois, um abraço caloroso e repleto de gratidão.

A Dra. Luana pela paciência, por todo o auxílio no desenvolvimento dessa dissertação e pelos conhecimentos compartilhados. A Clécio Limeira, pela disposição e por todos os conhecimentos divididos. A Débora Luíse pelo convívio durante o mestrado.

A todos do Laboratório de Doenças Transmissíveis da UFCG, Patos, por me auxiliar na execução desse trabalho e por serem solícitos a me ajudar quando precisei.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal e aos professores da UFCG. A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho!

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO GERAL	12
CAPÍTULO I: High herd-level seroprevalence and associated factors for bovine leukosis in Paraíba state, Northeastern Brazil. Gisele C. Ramalho, Maria Luana C. R. Silva, Brunna M. R. Falcão, Clécio H. Limeira, Denise B. Nogueira, Amanda M. dos Santos, Camila M. Martins, Clebert J. Alves, Carolina de S. A. B. Santos, Sérgio S. de Azevedo. <i>Transboundary and Emerging Diseases</i>	18
Abstract.....	18
1 INTRODUCTION.....	19
2 MATERIAL AND METHODS	20
2.1 Characterization of the study area	20
2.2 Sampling design and field activities.....	21
2.3 Data collection.....	22
2.4 Serological diagnosis.....	22
2.5. Herd-level and animal-level prevalence calculations.....	23
2.6 Analysis of associated factors with herd-level prevalence.....	23
2.7 Spatial cluster analysis	24
3 RESULTS.....	24
4 DISCUSSION	25
5 CONCLUSION	27
REFERENCES	27
CAPÍTULO II: Soroprevalência da leucose enzoótica bovina (LEB): uma revisão sistemática e meta-análise. Gisele C. Ramalho, Clécio H. Limeira, Brunna M. R. Falcão, Denise B. Nogueira, Flávia T. R. da Costa, Camila de S. Bezerra, Débora L. C. de Sousa, Maria Luana	

C. R. Silva, Camila M. Martins, Clebert J. Alves, Carolina de S. A. B. Santos, Sérgio S. de Azevedo. Tropical Animal Health and Production	38
Resumo	38
Introdução	39
Material e Métodos	41
Desenho da pesquisa.....	41
Elegibilidade dos artigos	41
Fontes de informação e estratégias de busca	42
Seleção dos estudos e extração dos dados	42
Análise dos dados	43
Resultados.....	43
Discussão	44
Referências	46
CONCLUSÃO GERAL	57

RESUMO

Esta dissertação é composta por dois capítulos. No Capítulo 1, os objetivos foram estimar as prevalências em nível de rebanho e nível animal, identificar agrupamentos espaciais de propriedades positivas e fatores associados à prevalência de rebanhos positivos para leucose enzoótica em bovinos no Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. O estado foi dividido em três grupos amostrais: estrato amostral 1 (mesorregião do Sertão), estrato amostral 2 (mesorregião da Borborema) e estrato amostral 3 (mesorregiões da Zona da Mata e Agreste). Para cada estrato amostral, as prevalências de rebanhos positivos e de animais soropositivos foram estimadas por amostragem em dois estágios. No primeiro estágio, um número preestabelecido de rebanhos (unidades primárias de amostragem) foi selecionado aleatoriamente; no segundo estágio, um número pré-estabelecido de vacas com idade ≥ 24 meses (unidades secundárias de amostragem) foi selecionado aleatoriamente. No total, 2067 animais foram testados em 400 rebanhos. Foram utilizados kits de teste de ensaio imunoabsorvente enzimático (ELISA): IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test. Um rebanho foi considerado positivo para a presença de LEB se incluísse pelo menos um animal positivo em rebanhos de até 24 fêmeas e dois animais positivos em rebanhos com mais de 24 fêmeas. A prevalência em nível de rebanho foi de 23.4 % (95% CI = 19.2-28.1), e a prevalência por animal foi de 10.8 % (95% CI= 7.5- 15.3). Para os grupos amostrais a prevalência em nível de rebanho e por animal foram respectivamente, 24.2% (95% CI= 17.5 – 32.4) e 7% (95% CI= 88.7 – 95.7) no Sertão, 17.5 % (95% CI= 12.0 -24.9) e 5.9 % (95% CI= 89.1 -96.9) na Borborema e 25.9% (95% CI= 19.2-34.0) e 18.6 % (95% CI= 70.0 – 89.2) na Zona da Mata/ Agreste.), os fatores associados foram: ordenha (PR= 1,7), tamanho do rebanho > 23 animais (PR = 2,1), inseminação artificial (PR= 1,6), compra de animais (PR = 1,7) e fazenda de periferia urbana (PR= 1,9). Não foram identificados agrupamentos espaciais, evidenciando que a infecção está distribuída uniformemente pelo estado da Paraíba. No Capítulo II, realizou-se uma revisão sistemática com meta-análise acerca da situação da doença mundialmente. Os resultados encontrados sugerem a livre circulação do vírus na população bovina com a presença de fatores associados significantes que precisam ser mais investigados para um controle efetivo da infecção.

Palavras-chave: Leucose enzoótica; Bovino; Fatores de risco; Epidemiologia; Análise de aglomerados espaciais; Revisão sistemática; Nordeste Brasil.

ABSTRACT

This dissertation consists of two chapters. In Chapter 1, the objectives were to estimate the prevalence at the herd and animal level, to identify spatial clusters of positive properties and factors associated with the prevalence of positive herds for enzootic leukosis in cattle in the State of Paraíba, Northeast Brazil. The state was divided into three sample groups: stratum 1 (mesoregion of Sertão), stratum 2 (mesoregion of Borborema) and stratum 3 (mesoregions of Zona da Mata and Agreste). For each sampling stratum, the prevalence of positive herds and seropositive animals was estimated by two-stage sampling. In the first stage, a pre-established number of herds (primary sampling units) was selected at random; in the second stage, a pre-established number of cows aged ≥ 24 months (secondary sampling units) was randomly selected. In total, 2067 animals were tested in 400 herds. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test kits were used: IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test. One herd was considered positive for the presence of EBL if it included at least one positive animal in herds of up to 24 females and two positive animals in herds with more than 24 females. The prevalence at the herd level was 23.4% (95% CI = 19.2-28.1), and the prevalence per animal was 10.8% (95% CI = 7.5-15.3). For the sample groups, the prevalence at herd level and per animal were, respectively, 24.2% (95% CI = 17.5 - 32.4) and 7% (95% CI = 88.7 - 95.7) in the Sertão, 17.5% (95% CI = 12.0 -24.9) and 5.9% (95% CI = 89.1 -96.9) in Borborema and 25.9% (95% CI = 19.2-34.0) and 18.6% (95% CI = 70.0 - 89.2) in the Zona da Mata / Agreste.), the associated factors were: milking (PR = 1.7), herd size > 23 animals (PR = 2.1), artificial insemination (PR = 1.6), purchase of animals (PR = 1.7) and urban periphery farm (PR = 1.9). No spatial clusters were identified, showing that the infection is evenly distributed throughout the state of Paraíba. In Chapter II, there was a systematic review with meta-analysis about the disease situation worldwide. The results found suggest the free circulation of the virus in the bovine population with the presence of significant associated factors that need to be further investigated for effective infection control.

Keywords: Enzootic leukosis; Bovine; Risk factors; Epidemiology; Analysis of spatial clusters; Systematic review; Northeast Brazil.

LISTA DE TABELAS

Páginas

Capítulo I:

TABLE 1 - Apparent herd-level prevalence for enzootic bovine leukosis in cattle in the state of Paraíba, Northeastern Brazil, according to sampling stratum.	34
TABLE 2 - Apparent animal-level prevalence for enzootic bovine leukosis in cattle in the state of Paraíba, Northeastern Brazil, according to sampling stratum.	34
TABLE 3 - Univariable analysis for risk factors associated with the apparent herd-level prevalence of enzootic bovine leukosis cattle in the state of Paraíba, Northeastern Brazil.	34
TABLE 4 - Factors associated with the apparent herd –level prevalence of enzootic bovine leukosis in cattle in the state of Paraíba, Northeastern Brazil.	36

Capítulo II:

TABELA 1 - Síntese quantitativa das principais características dos estudos incluídos na meta-análise	56
---	----

LISTA DE FIGURAS

Páginas

Capítulo I:

- FIGURE 1** - Division of the state of Paraíba into three sampling groups, and geographical distribution of positive and negative herds. Detail shows the State of Paraíba within Brazil33
- FIGURE 2** - Global spatial cluster analysis between positive and negative properties for bovine leukosis.33

Capítulo II:

- FIGURA 1** - Fluxograma do processo de busca, seleção e inclusão dos estudos na revisão sistemática54
- FIGURA 2** - Combinação de 13 estudos de prevalência para leucose enzoótica bovina de acordo com o método de diagnóstico utilizado55
- FIGURA 3** - Gráfico de funil apresentando a distribuição assimétrica dos estudos de prevalência de leucose enzoótica bovina.....55

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
>	Maior que
<	Menor que
=	Igual
-	Menos
≈	Aproximadamente
°C	Grau Celsius
≥	Maior igual
≤	Menor igual
BLV	Bovine leukemia virus
df	degrees of freedom
EBL	Enzootic bovine leukosis
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IDGA	imunodifusão em gel de ágar
Km ²	Quilômetros ao quadrado
LEB	Leucose Enzoótica Bovina
mL	Mililitro
mm	Milímetro
n	Número
OIE	World Organisation for Animal Health
RCP	Reação em cadeia da polimerase
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
PR	Prevalence ratio
RCP	Reação em cadeia da polimerase
SEDAP	Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária
VLEB	Vírus da Leucose Enzoótica Bovina

INTRODUÇÃO GERAL

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma doença infectocontagiosa com evolução crônica, ocasionada por um oncovírus tipo C da família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Deltaretrovirus* (Ravazzolo e Costa, 2007; Bartlett et al., 2014; ICTV 2018). O vírus da leucose enzoótica bovina (VLEB) induz a formação de linfossarcoma em aproximadamente 2% do gado infectado e pode acarretar linfocitose persistente em decorrência da desordenada proliferação de linfócitos B afuncionais (Nishimori et al., 2017; Farias et al., 2018; Akagami et al., 2019). O VLEB possui a capacidade de inserir o seu material genômico no genoma do hospedeiro, tornando portadores crônicos, sendo uma doença de grande relevância para o gado (Radostits et al., 2007; Kuczewski et al., 2019).

O diagnóstico da LEB pode ser realizado por meio de cultura e pela técnica da reação em cadeia pela polimerase (RCP), bem como e por técnicas sorológicas como a imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA). A RCP é utilizada principalmente como teste confirmatório em casos inconclusivos na sorologia, tanto pelo alto custo como pela necessidade de insumos e de mão de obra qualificada. Por outro lado, os métodos sorológicos são os mais utilizados em decorrência do melhor custo benefício. O IDGA é oficialmente reconhecido como teste padrão ouro, apresentando boa especificidade e sensibilidade, com baixo custo, e o ELISA apresenta melhor sensibilidade e boa especificidade, além de detectar anticorpos em outros materiais e testar um alto número de animais, apresentando como desvantagem o alto custo com máquinas para leitura e interpretação e necessidade de importar os *kits* (Hirsch e Leite, 2016; OIE, 2018).

O VLEB apresenta instabilidade no meio ambiente, dessa maneira, a transmissão ocorre preferencialmente entre animais ou por materiais recém-contaminados. O vírus tem sua disseminação vertical através da transferência de células infectadas no momento do parto, pela placenta, ou pelo colostro. (Gutiérrez et al., 2011; Hirsch e Leite, 2016). O compartilhamento de seringas hipodérmicas entre os animais, reutilização de luvas de palpação retal, procedimentos cirúrgicos que permitam a transferência de sangue contaminado entre os animais, insetos hematófagos e o contato próximo entre os animais com troca de fluidos corporais são formas horizontais de transmissão do VLEB (Rodríguez et al., 2011; Gutiérrez et al., 2014).

Com a formação de tumores e a depleção do sistema imunológico do gado infectado, o VLEB tem efeitos adversos para o bem-estar animal (Bartlett et al., 2014; Frie e Coussens, 2015) e para a produção devido a morte prematura dos animais e condenação de carcaças após o abate (Rhodes et al., 2003). Somado a isso tem-se a diminuição da produção de leite (Sargeant et al., 1997; Ott et al., 2003; Erskine et al., 2012) e do tempo de vida dos animais (Brenner et al., 1989; Bartlett et al., 2013). A condição imunossupressora dos bovinos infectados favorece o desenvolvimento de várias bacterioses como tuberculose, brucelose e leptospirose (Frie et al., 2011; Mendes et al., 2011) que ocasionam perdas diretas e indiretas, bem como implicações para a saúde pública, uma vez que são zoonoses (Carneiro et al., 2003; Ott et al., 2003; Tochetto et al., 2016).

