



IMPACTO DA CARGA PROVIRAL DO VÍRUS DA LEUCEMIA BOVINA NA IMUNIDADE E SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Priscila Correa Frison

Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Saúde Bem-estar e Produção Animal na Fronteira Sul da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e bolsista do CNPq

Maiara Garcia Blagitz Azevedo

Professora Doutora da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)

priscila.frison@estudante.uffs.edu.br

maiara.azevedo@uffs.edu.br

1. Introdução

O vírus da leucemia bovina (VLB), pertencente à família *Retroviridae* e ao gênero *Deltaretrovirus*, está amplamente disseminado em rebanhos leiteiros (Gillet et al., 2007). A infecção crônica pode ser assintomática, mas acarreta impactos produtivos e sanitários significativos (Paneti et al., 2013). A transmissão ocorre principalmente por contato com sangue contaminado, podendo também ocorrer via insetos (Bartlett et al., 2020).

A proteína viral Tax modula o sistema imunológico, suprimindo mecanismos essenciais como a apresentação de抗ígenos e a atividade das células *Natural Killer* (NK) (Aida et al., 2013). O VLB induz a liberação de citocinas inflamatórias e pode levar à linfocitose persistente (LP) e, em casos avançados, à formação de linfossarcomas (Azedo et al., 2008).

Estudos indicam que bovinos infectados apresentam maior predisposição a doenças infecciosas (Fries et al., 2015) e disfunções imunológicas, incluindo redução da atividade fagocítica de neutrófilos e monócitos (Blagitz et al., 2017). A infecção compromete a imunidade da glândula mamária, aumentando o risco de mastite subclínica em 2,61 vezes (Nakada et al., 2022; Della Libera et al., 2015).

O diagnóstico precoce, por testes sorológicos e *quantitative polymerase chain reaction* (qPCR), é fundamental para controle e manejo da doença (Ruggiero et al., 2019; Jimba et al., 2012). A quantificação da carga viral auxilia na avaliação da progressão da infecção e risco de transmissão (Takeshima et al., 2015). Pesquisas anteriores da equipe investigaram efeitos do VLB sobre células imunes e



pontos de controle imunológicos, evidenciando associação entre infecção, imunossupressão e maior susceptibilidade à mastite. No entanto, o impacto da carga viral sobre a imunidade sistêmica e local no período de transição ainda é pouco conhecido.

Nesse contexto, é relevante compreender padrões imunológicos associados a diferentes níveis de infecção, com destaque para marcadores como PD-1, CTLA-4 e MHC-II, além da caracterização das subpopulações linfocitárias CD4+, CD8+ e $\gamma\delta$ T, que podem refletir mecanismos de imunossupressão e vulnerabilidade a infecções secundárias.

Esta proposta visa investigar esses efeitos, incluindo a expressão de pontos de controle imunológico e o papel dos neutrófilos regulatórios (CH138A+). Os resultados esperados contribuirão para o entendimento dos mecanismos imunopatológicos do VLB e para o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes, melhorando a saúde, o bem-estar animal e a produtividade da cadeia leiteira.

2. Metodologia

Este estudo será realizado com 300 vacas Holandesas, sob mesmas condições de manejo, após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA). Os animais passarão por triagem sorológica para detecção do vírus da leucemia bovina (VLB) e contagem de leucócitos. A partir desses dados, serão formados quatro grupos experimentais (n=8 cada): G1 (sadios), G2 (soropositivos com baixa carga viral), G3 (soropositivos com alta carga viral) e G4 (soropositivos com linfocitose persistente e alta carga viral).

Amostras de sangue serão coletadas 90 dias antes do parto e no dia do parto para hemograma, citometria de fluxo e quantificação da carga proviral por *quantitative polymerase chain reaction* (qPCR, BLV SS1). A carga será expressa como razão entre cópias de VLB e de β -actina. Amostras de leite serão obtidas em seis momentos (do pré-parto até 30 dias pós-parto) para análise da contagem de células somáticas (CCS), diagnóstico de mastite clínica e subclínica, e cultura microbiológica com identificação bacteriana por MALDI-TOF MS.