A negligência no diagnóstico e controle da LEB é agravante para as perdas, visto que a disseminação do vírus ocorre de forma descontrolada, principalmente em países emergentes (Polat et al., 2016; Tsutsui et al., 2016). Dessa forma, o conhecimento da prevalência e dos fatores associados é fundamental para a implementação de programas de controle e conseqüentemente para a eliminação do vírus nas propriedades.

Esta dissertação consiste em dois capítulos: No Capítulo I foi determinada a prevalência de bovinos e de rebanhos soropositivos para leucose enzoótica no Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil, bem como os fatores associados à prevalência de rebanhos e identificação de aglomerados espaciais de propriedades positivas; o artigo será submetido ao periódico *Transboundary and Emerging Diseases* (JCR 3.554, Qualis A2). Já o Capítulo II consiste em revisão sistemática e meta-análise acerca da soroprevalência da leucose enzoótica bovina e será submetida ao periódico *Tropical Animal Health and Production* (JCR 1.089, Qualis B1).

REFERÊNCIAS

- AKAGAMI, M.; OYA, S.; KASHIMA, Y.; SEKI, S.; OUCHI, Y.; HAYAMA, Y. A hematologic key for bovine leukemia virus screening in Japanese black cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.31, n.4, 2019, p.568-571.
- BARTLETT, P.C.; NORBY, B.; BYREM, T.M.; PARMELEE, A.; LEDERGERBER, J.T.; ERSKINE, R.J. Bovine leukemia virus and cow longevity in Michigan dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.96, 2013, p.1591–1597.
- BARTLETT, P.C.; SORDILLO, L.M.; BYREM, T.M.; NORBY, B.; GROOMS, D.L.; SWENSON, C.L.; ZALUCHA, J.; ERSKINE, R.J. Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 244, 2014, p.914–922.
- BRENNER, J.; VAN-HAAM, M.; SAVIR, D.; TRAININ, Z. The implication of BLV infection in the productivity, reproductive capacity and survival rate of a dairy cow. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.22, 1989, p.299–305.
- CARNEIRO, P.A.M.; ARAÚJO, 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 Amazônica**, v.33, n.1, 2003, p.111-125.
- ERSKINE, R.J.; BARTLETT, P.C.; BYREM, T.M.; RENDER, C.L.; FEBVAY, C.; HOUSEMAN, J.T. Association between bovine leukemia virus, production, and population age in Michigan dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.95, 2012, p.727–734.
- FARIAS, M.V.N.; SOUZA, F.N.; LENDEZ, P.A.; MARTÍNEZ-CUESTA, L.; SANTOS, K.R.; DELLA LIBERA, A.M.M.P.; CERIANI, M.C.; DOLCINI, G.L. Lymphocyte proliferation and apoptosis of lymphocyte subpopulations in bovine leukemia virus-infected dairy cows with high and low proviral load. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.206, 2018, p.41-48.
- RAVAZZOLLO, A.P.; COSTA, U. **Retroviridae**. In: FLORES, E.F. (Org.). *Virologia Veterinária*. Rio Grande do Sul: UFSM, cap. 31, 2007, p.809-838.
- FRIE, M.C.; SPORER, K.R.; WALLACE, J.C.; MAES, R.K.; SORDILLO, L.M.; BARTLETT, P.C.; COUSSENS, P.M. Reduced humoral immunity and atypical cell-mediated immunity in response to vaccination in cows naturally infected with bovine leukemia virus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.182, 2016, p.125-135.

FRIE, M.C.; COUSSENS, P.M. Bovine leukemia virus: A major silent threat to proper immune responses in cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.163, 2015, p.103–114.

GUTIÉRREZ, G.; ALVAREZ, I.; MERLINI, R.; RONDELLI, F.; TRONO, K. Dynamics of perinatal bovine leukemia virus infection. **BMC Veterinary Research**, v.10, 2014, p.82.

GUTIÉRREZ, G.; ALVAREZ, I.; POLITZKI, R.; LOMÓNACO, M.; DUS SANTOS, M.J.; RONDELLI, F.; FONDEVILA, N.; TRONO, K. Natural progression of bovine Leukemia Virus infection in Argentinean dairy cattle. **Veterinary Microbiology**, v.151, 2011, p.255–263.

HIRSCH, C.; LEITE, R.C. **Leucose enzoótica bovina**. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. Rio de Janeiro: Roca, 2016, p. 736 -741.

KUCZEWSKI, A.; HOGEVEEN, H.; ORSEL, K.; WOLF, R.; THOMPSON, J.; SPACKMAN, E.; VANDERMEER, F. Economic evaluation of 4 bovine leukemia virus control strategies for Alberta dairy farms. **Journal of Dairy Science**, v.102, n.3, 2019, p.1-15.

MENDES, E.I.; MELO, L.E.H.; TENÓRIO, T.G.S.; SÁ L.M.; SOUTO, R.J.C.; FERNANDES, A.C.C., SANDES H.M.M.; SILVA T.I.B. Intercorrência entre leucose enzoótica e tuberculose em bovinos leiteiros do estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.1, 2011, p.1-8.

NISHIMORI, A.; KONNAI, S.; OKAGAWA, T.; MAEKAWA, N.; GOTO, S.; IKEBUCHI, R.; NAKAHARA, A.; CHIBA, Y.; IKEDA, M.; MURATA, S.; OHASHI, K. Identification of an atypical enzootic bovine leukosis in Japan by using a novel classification of bovine leukemia based on immunophenotypic analysis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.24, n.9, 2017, p.1-14.

Organização Mundial da Saúde Animal – OIE. Office International Epizooties. **World organization for animal health**. Terrestrial Manual. Enzootic Bovine Leukosis, 2018. 12p.

OTT, S.L.; JOHNSON, R.; WELLS, S.J. Association between bovine leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. **Preventive Veterinary Medicine**, v.61, n.4, 2003, p.249-262.

POLAT, M.; TAKESHIMA, S.; HOSOMICHI, K.; KIM, J.; MIYASAKA, T.; YAMADA, K.; ARAINGA, M.; MURAKAMI, T.; MATSUMOTO, Y.; DIAZ, V.L.B.; PANELI, C.J.; GONZÁLEZ, E.T.; KANEMAKI, M.; ONUMA, M.; GIOVAMBATTISTA, G.; AIDA, Y. A

new genotype of bovine leukemia virus in South America identified by NGS-based whole genome sequencing and molecular evolutionary genetic analysis. **Retrovirology**, v.13, n.4, 2016, p.1-23.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Enzootic bovine leukosis (bovine lymphosarcoma). Pages 1209–1221 in Veterinary Medicine - A Book of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats.** 10.ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA. 2007.

RHODES, J.K.; PELZER, K.D.; JOHNSON, Y.J. Economic implications of bovine leukemia virus infection in mid-Atlantic dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.223, 2003, p.346-352.

RODRÍGUEZ, S.M.; FLORINS, A.; GILLET, N.; DE BROGNIEZ, A.; SÁNCHEZ-ALCARAZ, M.T.; BOXUS, M.; BOULANGER, F.; GUTIÉRREZ, G.; TRONO, K.; ALVAREZ, I.; VAGNONI, L.; WILLEMS, L. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: lessons for HTLV. **Viruses**, v.3, 2011, p.1210–1248.

SARGEANT, J.M.; KELTON, D.F.; MARTIN, S.W.; MANN, E.D. Associations between farm management practices, productivity, and bovine leukemia virus infection in Ontario dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.31, 1997, p.211–221.

SUBFAMÍLIA ORTHORETROVIRINAE. ICTV, 2018. Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>>. Acessado em 04 de março de 2020.

TOCHETTO, C.; BALBINOT, A.C.; PRIOR, K.C.; DEZEN, D. Desenvolvimento de um elisa para a detecção de anticorpos séricos contra o vírus da leucose bovina. **ARS Veterinaria**, v.32, n.1, 2016, p.24-30.

TSUTSUI, T.; KOBAYASHI, S.; HAYAMA, Y.; YAMAMOTO, T. Fraction of bovine leukemia virus-infected dairy cattle developing enzootic bovine leukosis. **Preventive Veterinary Medicine**, v.124, 2016, p.96-101.

CAPÍTULO I:**High herd-level seroprevalence and associated factors for bovine leukosis in Paraíba state, Northeastern Brazil**

Gisele Cândida Ramalho, Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva, Brunna Muniz Rodrigues Falcão, Clécio Henrique Limeira, Denise Batista Nogueira, Amanda Martins dos Santos, Camila Marinelli Martins, Clebert José Alves, Carolina de Sousa Américo Batista Santos, Sérgio Santos de Azevedo

Artigo será submetido ao periódico *Transboundary and Emerging Diseases* (JCR 3.554, Qualis A2).

High herd-level seroprevalence and associated factors for bovine leukosis in Paraíba state, Northeastern Brazil

Gisele Cândida Ramalho¹, Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva¹, Brunna Muniz Rodrigues Falcão¹, Clécio Henrique Limeira¹, Denise Batista Nogueira¹, Amanda Martins dos Santos², Camila Marinelli Martins³, Clebert José Alves¹, Carolina de Sousa Américo Batista Santos¹, Sérgio Santos de Azevedo^{1*}

¹ Postgraduate Program in Animal Science and Health, Federal University of Campina Grande, Patos, Paraíba, Brazil.

² Federal University of Campina Grande, Academic Unit of Veterinary Medicine, Patos, Brazil.

³ Department of Preventive Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ). Botucatu, São Paulo, Brazil.

*Corresponding author: Sérgio Santos de Azevedo. E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br

Abstract

A cross-sectional study in cattle was carried out, following a planned sampling, to determine the prevalence at the herd level, animal level and to identify risk factors associated with enzootic leukosis in the State of Paraíba, Northeast Brazil. For that, the state was divided into strata: sample stratum 1 (Sertão), 2 (Borborema), and 3 (Zona da Mata and Agreste). For each sample stratum, prevalences were estimated in two stages: A pre-established number of primary units was randomly selected; and then a pre-established number of cows aged ≥ 24 months (secondary units). In total, 2067 animals were tested in 400 herds. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test kits were used: IDEXX Leukosis Serum X2 Ab Test. A herd was considered positive if it included at least one positive animal in herds of up to 24 females and two positive animals in herds with more than 24 females. The prevalence at herd and animal level was 23.4% (95% CI = 19.2-28.1), 10.8% (95% CI = 7.5-15.3) respectively. In the sample groups, the prevalence at herd level and per animal were, respectively, 24.2% (95% CI = 17.5 - 32.4) and 7% (95% CI = 88.7 - 95.7) in the Sertão, 17.5% (95% CI = 12.0 - 24.9) and 5.9% (95% CI = 89.1 -96.9) in Borborema and 25.9% (95% CI = 19.2-34.0) and 18.6% (95% CI = 70.0 - 89.2) in the Zona da Mata / Agreste. The associated factors identified were: milking (PR = 1.7), herd size > 23 animals (PR = 2.1), artificial insemination (PR = 1.6), purchase of animals (PR = 1.7) and urban periphery farm (PR = 1.9). No spatial clusters were identified. The results found suggest the free circulation of the virus in the bovine population of Paraíba with the presence of significant associated factors, requiring investigation for effective infection control.

Keywords: enzootic leukosis; bovine; epidemiology; prevalence, associated factors; Northeast of Brazil.

1 INTRODUCTION

The bovine leukemia virus (BLV) is an oncogenic retrovirus of the genus *Deltaretrovirus*, subfamily *Orthoretrovirinae* and the cause of enzootic bovine leukosis (EBL) (Kettmann et al., 1976; Aida et al., 2013; ICTV 2018). It is a contagious bovine lymphoproliferative disease, characterized by B-cell lymphosarcoma, which occurs worldwide (Kirkland and Rodwell, 2005; Aida et al., 2013). Horizontal transmission is the main pathway for the spread of the bovine enzootic leukosis, occurring mainly by direct contact with blood and other biological fluids contaminated with infected leukocytes. The vertical / transplacental transmission of the virus is also possible, but occurs in less than 10% of infected females (Rebhun, 2000).

Since the BLV was recognized as the causative agent of EBL in the late 1960s and early 1970s it has spreading worldwide, and countries without control programs have high prevalence such as USA, where there is no control program for BLV, and the animal-level prevalence in the dairy cattle population has increased steadily from approximately 10% at that time to over 40% (LaDronka et al., 2018).

The involvement of the herd by leukosis has a negative impact on the economy, since the infection can cause reduced fertility, decreased milk production, increased costs with replacement of heifers, loss of income resulting from the premature slaughter of animals and commercial restrictions (Ott et al., 2003; Moore et al., 2009; Erskine et al., 2012; Bartlett et al., 2013). Premature slaughter, death and condemnation of carcasses on slaughter due to lymphoma, impaired immune function and restrictions on international trade in infected cattle and their products are among the most significant economic losses attributed to the disease (Sandev et al., 2000).

In Brazil, serological surveys for EBL have been conducted since 1970s, and seropositive rates ranged from 5.64% (Alencar et al., 1979) in the state of São Paulo to 81% (Meirelles et al., 2009) in the state of Parana depending on several factors such as production system and diagnostic method used in serology. However, the disease is not of compulsory notification, as well as there is no official control program. It's important to highlight that all serological surveys were based on unplanned sampling at state-level, and to obtain reliable epidemiological indicators it is essential to carry out studies based on planned sampling of rural properties and animals. During the last few decades, dairy cattle have become

significantly important within animal husbandry in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. Except for the Zona da Mata region (where sugarcane crops prevail), small cattle-raising farms are widespread in the Agreste, Borborema and Sertão regions. Whereas cultivated grasses (mostly *Brachiaria* spp.) are the basis for Agreste livestock, cattle are usually reared extensively on native Caatinga in most of the Borborema and Sertão farms (Vilar et al., 2015). Following the Brazilian scenario of milk production, in the State of Paraíba around 69% of milk was produced in small cattle-raising farms according to Brazilian Agricultural Census of 2006 (IBGE, 2006). In this context, the performance of epidemiological studies to investigate infectious agents such as BLV is importante, and the prevalence estimation and associated factors are key elements to assess the disease impact, and for the design of control programmes, therefore, the aim of the present survey was to determine the epidemiological situation of EBL in cattle of the state of Paraíba, semiarid region of northeastern Brazil, by determining the apparent herd and animal-level prevalences, and identification of factors associated to herd-level prevalence and spatial clustering of positive herds.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Characterization of the study area

The state of Paraíba, located in the Northeastern region of Brazil, is characterized by warm weather throughout the year. The state is geographically subdivided into the following four major regions, based mostly on vegetation type and rainfall: (i) Zona da Mata (Atlantic forest), (ii) Agreste, (iii) Borborema, and (iv) Sertão. The Zona da Mata and Agreste have relatively higher rainfall regimes (Cabrera and Willink, 1973). Both Borborema and Sertão (the semiarid region) are typically within the Caatinga biome, which encompasses an area of 900,000 km² (11% of Brazilian territory) and is the only major biome that occurs exclusively in Brazil. Caatinga is xeric shrubland and thorn forest, which consists primarily of small, thorny trees that shed their leaves seasonally. Cacti, thick-stemmed plants, thorny brush and arid-adapted grasses make up the ground layer. However, during the dry periods there is no ground foliage or undergrowth (Andrade-Lima, 1981). The weather is characterized by a hot and semiarid climate, with temperatures averaging 27°C, and the mean annual rainfall is typically ~500 mm. There are typically two seasons: a rainy season from February to May, and a long drought period from June to January. However, occurrences of droughts sometimes lasting for longer than one year is also a characteristic of the region (Batista et al., 2007).

2.2 Sampling design and field activities

The state of Paraíba was divided into three sampling groups: sampling stratum 1 (mesoregion of Sertão), sampling stratum 2 (mesoregion of Borborema), and sampling stratum 3 (mesoregions of Zona da Mata and Agreste) (Fig. 1). When creating this stratification scheme, the operational capacity of the Agricultural and Livestock Defense Service of the State of Paraíba (SEDAP) was considered based on the areas of action of its regional units in order to ensure that the agency could conduct the fieldwork.

The samples used in this study were obtained from a serological survey of bovine brucellosis in the state of Paraíba conducted by the National Program for Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis (Clementino et al., 2015), and sampling design was adjusted for EBL. For each sampling stratum, the apparent herd and animal-level prevalences were estimated by a two-stage sampling survey. In the first stage, a pre-established number of herds (primary sampling units) were randomly selected; in the second stage, a pre-established number of cows aged ≥ 24 months were randomly selected (secondary sampling units). The allocation of the primary sampling units was random (random drawing), and was based on the records of farms of the SEDAP. If a selected herd could not be visited, the herd was replaced by another in the vicinity with the same production characteristics (management system and type of production). The number of selected herds per sampling stratum was determined by using the formula for simple random samples proposed by Thrusfield (2007). The parameters adopted for the calculation were as follows: 95% confidence level, 50% estimated herd-level prevalence (to maximize the sample size), and 10% error. Further, the operational and financial capacity of the SEDAP was taken into consideration when determining the sample size of the sampling strata. For the secondary units, the minimum number of animals to be examined within each herd was estimated in order to allow its classification as positive herd. For this purpose, the concept of aggregate sensitivity and specificity was used (Dohoo et al., 2003). For the calculations, the following values were adopted: 98% (Kuczewski et al., 2018) for the sensitivity and specificity, of the test protocol (ELISA) and 31.5% (Carrillo et al., 2019) for the intra-herd estimated prevalence. Herdacc version 3 software (Jordan, 1995) was used, and the sample size was selected so that the herd sensitivity and specificity values would be $\geq 90\%$. Therefore, 10 animals were sampled in herds with up to 99 cows aged over 24 months and 15 animals were sampled in herds with 100 or more cows aged over 24 months. The selection of the cows within the herds was systematic, which involved selection of sampling units at equal intervals, the first animal being randomly allocated (Thrusfield, 2007).

The field activities included blood collection, provision of an epidemiological questionnaire, and sending the samples to the laboratory. The veterinarians and agricultural and livestock technicians of the SEDAP were involved in the fieldwork. Blood samples (10-mL volume) were collected from September 2012 to January 2013, from cows aged ≥ 24 months by jugular vein puncture with a disposable needle and a 15-mL capacity vacuum tube (without anticoagulant). An 11-digit code was used for identification of the tubes, of which the first nine digits referred to the herd code and the final two digits to the number sequence of the sampled cow. After draining, the serum was transferred to microtubes and was frozen at -20°C until the serological analysis, approximately three years.

2.3 Data collection

A structured questionnaire including closed-ended questions was designed to obtain information concerning (a) the identification and location of the herd; (b) management practices; and (c) structure and composition of the herd. Questionnaires were applied to the owner or person in charge of the herd either by the primary author or by a veterinarian from the SEDAP at the same time of the visit to blood collection.

2.4 Serological diagnosis

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was completed to detect specific antibodies directed to the BLV gp51 antigen in both individual sera and pools of sera using the IDEXX Leukosis Blocking Ab Test Kit (IDEXX laboratories, Inc., USA). It is based on the competition between the BLV antibodies of the bovine serum and a peroxidase conjugate monoclonal anti-gp51 BLV antibody. For the calculation of the results, how the valid controls are valid when the mean of the negative control (≥ 0.6) has a minimum DO450 coefficient of ≤ 0.2 between the mean of the positive and negative controls. Samples with percentages $\geq 60\%$ were positive for the presence of block against BLV without serum and $\geq 40\%$ were considered positive for the presence of blockade against BLV. Initially pools of sera from each property were made with 100 microliters of serum from each animal, so that each pool contained a maximum of 15 animals per property. According to the manufacturer's recommendations, each pool should contain serum from a maximum of 10 animals. The property pool was subjected to serological testing, and for the reagent properties all animals were tested individually.

2.5. Herd-level and animal-level prevalence calculations

Simple random sample design was employed for the calculation of the apparent herd-level prevalence per sampling stratum by using the following parameters: (a) number of positive herds and (b) number of herds sampled in the stratum. EpiInfo 6.04 software was used to calculate the apparent prevalence and respective confidence intervals (Dean et al., 1996). Stratified random sampling was utilized to calculate the herd-level prevalence in the State of Paraíba (Thrusfield, 2007). The required parameters were as follows: (a) condition of the herd (positive or negative), (b) sampling stratum to which the herd belonged, and (c) statistical weight. The statistical weight was determined by applying the following formula (Dean et al., 1996):

$$Weight = \frac{\text{number of herds in the stratum}}{\text{number of herds sampled in the stratum}}$$

A two-stage stratified cluster sampling, and a two-stage cluster sampling were used to calculation of apparent animal-level prevalence in the state of Paraíba and in each stratum, respectively (Thrusfield, 2007), where each herd was considered a cluster. The following parameters were used: (a) animal condition (seropositive or seronegative), (b) sampling stratum to which the animal belonged, (c) herd code (to identify each cluster), and (d) statistical weight. The statistical weight was calculated with the following formula (Dean et al., 1996):

$$Weight = \frac{\text{cows} \geq 24 \text{ months in the stratum}}{\text{cows} \geq 24 \text{ months in the simple herds}} \times \frac{\text{cows} \geq 24 \text{ months in the herd}}{\text{cows} \geq 24 \text{ months sampled in the herd}}$$

2.6 Analysis of associated factors with herd-level prevalence

To conduct the analysis of factors associated with herd-level prevalence, univariable analysis was initially performed, in which each independent variable underwent an association analysis in relation to the dependent variable (positivity in serological test). Variables with P-value ≤ 0.2 in the chi-square test were selected for multivariable analysis using robust Poisson regression. Collinearity between independent variables was verified by a correlation analysis; for those variables with a strong collinearity (correlation coefficient >0.9), one of the two variables was excluded from the multiple analysis according to the biological plausibility (Dohoo et al., 2003). To assess how well the model fits the Person Chi-square was used, and the significance of the model was verified with Omnibus test. The

significance level adopted in the multiple analysis was 5%, and the software used was SPSS for Windows version 20.0.

2.7 Spatial cluster analysis

A global cluster analysis was performed for the difference in the K function between negative and positive herds. The K function is a method used to describe how a dot pattern occurs within an area of interest. It is defined by the expected number of points at an arbitrary point distance divided by the general point density in the area. An estimate of the K function was generated for the positive points (k_1) and for the negative points (k_2) and the difference between them ($k_1 - k_2$) was calculated. An envelope containing the expected random interval between two points was produced and, with it, the interpretation of the presence or absence of a cluster. The envelope was built from 100 random simulations. The analyses were performed on R environment (R Core Team, 2019) with the packages “splancs” (Rowlingson & Diggle, 2017) and “spatial” (Venables & Ripley, 2002).

3 RESULTS

In total, 2067 animals from 400 herds were sampled. The prevalence of herds and seropositive animals are shown in Tables 1 and 2, respectively, and the geographical distribution of positive and negative properties is shown in Fig. 1. The prevalence at the herd level was 23.4% (95% CI = 19.2-28.1) in the State of Paraíba, and in the mesoregions Sertão, Borborema and Zona da Mata / Agreste there were 24.2% (95% CI = 17.5 - 32.4), 17.5% (95% CI = 12.0 -24.9) and 25.9% (95% respectively) CI = 19.2-34.0). At the animal level, the prevalence was 10.8% (95% CI = 7.5-15.3) in state, 7% (95% CI = 88.7 - 95.7) in the Sertão mesoregion, 5.9% (95% CI = 89.1 -96.9) in the Borborema mesoregion and 18.6% (95% CI = 70.0 - 89.2) in the Zona da Mata / Agreste.

The results of the univariable analysis for factors associated with the prevalence of positive herds are shown in Table 3. The selected variables ($P \leq 0.2$) for the multiple analysis were as follows: type of production, management system, milking, number of lactating cows, daily milk production (liters), breed, number of cows > 24m, herd size, presence of goats / sheep, presence of horses, presence of pigs, presence of wild animals, presence of deer, presence of capybaras, abortion, buying animals, slaughter, close grazing, common pasture, flooding, birth paddock, milk cooling, veterinary assistance, water sharing, landing area, type

of property and insemination. In the final logistic regression model, the selected variables (Table 4), the associated factors were: milking (PR = 1.7), herd size > 23 animals (PR = 2.1), artificial insemination (PR = 1.6), purchase of animals (PR = 1.7) and urban periphery farm (PR = 1.9). The model presented good fit (Pearson Chi-square: value = 302.76; degrees of freedom - df = 390; value/df = 0.776) and statistical significance (Omnibus test: likelihood ratio Chi-square = 34.17; df = 9; $P < 0.001$).

Figure 2 shows the distribution of differences in the function k ($k_1 - k_2$) and its relationship to the random envelope produced with the points. There was no significant cluster starting with a radius of 2 km between the points.

4 DISCUSSION

This is the first seroepidemiological survey for enzootic bovine leukosis, with planned sampling of herds and animals, carried out in Brazil. The high seroprevalence of herds (23.4%) and animals (10.4%) found in this study demonstrate the circulation of the virus in the State. The presence of the BLV causes economic losses that include expenses with treatment and diagnosis, reduced levels of productivity, deaths of animals caused by the disease, condemnation of carcasses, costs with the replacement of animals (Carneiro et al., 2003). However, there is no specific control program for this disease in Brazil, that is neglected, mainly in emerging countries, becoming a public health problem while favoring the development of various zoonotic bacteriosis in cattle, such as tuberculosis, brucellosis and leptospirosis (Carneiro et al., 2003; Ott et al., 2003; Mendes et al., 2011; Frie et al., 2016; Tochetto et al., 2016; Tsutsui et al., 2016; Polat et al., 2016).

The discoveries involving the association of the BLV virus with cancer are growing. Samples from cancer patients were analyzed to confirm the association between breast cancer and the leukosis virus, obtaining positivities between 30% to 34% (Baltzell et al., 2018; Schwingel et al. 2019). It has been suggested that milk consumption has led to a higher incidence of cancer in humans, at the same time that BLV has been isolated from raw milk, being inactivated only by pasteurization (Buehring et al, 2015). Thus, epidemiological studies and surveys for associated factors must be carried out in order to elucidate the possible forms of transmission to humans and the influence of the virus in oncological cases.

Through the analysis of "clusters" there was no global trend of clusters of positive properties, demonstrating that the spread of infection in the state of Paraíba is homogeneous. This dissemination can be explained by the lack of sanitary control, mainly in dairy farming

regions, as well as by the traffic and commercialization of animals without monitoring the occurrence of the virus (Silva et al., 2008; Pinheiro Junior et al., 2013).

In the analysis of the associated factors, it was identified that milking, herd size > 23 animals, artificial insemination, purchase of animals and farms in the urban periphery are associated with the prevalence of positive herds. Milking is considered to be the most vulnerable phase in the process of obtaining milk, since it can cause contamination by microorganisms, dirt and chemicals that integrate into the product *in natura*. Thus, the hygienic-sanitary control of herds and milking is essential for the ideal composition of milk and for the reduction of the risk of transmission of pathogens, since the failure to carry out sanitary management practices contributes significantly to the greater occurrence of diseases in animals. (Brito et al., 2014; Couto et al., 2016). In the Northeast, contamination of raw milk by bacteria was attributed to failures in the milking process (Ribeiro Neto et al., 2012), which makes it possible to assume that the transmission of other pathogens may occur as a result of technical failures in this procedure. Thus, the spread of BLV may be associated with poor hygiene practices, as well as the absence of good practices in milking.

The result obtained in the study showed that herds formed by more than 23 animals are a determining factor for the occurrence of the disease, as highlighted by Bezerra et al., (2018), when finding similar results for vesicular stomatitis in cattle. Clusters of animals generate favorable conditions for the spread of diseases to susceptible people within populations, with the chances becoming greater as the number of animals and the time of exposure increase in these populations (Thrusfield, 2007). Thus, it is worth noting that because it is a chronic disease, animals infected with the virus that are not identified and consequently discarded, allow the spread of the viral agent.

In dairy cattle breeding, artificial insemination is used as a preventive measure to prevent venereal transmission of reproductive infections (Alfieri et al., 2013). Despite this, the use of artificial insemination was an associated factor for the occurrence of BLV in this study and in the research carried out by Starling et al. (2013). Factors such as disinfection of the applicator, the disposal of palpation gloves for each animal and the use of negative certified semen for enzootic leukosis are essential to ensure that dissemination does not occur through this technique (Frاندoloso et al., 2008). Thus, it is suggested that the absence of good practices and standards, in addition to unskilled labor, triggers this associated factor, which favors the spread of the virus, since it can be transmitted by semen.

According to Bezerra et al. (2018), the large flow of animals existing between Paraíba and surrounding states, without knowledge of sanitary conditions, is a factor that predisposes the

increase in the prevalence of diseases. In the present study, the purchase of animals was an associated factor for the occurrence of LEB, corroborating with other epidemiological research for VLB and other diseases (Starling et al., 2013; Fernandes et al., 2015; Bezerra et al., 2018). Thus, it is known that the insertion of new animals in the herd without prior knowledge of their health status or carrying out the quarantine period induces the spread of diseases. (Ferreira et al., 2017).

The location of farms in the periurban area was also considered an associated factor for the occurrence of VLB. This factor corroborates the findings of Santos and Silva (2011) and Sosa-Estani et al. (2001), who, when carrying out studies on the occurrence of diseases, in which they obtained a greater number of cases in peri-urban areas. Thus, it is believed that the presence of sewage and garbage found in the vicinity of cities, favors the increase of vectors. While leukosis can be transmitted by vectors, there is an increase in the number of cases in these areas.

The prevalence and associated factors found in this study demonstrate that leukosis is underreported, neglected by competent producers and agencies and consequently spread in the State in a silent and uniform manner. That said, there is a need to implement sanitary measures to control the spread of the virus.

5 CONCLUSION

The results presented here indicate a high seroprevalence for leukosis in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. Our findings point out that proper management and the adoption of control measures are essential to prevent the spread of BLV in herds. In addition, periodic monitoring of cattle is recommended, as well as preventive measures in the acquisition of new animals, and the adoption of sanitary measures on farms.

REFERENCES

Aida, Y, Murakami H, Takahashi M, & Takeshima SN. (2013). Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human Tcell leukemia virus. *Frontiers in Microbiology*, 4, 328. doi: [10.3389/fmicb.2013.00328](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00328)

Alencar, RAF, Mazanti, MT, Saad, AD, & Pohl, R. (1979). Levantamento preliminar da infecção pelo Vírus da Leucemia Linfática Crônica (L.L.C.) dos Bovinos no Estado de São Paulo. *Biológico*, 45, 47-54.

Alfieri, AA, Leme R, & Alfieri AF. (2013). Tecnologias para o manejo sanitário de qualidade de doenças infecciosas na bovinocultura de corte. In: Oliveira RL, & Barbosa MAAF. (Org.). *Bovino cultura de corte: desafios e tecnologias*. (2ªed.). Salvador, BA: Editora da Universidade Federal da Bahia, p.115-132.

Andrade-Lima, D. (1981). The Caatinga Dominion. *Revista Brasileira de Botanica*, 4, 149–153.

Baltzell, KA, Shen, HM, Krishnamurty, S, Sison, JD, Nuovo, GJ, & Buehring, GC. (2018). Bovine Leukemia Virus Linked to Breast Cancer But Not Coinfection With Human Papillomavirus: Case-Control Study of Women in Texas. *Cancer*, 124, 1342-1349. doi: [10.1002/cncr.31169](https://doi.org/10.1002/cncr.31169)

Bartlett, PC, Norby, B, Byrem, TM, Parmelee, A, Ledergerber, JT, & Erskine, RJ. (2013). Bovine leukemia virus and cow longevity in Michigan dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 96, 1591–1597. doi: [10.3168/jds.2012-5930](https://doi.org/10.3168/jds.2012-5930)

Batista, JS, Riet-Correa, F, Teixeira, MMG, Madruga, CR, Simões, SDV, & Maia, TF. (2007). Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Veterinary Parasitology*, 143, 174–181. doi: [10.1016/j.vetpar.2006.08.017](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.017)

Bezerra, CS, Cargnelutti, JF, Sauthier, JT; Weiblen, R, Flores, EF, Alves, CJ, Clementino, IJ, Santos, CSAB, & Azevedo, SS. (2018). Epidemiological situation of vesicular stomatitis virus infection in cattle in the state of Paraíba, semiarid region of Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, 160, 68-75. doi: [10.1016/j.prevetmed.2018.09.027](https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.09.027)

Brito, DAP, Silva, IDSO, Brito, DRB, & Costa, FN. (2014). Prevalência e etiologia da mastite em bovinos leiteiros da Ilha de São Luís, estado do Maranhão, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 36, 389-395.

Buehring, GC, Shen, HM, Jensen, HM, Jin, DL, Hudes, M, & Block, G. (2015). Exposure to bovine leukemia virus is associated with breast cancer: a case-control study. *PLoS One*, 10, e0134304. doi: [10.1371/journal.pone.0134304](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134304)

Cabrera, AL, & Willink, A. (1973). *Biogeografía De America Latina*. Organización de los Estados Americanos, Washington, 42.

Carneiro, PAM, Araújo, WP, Birgel, EH, & Souza, KW. (2003). Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros criados no estado do Amazonas, Brasil. *Acta amazônica*, 33, 111-125. doi: [10.1590/1809-4392200331125](https://doi.org/10.1590/1809-4392200331125)

Carrillo, HAM, Silveira, SRB, Miranda, AS, Rodrigues, EDL, & Salvarani, FM. (2019). 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*, 40, 485-490. doi: [10.5433/1679-0359.2019v40n1p485](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n1p485)

Clementino, IJ, Pimenta, CLRM, Fernandes, LG, Bezerra, CS, Alves, CJ, Dias, RA, Amaku, M, Ferreira, F, Telles, EO, Gonçalves, VSP, Neto, JSF, & Azevedo, SS. (2015). Caracterização da pecuária bovina no Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, 36, 557–570. doi: [10.5433/1679-0359.2015v36n1p557](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n1p557)

Couto, JMA, Lelis, VG, Santos, MP, & Cunha, AF. (2016). Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do processo de obtenção do leite cru no município de sem peixe - Minas gerais. *Revista Científica Univiçosa*, 8, 54-64.

Dean, AG, Dean, JA, Coulombier, D, Brendel, KA, Smith, DC, Burton, AH, Dicker, RC, Sullivan, K, Fagan, RF, & Arner, TG. (1996). *Epi Info, Version 6: A Word Processing, Database, and Statistics Program for Public Health on IBM Compatible Microcomputers*. Center for Diseases Control and Prevention, Atlanta.

Dohoo, IR, Martin, W, & Stryhn, H. (2003). *Veterinary Epidemiologic Research*. Atlantic Veterinary College, Charlottetown.

Erskine, RJ, Bartlett, PC, Byrem, TM, Render, CL, Febvay, C, & Houseman, JT. (2012). Association between bovine leukemia virus, production, and population age in Michigan dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 95, 727–734. doi: [10.3168/jds.2011-4760](https://doi.org/10.3168/jds.2011-4760)

Fernandes, LG, Nogueira, AH, De Stefano, E, Pituco, EM, Ribeiro, CP, Alves, CJ, Oliveira, TS, Clementino, IJ, & Azevedo, SS. (2015). Herd-level prevalence and risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in cattle in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. *Tropical Animal Health Production*, 48, 157-165. doi: [10.1007/s11250-015-0937-x](https://doi.org/10.1007/s11250-015-0937-x)

Ferreira, SB, Sousa, KRS, Castro, V, Lopes STP, Ferreira, SB, Feitosa, LCS, Moura, LM, Mineiro, ALBB, Freitas, DRJ, & Souza, JAT. (2017). Análise soropidemiológica e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em bovinos no estado do Piauí. *Acta Scientiae Veterinariae*, 45, 1494.

Frاندoloso, R, Kreutz, LC, Anziliero, D, Spagnolo, J, Kuse, N, Fiori, C, Barcellos, LJG, & Scortegagna, GT. (2008). Prevalência de leucose enzoótica bovina, diarreia viral bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 9, 1102-1106.

Frie, MC, Sporer, KR, Wallace, JC, Maes, RK, Sordillo, LM, Bartlett, PC, & Coussens, PM. (2016). Reduced humoral immunity and atypical cell-mediated immunity in response to vaccination in cows naturally infected with bovine leukemia virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 182, 125-135. doi: [10.1016/j.vetimm.2016.10.013](https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.10.013)

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (2019, 1 de maio) Censo Agropecuário de 2006. Obtido em <http://www.ibge.com.br/estadosat/temas.php?sigla=pb&tema=censoagro>

Jordan, D. (1995). *Herdacc: A Program for Calculating Herd Level (Aggregate) Sensitivity and Specificity*. Department of population medicine, University of Guelph, Guelph, Canada.

Kettmann, R, Portetelle, D, Mammerickx, M, Cleuter, Y, Dekegel, D, Galoux, M, Ghysdael, J, Burny, A, & Chantrenne H. (1976). Bovine leukemia virus: an exogenous RNA oncogenic virus?. *Hamatol Bluttransfus*, 19, 375-389. doi: [10.1007/978-3-642-87524-3_37](https://doi.org/10.1007/978-3-642-87524-3_37)

Kirkland, PD, & Rodwell BJ. (2005). *Enzootic Bovine Leukosis*. Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures, 1-14.

Kuczewski, A, Orsel, K, Barkema, HW, Kelton, DF, Hutchins, WA, & Van der Meer, FJUM. (2018). Short communication: Evaluation of 5 different ELISA for the detection of bovine leukemia virus antibodies. *Journal of Dairy Science*, 101, 2433-2437. doi: [10.3168/jds.2017-13626](https://doi.org/10.3168/jds.2017-13626)

LaDronka, RM, Ainsworth, S, Wilkins, MJ, Norby, B, Byrem, TM, & Bartlett, PC. (2018). Prevalence of Bovine Leukemia Virus Antibodies in US Dairy Cattle. *Veterinary Medicine International*, 1-8. doi: [10.1155/2018/5831278](https://doi.org/10.1155/2018/5831278)

Meirelles, C, Dittrich, T, Cipriano, F, & Ollhoff, RD. (2009). Evolução da soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em um rebanho bovino leiteiro universitário. *Semina: Ciências Agrárias*, 30, 671-678. doi: [10.5433/1679-0359.2009v30n3p671](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2009v30n3p671)

Mendes, EI, Melo, LEH, Tenório, TGS, Sá, LM, Souto, RJC, Fernandes, ACC, Sandes, HMM, & Silva TIB. (2011). Intercorrência entre leucose enzoótica e tuberculose em bovinos leiteiros do estado de Pernambuco. *Arquivos do Instituto Biológico*, 78, 1-8.

Moore, D, Adaska, J, Higginbotham, G, Castillo, A, Collar, C, & Sisco, W. (2009). Testing new dairy cattle for disease can boost herd health, cut costs. *California Agriculture*, 63, 29–34. doi: [10.3733/ca.v063n01p29](https://doi.org/10.3733/ca.v063n01p29)

Ribeiro Neto, ACR, Barbosa, SBP, Jatobá, RB, Silva, AM, SILVA, CX, Silva, MJA, & Santoro, KR. (2012). Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região Nordeste. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64, 1343-1351. doi: [10.1590/S0102-09352012000500035](https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000500035)

Ott, SL, Johnson, R, & Wells, SJ. (2003). Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 61, 249–262. doi: [10.1016/j.prevetmed.2003.08.003](https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2003.08.003)

Pinheiro Junior, JWJ, Souza, ME, Porto, WJN, Lira, NSC, & Mota, RA. (2013). Epidemiologia da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (LEB). *Ciência Animal. Brasileira*, 14, 258-264. doi: [10.5216/cab.v14i2.18255](https://doi.org/10.5216/cab.v14i2.18255)

Polat, M, Takeshima, S, Hosomichi, K, Kim, J, Miyasaka, T, Yamada, K, Arainga, M, Murakami, T, Matsumoto, Y, Dias, VLB, Panei, CJ, Gonzalez, ET, Kanemaki, M, Onuma, M, Giovambattista, G, & Aida, Y. (2016). A new genotype of bovine leukemia virus in South America identified by NGS-based whole genome sequencing and molecular evolutionary genetic analysis. *Retrovirology*, 13, 4. doi: [10.1186/s12977-016-0239-z](https://doi.org/10.1186/s12977-016-0239-z)

R Core Team (2020, 20 de janeiro). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Obtido em <https://www.R-project.org/>

Rebhun, WC. (2000). *Doenças infecciosas variadas*. In: *Doenças do Gado Leiteiro*. São Paulo: Roca, p.577-612.

Rowlingson, B, & Diggle, P. (2019, 10 de janeiro). splancs: Spatial and Space-Time Point Pattern Analysis. R package version 2.01-40. Obtido em <https://CRAN.R-project.org/package=splancs>

Sandev, N, Kostadinova, N, & Zarkov, I. (2000). Economic problems concern-ingenzootic bovine leukosis. *Agricultural Economics and Management*, 45, 38–41.

Santos, IG, & Silva, RSU. (2011). Malária autóctone no Município de Rio Branco, Estado do Acre, Brasil, no período de 2003 a 2010. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 2, 31-37. doi: [10.5123/S2176-62232011000400005](https://doi.org/10.5123/S2176-62232011000400005)

Schwingel, D, Andreolla, AP, Erpen, LMS, Frandoloso, R, & Kreutz, LC. (2019). Bovine leukemia virus DNA associated with breast cancer in women from South Brazil. *Scientific Reports*, 9, 2949. doi: [10.1038/s41598-019-39834-7](https://doi.org/10.1038/s41598-019-39834-7)

Silva, RC, Fontana, I, Meirelles, FC, Ruggiero, APM, Benato, N, & Borges, JRJ. (2008). Ocorrência de leucose enzoótica bovina na forma de linfossarcomas no distrito federal: relato de caso. *Arquivos do Instituto Biológico*, 75, 507-512.

Sosa-Estani, SELS, Gomez, A, Salomón, OD, Peralta, M, Coutada, V, & Ruiz, LM. (2001). Leishmaniose cutânea no Norte da Argentina. Fatores de risco identificados num estudo caso-coorte em três municípios de Salta. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34, 511-517. doi: [10.1590/S0037-86822001000600003](https://doi.org/10.1590/S0037-86822001000600003)

Starling, RZC, Bezerra, AO, Salardane, I, Ferreira, PG, Clipes, RC, & Donateli, DM. (2013). Soroepidemiologia da leucose enzoótica bovina em propriedades leiteiras do município de Alegre, estado do Espírito Santo, Brasil. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*, 6, 427 – 441.

Thrusfield, M. (2007). *Veterinary epidemiology*. (3^{ed.}). Oxford, Blackwell Science: 610.

Tochetto, C, Balbinot, AC, Prior, KC, & Dezen, D. (2016). Desenvolvimento de um elisa para a detecção de anticorpos séricos contra o vírus da leucose bovina. *Ars Veterinaria*, 32, 024-030. doi: [10.15361/2175-0106.2016v32n1p24-30](https://doi.org/10.15361/2175-0106.2016v32n1p24-30)

Tsutsui, T, Kobayashi, S, Hayama, Y, & Yamamoto, T. (2016). Fraction of bovine leukemia virusinfected dairy cattle developing enzootic bovine leukosis. *Preventive Veterinary Medicine*, 124, 96-101. doi: [10.1016/j.prevetmed.2015.11.019](https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.11.019)

Venables, WN, & Ripley, BD. (2002). *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York.

Vilar, AL, Santos, CS, Pimenta, CL, Freitas, TD, Brasil, AW, Clementino, IJ, Alves, CJ, Bezerra, CS, Riet-Correa, F, Oliveira, TS, & Azevedo, SS. (2015). Herd-level prevalence and associated risk factors for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cattle in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*, 121, 49-55. doi: [10.1016/j.prevetmed.2015.06.003](https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.06.003)

FIGURES E TABLES

Figure 1. Division of the state of Paraíba into three sampling groups, and geographical distribution of positive and negative herds. Detail shows the State of Paraíba within Brazil, between the years 2012 and 2013.

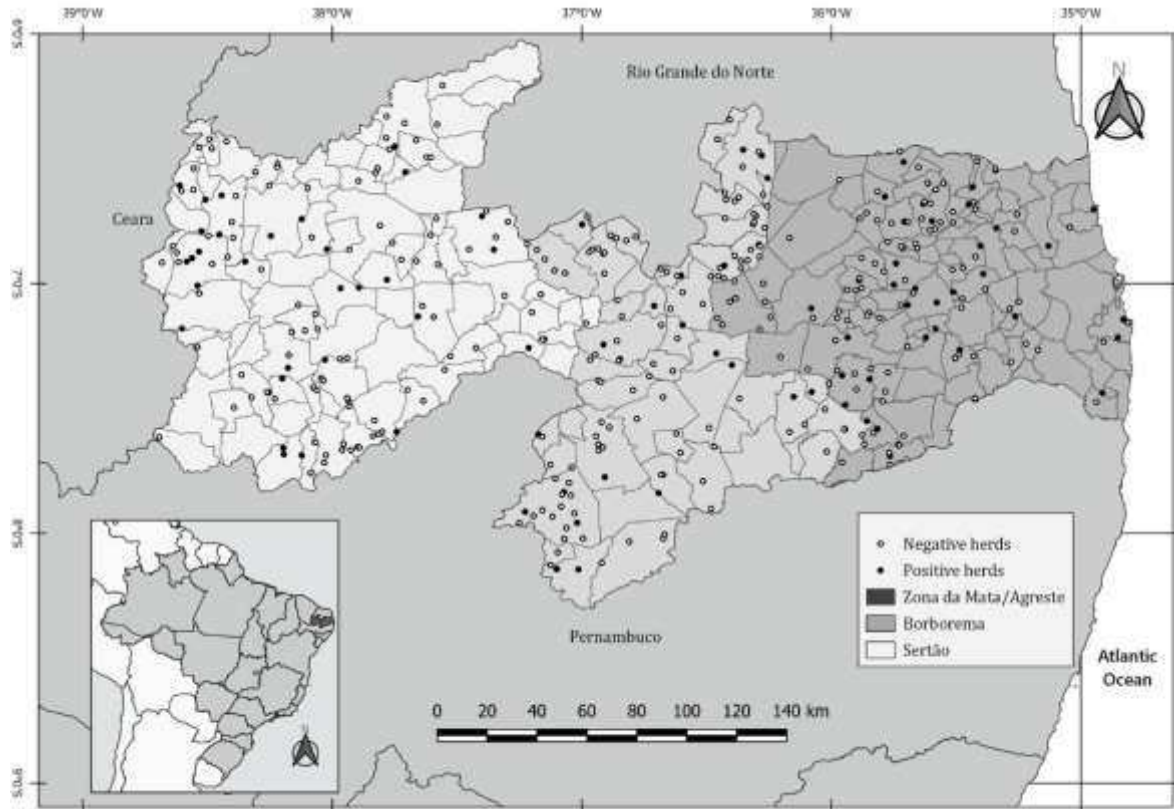


Figure 2. Global spatial cluster analysis between positive and negative properties for bovine leucosis, between the years 2012 and 2013.

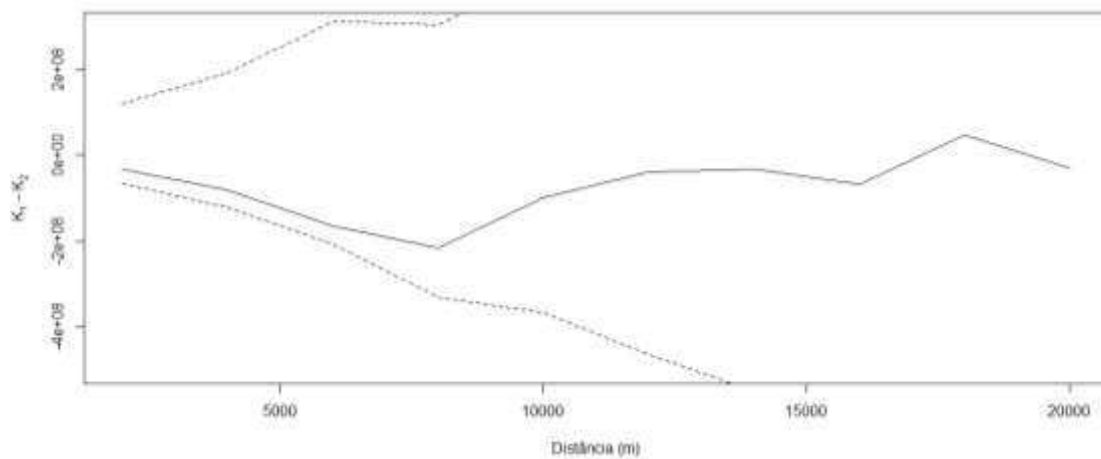


Table 1. Apparent herd-level prevalence for enzootic bovine leukosis in cattle in the state of Paraíba, Northeastern Brazil, according to sampling stratum, between the years 2012 and 2013.

Sampling stratum	N° de herds			Prevalence (%)	95% CI
	Total	Tested	Positive		
Sertão	24.356	128	31	24,2	[17,5 - 32,4]
Borborema	11.603	137	24	17,5	[12,0 -24,9]
Agreste/Zona da Mata	18.398	135	35	25,9	[19,2-34,0]
State of Paraíba	54.357	400	90	23,4	[19,2-28,1]

Table 2. Apparent animal-level prevalence for enzootic bovine leukosis in cattle in the state of Paraíba, Northeastern Brazil, according to sampling stratum, between the years 2012 and 2013.

Sampling stratum	Animals			Prevalence (%)	95% CI
	Total	Tested	Positive		
Sertão	288,74	767	50	7,0	[4,3-11,3]
Borborema	83,428	655	29	5,9	[3,1-10,9]
Agreste/Zona da Mata	192,320	645	119	18,6	[10,8-30,0]
State of Paraíba	564,512	2067	198	10,8	[7,5- 15,3]

Table 3. Univariable analysis for risk factors associated with the apparent herd-level prevalence of enzootic bovine leukosis cattle in the state of Paraíba, Northeastern Brazil, between the years 2012 and 2013.

Variables	Categories	N° of herds sampled	N° of positive herds(%)	<i>P</i>
Type of production	Beef	54	11 (20,4)	0,474
	Milk	113	30 (26,5)	
	Mixed (milk/beef)	233	49 (21)	
Management system	Confined	26	6 (23,1)	0,600
	Semi- confined	240	50 (20,8)	
	Extensive	134	34 (25,4)	
Milking	Yes	301	77 (25,6)	0,015
	No	99	13 (13,1)	
Number of lactating cows	0-4	318	61 (19,2)	0,003
	> 4	82	29 (35,4)	
Daily milk production (liters)	0-14	301	54 (17,9)	

	>14	99	36 (36,4)	< 0,001
Breed	Zebu	22	5 (22,7)	
	European	40	9 (22,5)	
	Mixed	338	76 (22,5)	1,000
Number of cows > 24 months old	0-8	304	49 (16,1)	
	> 8	96	41 (42,7)	< 0,001
Herd size	0-23	302	49 (16,2)	
	> 23	98	41 (41,8)	< 0,001
Presence of goats/sheep	Yes	168	33 (19,6)	
	No	232	57 (24,6)	0,297
Presence of horses	Yes	205	58 (28,3)	
	No	195	32 (16,4)	0,006
Presence of swine	Yes	124	25 (20,2)	
	No	276	65 (23,6)	0,534
Presence of wild	Yes	159	35 (22,0)	
	No	241	55 (22,8)	0,946
Presence of cervids	Yes	6	1 (16,7)	
	No	394	89 (22,6)	1,000
Presence of capybaras	Yes	2	1 (50)	
	No	398	89 (22,6)	0,400
Occurrence of abortion	Yes	29	12 (41,4)	
	No	371	78 (21)	0,022
Animal purchasing	Yes	24	10 (41,7)	
	No	376	80 (21,3)	0,039
Rent pasture	Yes	84	67 (21,2)	
	No	316	23 (27,4)	0,290
Pasture sharing	Yes	56	13 (23,2)	
	No	344	77 (22,4)	1,000
Presence of flooded pastures	Yes	133	30 (22,6)	
	No	267	60 (22,5)	1,000
Maternity pens	Yes	102	24 (23,5)	
	No	298	66 (22,1)	0,880
Milk cooling	Yes	7	4 (57,1)	
	No	393	86 (21,9)	0,048
Veterinary assistance	Yes	67	19 (28,4)	
	No	333	71 (21,3)	0,272
Water resource sharing	Yes	52	15 (28,8)	
	No	348	75 (21,6)	0,319
Property Type	Urban periphery	16	9 (56,2)	

	Classic rural/ indian village/ settlement	384	81 (21,1)	0,003
Artificial insemination	Yes	2	2 (100,0)	
	No	398	88 (22,1)	0,050

Table 4. Factors associated with the apparent herd –level prevalence of enzootic bovine leukosis in cattle in the state of Paraíba, Northeastern Brazil, between the years 2012 and 2013.

Variable category	Coefficient estimates	Standard error	Wald Chi-square	Prevalence ratio	95% CI	P- value
Milking	0,563	0,263	4,578	1,76	1,05-2,94	0,032
Herd size > 23 animals	0,75	0,184	16,529	2,12	1,48- 3,04	< 0,001
Artificial insemination	0,491	0,243	4,079	1,63	1,02 - 2,63	0,043
Animal purchasing	0,507	0,244	4,308	1,66	1,03- 2,68	0,038
Urban periphery farm	0,635	0,279	5,16	1,89	1,09 - 3,27	0,023

Pearson Chi-square: value = 302.76; degrees of freedom - df = 390; value/df = 0.776)

CAPÍTULO II:

Soroprevalência da leucose enzoótica bovina (LEB): uma revisão sistemática e meta-análise

Gisele Cândida Ramalho, Clécio Henrique Limeira, Brunna Muniz Rodrigues Falcão, Denise Batista Nogueira, Flávia Teresa Ribeiro da Costa, Camila de Sousa Bezerra, Débora Luíse Canuto de Sousa, Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva, Camila Marinelli Martins, Clebert José Alves, Carolina de Sousa Américo Batista Santos, Sérgio Santos de Azevedo

Artigo será submetido ao periódico Tropical Animal Health and Production (JCR 1.089, Qualis B1)

Soroprevalência da leucose enzoótica bovina (LEB): uma revisão sistemática e meta-análise

Gisele Cândida Ramalho¹, Clécio Henrique Limeira¹, Brunna Muniz Rodrigues Falcão¹, Denise Batista Nogueira¹, Flávia Teresa Ribeiro da Costa¹, Camila de Sousa Bezerra¹, Débora Luíse Canuto de Sousa², Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva¹, Camila Marinelli Martins³, Clebert José Alves¹, Carolina de Sousa Américo Batista Santos¹, Sérgio Santos de Azevedo^{1*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Botucatu, São Paulo, Brasil.

*autor correspondente: Sérgio Santos de Azevedo. E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br

Resumo

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma doença transmissível causada por um retrovírus oncogênico. Acomete bovinos, principalmente de rebanhos leiteiros, desencadeando prejuízos econômicos, tornando-se indispensável o conhecimento da epidemiologia da doença, para que sejam sugeridas medidas de controle que reduzam as perdas geradas pela infecção. Assim, o objetivo da presente pesquisa foi realizar uma revisão sistemática com meta-análise sobre a prevalência da leucose em bovinos. Para tanto, realizou-se uma busca em cinco bases de dados onde foram encontrados 581 estudos, dos quais 13 foram utilizados para a realização da metanálise, após a utilização dos critérios de inclusão e exclusão. A prevalência combinada dos estudos foi de 31% (IC 25 - 37%), com alta heterogeneidade, atribuída às diferenças metodológicas utilizadas nas pesquisas e às diferenças no sistema produtivo de cada região. Os resultados encontrados apontam a necessidade de estudos epidemiológicos baseados em amostragem planejada de propriedades rurais e de animais, afim de obter indicadores epidemiológicos confiáveis que possam nortear programas de controle.

Palavras-chave Bovino. Leucose. Prevalência. Diagnóstico. Meta-análise.

Introdução

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma doença transmissível causada pelo Vírus da Leucose Enzoótica Bovina (VLEB), um retrovírus oncogênico do gênero *Deltaretrovirus*, família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae*. A infecção viral tem distribuição mundial com características epidemiológicas diferentes em cada país e com prevalência variável entre os rebanhos. A sua ocorrência é até quatro vezes maior em bovinos leiteiros quando comparados aos de corte (Ravazzolo e Costa, 2007; Ravazzollo et al., 2012; Frie et al., 2015; Polat et al., 2017 OIE, 2018). Os animais que apresentam a forma clínica da doença são descartados do rebanho devido a transtornos como infertilidade, queda na produção de leite e comprometimento de órgãos e sistemas (Silva et al., 2008; Barros Filho et al., 2010).

O VLEB pode ser veiculado por partículas livres e pela transferência de células portadoras de material genético. Por ser instável no ambiente, a transmissão ocorre de forma direta entre os animais ou por materiais recém-contaminados, através de fluídos corpóreos que contenham sangue ou exsudato, desde que inoculados no hospedeiro ou em contato com mucosas (Hirsch e Leite, 2016). Em termos práticos tem-se a transmissão do vírus através da palpação retal, imunização, transfusão sanguínea e cirurgias com a reutilização e não esterelização de materiais; mediante ingestão de leite fresco por recém-nascidos, pelas práticas de manejo errôneas adotadas nas propriedades, falhas higiênicas, e de forma iatrogênica através da picada de insetos hematófagos (Andrews et al, 2008; Silva et al., 2008; Nekouei et al., 2015; Ohno et al., 2015; Kohara et al., 2018; Konishi et al., 2018; Ruiz et al., 2018; Panei et al., 2019). A transmissão vertical foi comprovada através da detecção de soropositividade em bezerros recém-nascidos, sem ingestão do colostro, sendo esta via de transmissão responsável por 3 a 20% das infecções dos bezerros de vacas positivas (Leuzzi Junior et al., 2001).

O diagnóstico da LEB pode ser realizado através de métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos incluem o isolamento viral, através da cultura *in vitro*, utilizado para a realização de pesquisas e pela reação em cadeia pela polimerase (RCP) com DNA proviral, utilizada como teste de confirmação em casos inconclusivos na sorologia, essas técnicas são extremamente eficientes para detecção da doença, no entanto são dispendiosas e necessitam de insumos e mão de obra qualificada. Os principais métodos indiretos são a imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), o primeiro é oficialmente reconhecido como teste padrão ouro, apresentando boa especificidade e sensibilidade, relativamente simples e de baixo custo, já o segundo apresenta melhor sensibilidade e boa especificidade, capacidade de detectar anticorpos em outros materiais e testar um alto número de animais, apresentando como desvantagem o alto custo com máquinas para leitura e interpretação e a importação dos *kits*. (Hirsch e Leite, 2016; OIE, 2018).

A LEB tem efeitos substanciais sobre mortalidade, morbidade, parto prematuro, natimortos, aborto e reinfecção, o que gera perdas econômicas diretas devido à redução da produção de leite e do ganho de peso, à condenação de carcaças, aos custos com descarte e reposição de animais, restrição ao comércio de animais ou seus produtos e ao aumento dos custos com serviços veterinários (Carneiro et al., 2003; Azevedo et al., 2011). O vírus foi encontrado em bovinos, ovelhas, búfalos, cabras, alpacas e seres humanos (Mesa et al., 2013; Buehring et al., 2014; Nekouei et al., 2015). Embora não esteja claro o papel do vírus em humanos, evidências de sua presença foram relatadas e foi proposta como um potencial fator associado para o desenvolvimento de câncer de mama (Mesa et al., 2013; Buehring et al., 2014; Buehring et al., 2015; Baltzell et al. 2017; Schwingel et al., 2019).

Levando em consideração os impactos econômicos, as implicações na sanidade animal e pública, somado a ausência de vacinas ou de um tratamento efetivo, é de extrema relevância

que as entidades governamentais e formuladores de políticas considerassem a adoção de um programa de controle para a doença. Uma vez efetivado, o programa de controle facilita o diagnóstico de animais infectados e permite a adoção de medidas que dificultam a disseminação do vírus, minimizando o impacto que o VLEB tem no gado e, eventualmente, nos seres humanos que consumirem produtos alimentícios derivados de bovinos (Olaya-Galán et al., 2017).

Os estudos epidemiológicos permitem o conhecimento da ocorrência e dos fatores associados à leucose enzoótica bovina, norteando os programas de controle e consequentemente tornando possível o controle e/ou eliminação do vírus nas populações. Dessa maneira, o objetivo da presente pesquisa foi realizar um levantamento da prevalência da leucose enzoótica bovina em cenário mundial através de uma síntese quantitativa com meta-análise por meio de uma revisão sistemática de literatura.

Material e Métodos

Desenho da pesquisa

Realizou-se uma revisão sistemática de literatura com ênfase na soroprevalência da leucose enzoótica bovina, seguida de metanálise de dados quantitativos disponíveis em artigos de periódicos indexados. Para elaboração do estudo foram observadas as recomendações da metodologia PRISMA - Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (Moher et al., 2009).

Elegibilidade dos artigos

Foram selecionados artigos completos e comunicações breves em periódicos indexados que contivessem dados relativos à soroprevalência da leucose enzoótica bovina e

descrevessem os métodos de diagnóstico utilizados na identificação da infecção. Não houve restrição quanto ao ano de realização ou de publicação, nem tão pouco ao idioma no qual o artigo foi publicado ou ao país de desenvolvimento do trabalho.

Foram excluídas revisões de literatura, notas de pesquisa, editoriais e ensaios experimentais e outros tipos de publicações não elencadas nos critérios de inclusão. Também foram excluídos estudos que continham: outras espécies; relatos de caso; análise filogenética do vírus e aspectos clínicos da doença.

Fontes de informação e estratégias de busca

Tendo como base os fundamentos pré-estabelecidos, a pesquisa dos artigos foi realizada nos bancos de dados PubMed, Scielo, ScienceDirect, Scopus e Web of Science, utilizando os seguintes termos em inglês: {leukosis} AND {enzootic} AND {bovine} AND {prevalence}. As citações dos estudos identificados contendo título e resumo foram salvas no formato BibTex ou documento de texto e exportadas para um gerenciador bibliográfico para posterior seleção. As pesquisas foram realizadas entre os dias 26 e 30 de agosto de 2019.

Seleção dos estudos e extração dos dados

Para exclusão dos artigos em duplicatas foi utilizada a ferramenta disponibilizada pelo gerenciador bibliográfico. Em seguida, dois pesquisadores de forma independente realizaram uma seleção dos estudos, inicialmente através da análise do título e do resumo, e posteriormente pela leitura dos periódicos completos. Após a avaliação dos textos, outros estudos foram excluídos por não atenderem os critérios de elegibilidade. Os casos divergentes foram resolvidos por consenso.

A pesquisa de Meirelles et al., 2009 foi subdividido para análise em três anos, tendo em vista a metodologia utilizada pelos autores. A extração dos dados foi realizada individualmente por dois pesquisadores e as informações foram inseridas em uma planilha

eletrônica previamente elaborada. Os dados extraídos dos artigos foram: referências (autores e ano de publicação), país de realização do estudo, tamanho da amostra, tipo de amostragem, número de animais positivos e método de diagnóstico.

Análise dos dados

Para a análise dos dados quantitativos foi considerado o intervalo de confiança de 95% (IC 95%). A heterogeneidade foi avaliada pelo teste Q de Cochran e quantificada pelo teste I^2 de Higgins e Thompson. As estimativas combinadas e o IC de 95% foram calculadas com base no modelo de efeitos aleatórios pelo inverso da variância utilizando o método DerSimonian-Laird. Também foram utilizados avaliação visual do gráfico de funil e o teste de Egger como alternativas para identificar possíveis vieses. Todas as análises foram conduzidas no ambiente R (R Core Team, 2019) na interface RStudio (versão 1.1.463).

Resultados

A busca inicial nos bancos de dados e o processo de seleção dos estudos encontram-se esquematizados na Figura 1. Do número total de estudos pesquisados (n=581) restaram 13 que atendiam aos critérios de elegibilidade, os quais consistiam de estudos transversais (estudos de prevalência), com dados suficientes para uma síntese quantitativa e realização da meta-análise.

Os estudos incluídos nesta etapa foram realizados no Brasil (n = 2), Bulgária (n = 1), Canadá (n = 1), Chile (n=1), Colômbia (n = 1), Estados Unidos (n = 1), Irã (n= 1), Iraque (n = 1), Japão (n = 1), Perú (n = 1), Túrquia (n= 1), Venezuela (n=1). Um desses trabalhos (Meirelles et al., 2009) analisou a prevalência da LEB em três anos diferentes, sendo, portanto, considerado como três estudos independentes. Dessa forma, totalizou-se 15 estudos para realização da metanálise.

As informações que foram incluídas na metanálise podem ser visualizadas na Tabela 1. Após a realização das análises, foi possível observar a presença de alta heterogeneidade entre os estudos, a qual foi detectada pela realização do teste Q de Cochran ($p < 0,001$) e da estatística I^2 de Higgins e Thompson (onde $I^2 = 100\%$). Assim, foi utilizado o modelo de efeitos aleatórios, por subgrupos, para realização da metanálise. Por meio desse modelo, a prevalência combinada dos estudos para leucose em bovinos foi de 31% (IC 95% = 25 - 37%).

Para avaliar as possíveis causas de heterogeneidade, os estudos foram divididos nos seguintes subgrupos, de acordo com a técnica utilizada para diagnóstico: ELISA ou IDGA (Figura 2).

A análise visual do gráfico de funil (Figura 3) apresentou uma leve distribuição assimétrica dos 15 estudos, demonstrando possíveis vieses de publicação, contudo pela aplicação do teste de Egger ($p=0,62$) não foi possível confirmar a presença dos vieses.

Discussão

A prevalência agrupada entre os estudos foi de 31% para LEB. No entanto, a ocorrência da alta heterogeneidade contesta a confiabilidade do resultado. Na tentativa de identificar o fator responsável, realizou-se uma análise por subgrupo de acordo com a técnica de diagnóstico utilizado (ELISA e IDGA), entretanto, o resultado demonstrou que o teste empregado não justifica a alta heterogeneidade.

Os estudos selecionados para a meta-análise (Tabela 1), apesar de apresentarem os critérios de elegibilidade, não compartilham da mesma metodologia, sendo essa, portanto, a explicação mais provável para a heterogeneidade, a qual pode ser classificada como heterogeneidade metodológica (Santos e Cunha, 2013). A amostragem não aleatória utilizada em parte dos estudos pode ter influenciado diretamente nos resultados obtidos, tendo em vista

que esse tipo de seleção permite o levantamento de indicadores importantes, no entanto, ao selecionar as unidades de acordo com critérios, compromete-se a generalização dos resultados, causando assim interferência na prevalência. Além do tipo de amostragem utilizada, a quantidade de animais amostrados apresentou alta variabilidade, tendo valores muito significativos como no estudo de Sandev et al. (2001) e pequenas amostragens como a realizada por Meirelles et al. (2009).

Diferenças significativas também foram observadas quanto aos anos de publicação. Algumas pesquisas como a de Heald et al. (1992) e Uysal et al. (1998) datam do século passado, enquanto outras são mais recentes como a de Bauermann et al. (2017) e Khudhair et al. (2016). Morovati et al. (2011), Nava et al. (2011) e Sevik et al. (2015), encontraram em suas pesquisas, a idade como fator associado para a ocorrência e disseminação da LEB. Assim, pode-se notar que ao selecionar determinada idade para unidades amostrais, têm-se a probabilidade de intervir no resultado.

O uso de rebanhos leiteiros para a pesquisa por parte de alguns autores (Grau e Monti, 2010; Benavides et al., 2013; Morovati et al., 2011; Nava et al., 2011; Khudhair et al., 2016) é uma possível explicação para a heterogeneidade, uma vez que a literatura demonstra o maior acometimento por LEB em bovinos leiteiros (Ravazzollo e Costa, 2012). Acredita-se que ao selecionar apenas rebanhos leiteiros pode-se induzir a uma maior prevalência.

Outra possível explicação seria a heterogeneidade entre os países. Destacando as importantes diferenças dos sistemas produtivos, questões climáticas, culturais, de localização e de vigilância e saúde, que induzem diferenças na prevalência. Como exemplo, a notificação obrigatória da doença no Japão (Kobayashi et al., 2014) e a realização periódica de exames sorológicos contribuem para a redução da ocorrência da LEB, corroborando com o controle da disseminação, o que não ocorre em países onde não se realiza a monitoração do vírus.

Com a aplicação do teste de Egger, confirmou-se que a presente meta-análise não apresenta vies de publicação, significando que os estudos publicados retratam a realidade da doença. No entanto, pesquisas realizadas com amostras de tamanho pequeno, poderão encontrar resultados positivos ou negativos por influência do acaso (Pereira e Galvão, 2014). Levando em consideração que existem poucas pesquisas relacionadas à doença que seguem uma amostragem planejada, o presente estudo encoraja a condução de pesquisas com metodologias estruturadas, a fim de fornecer indicadores precisos que possam ser levados em consideração para o planejamento de programas de controle.

O presente estudo demonstrou uma prevalência significativa para LEB com uma distribuição cosmopolita. A heterogeneidade entre os resultados dos estudos incluídos nesta revisão é esperada, tendo em vista as diferenças em relação aos delineamentos das pesquisas. No entanto, isso evidencia a necessidade de padronização das pesquisas relacionadas ao tema, seguindo principalmente uma amostragem planejada, uma vez que as diferenças metodológicas influenciam nos resultados encontrados e dificultam a realização de pesquisas como essa.

A contribuição para a elaboração de programas de controle, bem como a adoção de medidas preventivas eficientes somente será possível através de estudos soropidemiológicos com amostragem significativa. Dessa forma, espera-se que essa pesquisa norteie e colabore para a elaboração de futuros estudos sobre o tema.

Referências

Amoril, J.G., Samara, S.I., Tarabla, H.D., Camargos, M.F., Furtado, C.C.V, 2009. Seroprevalence and risk factors for bovine leukemia virus infection in cattle of Goiás, Brazil. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1-3), 211–347. doi:10.1016/j.vetimm.2008.10.263.

Andrews, A.H.; Blowey, R.W., Boyd, H, 2008. Medicina bovina: doenças e criação de bovinos. 2.ed. (São Paulo: Roca).

Azevedo, M.R., Blagitz, M.G., Souza, F.N., Benesi, F.J., Della Libera, A.M.M.P., 2011. Avaliação funcional de monócitos de bovinos naturalmente infectados pelo vírus da leucose bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63 (5), 1131-1140.

Baltzell, K.A., Shen, H.M., Krishnamurty, S., Sison, J.D., Nuovo, G.J., Buehring, G.C., 2017. Bovine Leukemia Virus Linked to Breast Cancer But Not Coinfection With Human Papillomavirus: Case-Control Study of Women in Texas. *Cancer*, 124(7), 1342-1349. doi:10.1002/cncr.31169.

Barros Filho, I.R., Guimarães, A.K., Sponchiado, D., Kruguer, E.R., Wammes, E.V., Ollhoff, R.D., Dornbusch, P.T., Biondo, A.W., 2010. Soroprevalência de anticorpos para o vírus da leucose enzoótica em bovinos criados na região metropolitana de Curitiba, Paraná. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77 (3), 511-515.

Bauermann, F.V., Ridpath, J.F., Dargatz, D.A., 2017. Bovine leukemia virus seroprevalence among cattle presented for slaughter in the United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 29(5), p.704–706. doi:10.1177/1040638717702183.

Benavides, B.B., Quevedo, D.A.C., De La Cruz, M.F.S., 2013. Epidemiological study of bovine leukemia virus in dairy cows in six herds in the municipality of Pasto, Nariño. *Revista Lasallista de Investigación*, 10(1), 18-26.

Buehring, G.C., Shen, H.M., Jensen, H.M., Choi, K.Y., Sun, D., Nuovo, G., 2014. Bovine leukemia virus DNA in human breast tissue. *Emerging infectious diseases*, 20, 772-782. doi: 10.3201/eid2005.131298.

Buehring, G.C., Shen, H.M., Jensen, H.M., Jin, D.L., Hudes, M., Block, G., 2015. Exposure to Bovine Leukemia Virus Is Associated with Breast Cancer: A Case-Control Study. *PloS one*, 10. doi:10.1371/journal.pone.0134304.

Carneiro, P.A.M.; Araújo, W.P.; Birgel, E.H.; Souza, K.W., 2003. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 33 (1), 111-125.

Ravazzollo, A.P.; Costa, U. Retroviridae. In: Flores, E.F., 2007. *Virologia Veterinária*. Rio Grande do Sul: UFSM. 2007, cap. 31, 809-838.

Frie, M.C., Coussens, P.M., 2015. Bovine leukemia virus: A major silent threat to proper immune responses in cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 163(3), 103-114.

Grau, M.A., Monti, G., 2010. Between and within-herd seroprevalence for bovine leukosis virus infection in dairy herds from southern Chile. *Archivos de Medicina Veterinária*, 42, 87-91.

Heald, M.T., Toews, D.W., Jacobs, R.M., McNab, W.B., 1992. The prevalence of anti-bovine leukemia virus antibodies in dairy cows and associations with farm management practices, production and culling in Ontario. *Preventive veterinary medicine*, 14, 45-55.

Khudhair, Y.I., Hasso, S.A., Yaseen, N.Y., Al-Shammari, A.M., 2016. Serological and molecular detection of bovine leukemia virus in cattle in Iraq. *Emerging Microbes and Infections*, 5 (6). doi:10.1038/emi.2016.60.

Kobayashi, S., Hidano, A., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Nishida, T., Muroga, N., Konishi, M., Kameyama, K., Murakami, K., 2014. Analysis of risk factors associated with bovine leukemia virus seropositivity within dairy and beef breeding farms in Japan: A nationwide survey. S. Kobayashi et al. *Research in Veterinary Science*, 96, 47–53.

Konishi, M., Ishizaki, H., Kameyama, K., Murakami, K., Yamamoto, T., 2018. The effectiveness of colostrum antibodies for preventing bovine leukemia virus (BLV) infection *in vitro*. *BMC Veterinary Research*, 14(419), 1-9.

Kohara, J., Takeuchi, M., Hirano, Y., Sakurai, Y., Takahashi, T., 2018. Vector control efficacy of fly nets on preventing bovine leukemia virus transmission. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(10), 1524-1527.

Leuzzi Junior, L.A., Alfieri, A.F., Alfieri, A.A., 2001. Leucose enzoótica bovina e vírus da leucemia bovina. *Semina: Ciência Agrárias*, 22 (2), 211-221.

Hirsch, C., Leite, R.C., 2016. Leucose enzoótica bovina. *In: Megid, J.; Ribeiro, M.G.; Paes, A.C. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. Rio de Janeiro: Roca, 736-741.*

Meirelles, C., Dittrich, T., Cipriano, F., Ollhoff, R.D., 2009. Evolução da soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em um rebanho bovino leiteiro universitário. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 30 (3), 671-678.*

Mesa, G., Ulloa, J., Uribe, A., Gutierrez, M., 2013. Bovine Leukemia Virus (BLV) gene segment detected in human breast tissue. *Open Journal of Medical Microbiology, 3, 84-90.*

Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G., Prisma Group, 2009. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med. 6(7): e1000097.*

Morovati, H., Shirvani, E., Noaman, V., Lotfi, M., Kamalzadeh, M., Hatami, A., Bahreyari, M., Shahramyar, Z., Morovati, M.H., Azimi, M., Sakhaei, D., 2011. Seroprevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection in dairy cattle in Isfahan Province, Iran. *Tropical Animal Health and Production, 44, 1127–1129.*

Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K., Yamamoto, T., Tsutsui, T., 2011. The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. *Veterinary Microbiology 148, 84–88.*

Nava, Z., Obando, C., Molin, M., Bracamonte, M., Tkachuk, O., 2011. Seroprevalence of Enzootic Bovine Leukosis and its Association with Clinical Signs and Risk Factors in Dairy Herds from Barinas State, Venezuela. *Revista de la Facultad de Ciencias. Veterinarias*, 52(1), 13-23.

Nekouei, O., Vanleeuwen, J., Sanchez, J., Kelton, D., Tiwari, A., Keef, G., 2015. Herd-level risk factors for infection with bovine leukemia virus in Canadian dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 119, 105-113.

Ohno, A., Takeshima, S.N., Matsumoto, Y., Ainda, Y., 2015. Risk factors associated with increased bovine leukemia virus proviralload in infected cattle in Japan from 2012 to 2014. *Virus Research*, 210, 283-290.

Olaya-Galán, N., Corredor-Figueroa, A., Guzmán-Garzón, T., Ríos-Hernandez, K., Salas-Cárdenas, S., Patarroyo, M., Gutierrez, M., 2017. Bovine leukaemia virus DNA in fresh milk and raw beef for human consumption. *Epidemiology and Infection*, 1-6.

Organização Mundial da Saúde Animal - OIE., 2018. Office International Epizooties. *World organization for animal health. Terrestrial Manual. Enzootic Bovine Leukosis*. 12p.

Panei, C.J., Larsen, A.E., Fuentealba, N.A., Metz, G.E., Echeverría, M.G., Galosi, C.M., Valera, A.R., 2019. Study of horn flies as vectors of bovine leukemia virus. *Open Veterinary Journal*, 9(1), 33-37.

Pereira, M.G., Galvão, T.F., 2014. Heterogeneidade e viés de publicação em revisões sistemáticas. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 23 (4), 775-778.

Polat, M., Takeshima, S., Aida, Y., 2017. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia vírus. *Virology Journal*, 14(209), 1-16.

R Core Team, 2019. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.

Ravazzolo, A.P.; Costa, U.M., 2012. Retroviridae. In: Flores, E.F. *Virologia Veterinária: virologia geral e doenças víricas*. 2.ed. Santa Maria. Editora da UFSM, p. 955-985.

Ruiz, V., Porta, N.G., Lomónaco, M., Trono, K., Alvarez, I., 2018. Bovine leukemia virus infection in neonatal calves. Risk factors and control measures. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 1-7.

Sandev, N., Sizov, I., Pandarov, S., Stamka, A., Dojchev, T., Vasilev, V., Tanchev, T., Georgieva, L., 2001. Prevalence of enzootic bovine leukosis in South-eastern Bulgaria during the period 1998-2000. *Veterinarski Arhiv*, 71 (4), 215-221.

Santos, E., Cunha, M., 2013. Interpretação Crítica dos Resultados Estatísticos de uma Meta-Análise: Estratégias Metodológicas. *Millenium*, 44, 85-98.

Schwingel, D., Andreolla, A.P., Erpen, L.M.S., Frandoloso, R., Kreutz, L.C., 2019. Bovine leukemia virus DNA associated with breast cancer in women from South Brazil. *Scientific Reports*, 9:2949.

Şevik, M., Avci, O., İnce, Ö.B., 2015. An 8-year longitudinal sero-epidemiological study of bovine leukaemia virus (BLV) infection in dairy cattle in Turkey and analysis of risk factors associated with BLV seropositivity. *Tropical Animal Health and Production*. doi:10.1007/s11250-015-0783-x

Silva, R.C., Fontana, I., Meirelles, F.C., Ruggiero, A.P.M., Benato, N., Borges, J.R.J., 2008. Ocorrência de leucose enzoótica bovina na forma de linfossarcomas no distrito federal: relato de caso. *Arquivos do Instituto Biológico*, 75(4), 507-512.

Uysal, A., Yilmaz, H., Bilal, T., Berriatua, E., Bakirel, U., Arslan, M., Zerin, M., Tan, H., 1998. Seroprevalence of enzootic bovine leukosis in Trakya district (Marmara region) in Turkey. *Preventive Veterinary Medicine*, 37, 121-128.

FIGURAS

Fig. 1 Fluxograma do processo de busca, seleção e inclusão dos estudos na revisão sistemática

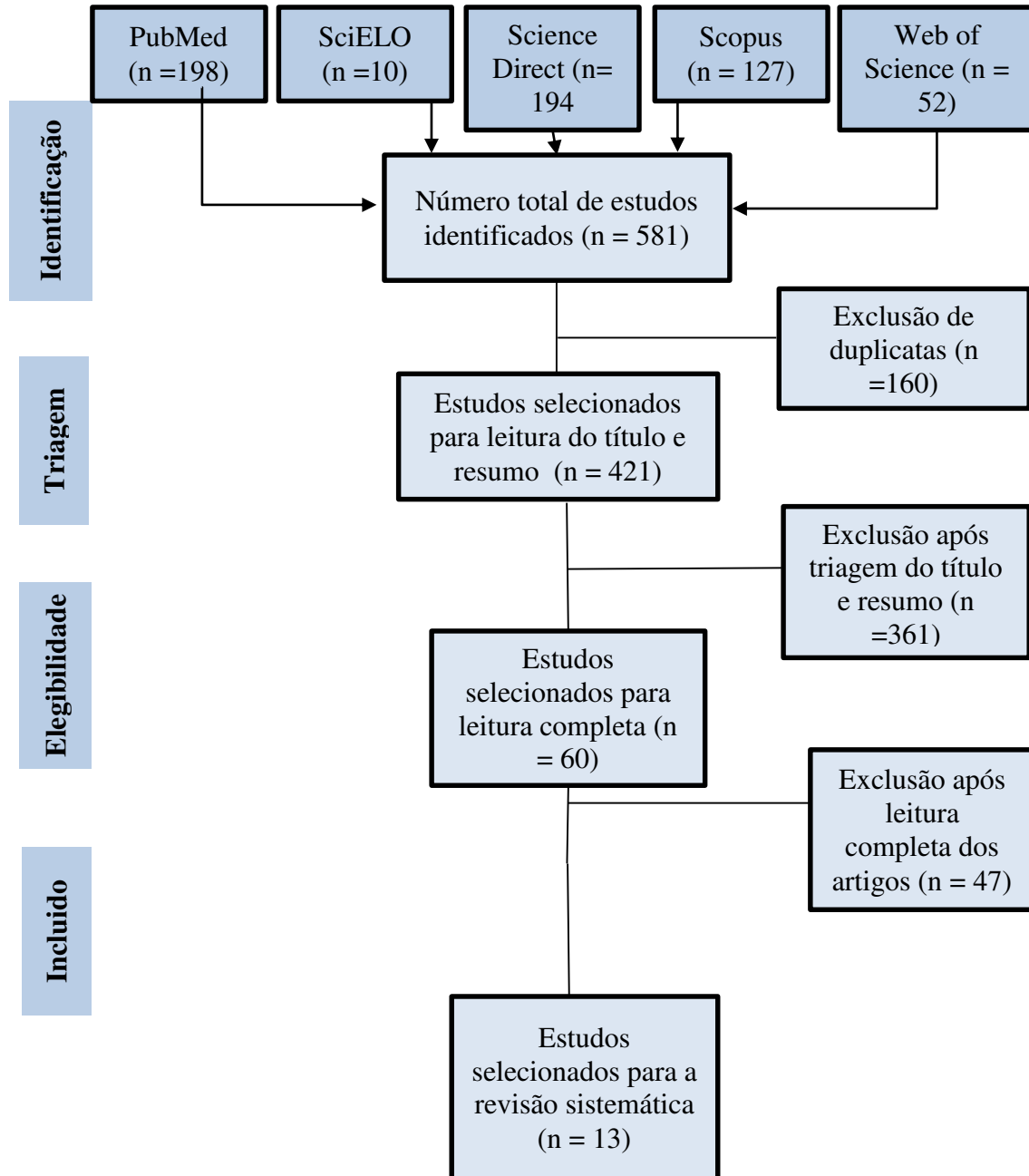


Fig. 2 Combinação de 13 estudos de prevalência para leucose enzoótica bovina de acordo com o método de diagnóstico utilizado

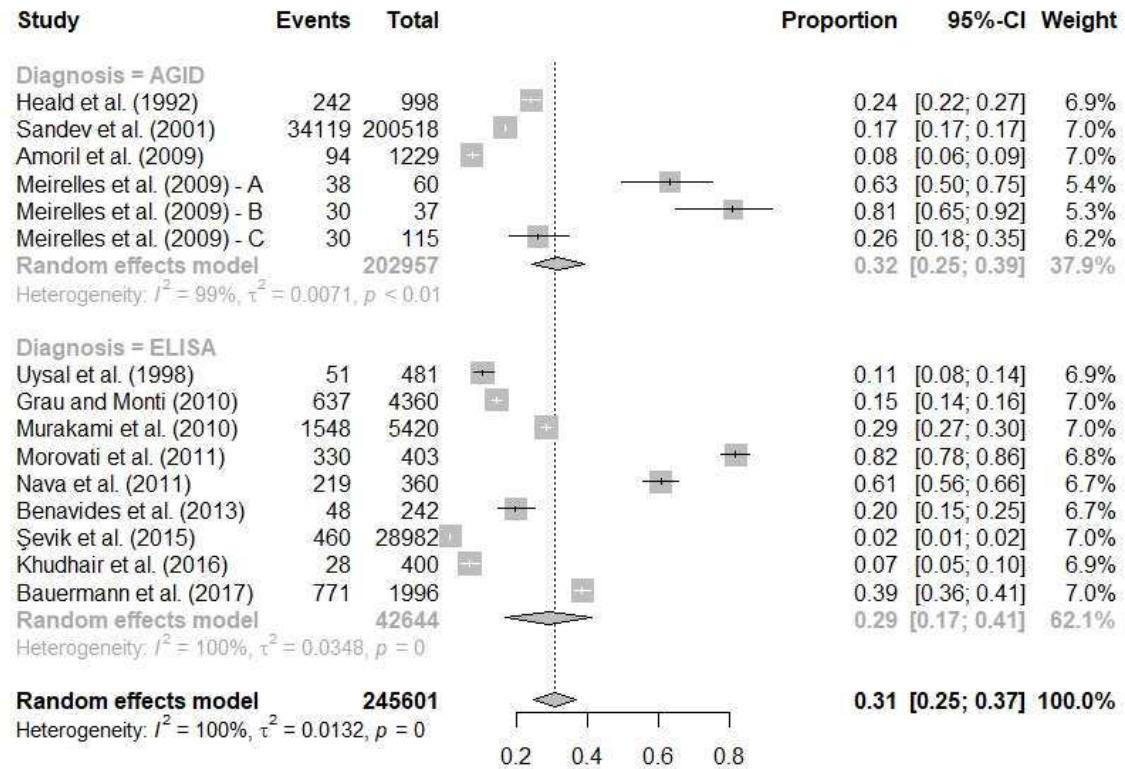
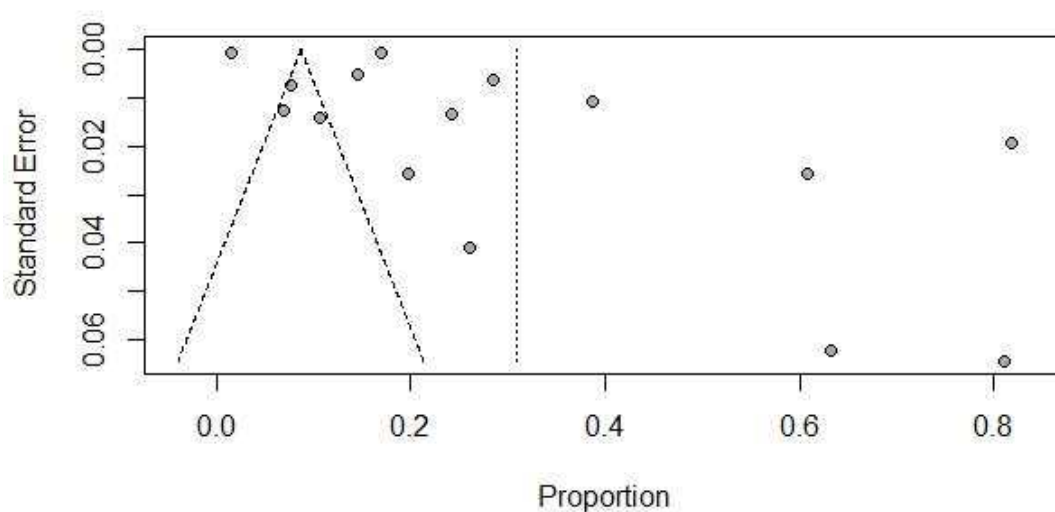


Fig. 3 Gráfico de funil apresentando a distribuição assimétrica dos estudos de prevalência de leucose enzoótica bovina



TABELAS

Tabela 1. Síntese quantitativa das principais características dos estudos incluídos na meta-análise

Estudo	Amostragem	Positivos	Amostras	País	Método Diagnóstico
Heald et al. (1992)	Não aleatória	242	998	Canadá	IDGA
Uysal et al. (1998)	Não aleatória	51	481	Peru	ELISA
Sandev et al. (2001)	Não aleatória	34119	200518	Bulgária	IDGA
Amoril et al. (2009)	Aleatória	94	1229	Brasil	IDGA
Meirelles et al. (2009) – A	Não aleatória	38	60	Brasil	IDGA
Meirelles et al. (2009) – B	Não aleatória	30	37	Brasil	IDGA
Meirelles et al. (2009) – C	Não aleatória	30	115	Brasil	IDGA
Grau and Monti (2010)	Aleatória	637	4360	Chile	ELISA
Murakami et al. (2010)	Não aleatória	1548	5420	Japão	ELISA
Morovati et al. (2011)	Não aleatória	330	403	Iran	ELISA
Nava et al. (2011)	Aleatória	219	360	Venezuela	ELISA
Benavides et al. (2013)	Aleatória	48	242	Colombia	ELISA
Şevik et al. (2015)	Aleatória	460	28982	Turquia	ELISA
Khudhair et al. (2016)	Não aleatória	28	400	Iraque	ELISA
Bauermann et al. (2017)	Aleatória	771	1996	Estados Unidos	ELISA

CONCLUSÃO GERAL

O presente estudo demonstrou uma alta prevalência para LEB no estado da Paraíba e em nível mundial, com uma distribuição uniforme, evidenciando a necessidade de padronização das pesquisas relacionadas ao tema. Recomenda-se que os estudos sejam elaborados com uma amostragem planejada, para que os dados encontrados possam nortear a elaboração de um programa de controle e orientar a adoção de medidas preventivas eficientes a fim de controlar a disseminação do vírus.

Além disso, recomenda-se a monitoração periódica dos bovinos, bem como cuidado na aquisição de novos animais, além da adoção de medidas sanitárias nas fazendas. Assim, espera-se que essa pesquisa norteie e colabore para a elaboração de futuros estudos sobre o tema.