Serão avaliadas por citometria as subpopulações linfocitárias CD4+, CD8+, $\gamma\delta$ T (WC1+, WC1.1+, WC1.2+), marcadores de memória (CD45R0), PD-1 e CTLA-4, além da expressão de MHC-II em neutrófilos regulatórios (CH138A+) no sangue e no leite. A



análise estatística será realizada no software **R** (versão 4.3 ou superior). Inicialmente, a distribuição dos dados será avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk, para definição do teste mais adequado (paramétrico ou não paramétrico). Para comparações entre grupos e tempos, serão aplicados modelos lineares mistos ou testes equivalentes, conforme a natureza dos dados.

3. Resultados e discussão

Este projeto visa avanços científicos e aplicações práticas na cadeia leiteira, focando na relação entre carga viral do vírus da leucemia bovina (VLB) e a resposta imunológica sistêmica e local em vacas leiteiras, especialmente no período de transição. Espera-se contribuir para o entendimento dos mecanismos imunopatológicos do VLB, apoiando o controle da doença e suas comorbidades, como a mastite.

Entre os principais resultados previstos está a caracterização da relação entre carga viral e saúde imunológica, incluindo a identificação de marcadores como PD-1, CTLA-4 e MHC-II em células imunológicas. A análise das subpopulações linfocitárias CD4+, CD8+ e $\gamma\delta$ T avaliará o impacto do VLB na função imune, elucidando sua supressão e a maior suscetibilidade a infecções secundárias.

O estudo também pretende avaliar a saúde da glândula mamária, relacionando carga viral, imunidade local, contagem de células somáticas e incidência de mastite, para apoiar estratégias de manejo que reduzam perdas econômicas. Serão propostos parâmetros diagnósticos e de manejo, baseados em carga viral, leucócitos e marcadores imunológicos, para identificar animais com maior risco de linfocitose persistente e linfossarcomas, além de subsidiar programas genéticos para resistência ao VLB.

No âmbito da ciência básica, o trabalho ampliará o conhecimento sobre imunidade adaptativa e inata em bovinos infectados, especialmente sobre memória imunológica e função de monócitos e neutrófilos, trazendo novos insights sobre imunossupressão induzida pelo VLB.

Os dados gerados apoiarão o desenvolvimento de estratégias e políticas públicas para controle e erradicação do VLB, incluindo a adoção de tecnologias avançadas como citometria de fluxo para diagnósticos inovadores.



Além do impacto científico, o projeto beneficiará o bem-estar animal, reduzindo doenças secundárias e aumentando a produtividade e longevidade dos rebanhos, gerando ganhos econômicos para os produtores.

Por fim, a disseminação será feita por meio de publicações em periódicos de alto impacto e participação em eventos científicos e técnicos, fortalecendo a conexão entre academia e setor produtivo para promover inovação e sustentabilidade.

4. Considerações finais

Este estudo visa aprofundar o entendimento dos efeitos da infecção crônica pelo vírus da leucemia bovina (VLB) na imunidade sistêmica e mamária de vacas leiteiras durante o período crítico de transição. Ao analisar a carga viral, a linfocitose persistente e a expressão de marcadores imunológicos como PD-1, CTLA-4 e MHC-II, espera-se identificar mecanismos de supressão imunológica que aumentam a suscetibilidade a doenças como a mastite. Os resultados poderão subsidiar estratégias de manejo e controle mais eficazes, incluindo o descarte seletivo de animais de alto risco e aprimoramento dos protocolos de biossegurança.

Além do impacto científico, o estudo tem relevância social e econômica, ao propor melhorias na saúde animal, redução do uso de antimicrobianos, aumento da produtividade e promoção do bem-estar dos rebanhos, alinhando-se ao conceito de saúde única e reforçando a ciência como parceira da produção sustentável e da saúde pública.

Em síntese, ao integrar análises imunológicas detalhadas, avaliação da carga viral e marcadores de risco, a pesquisa pretende oferecer ferramentas práticas e cientificamente embasadas para o diagnóstico e o manejo do VLB, contribuindo tanto para o avanço do conhecimento quanto para a melhoria da realidade produtiva no campo.

Referências

- AZEDO, M. R. et al. *Leucose Enzoótica Bovina: Revisão de literatura*. **Rev. Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 6, n. 10, p. 1–13, 2008.
- BARTLETT, P. C. et al. *Current developments in the epidemiology and control of enzootic bovine leukemia as caused by bovine leukemia virus*. **Pathogens**, v. 9, n. 12, p. 1058, 2020.
- BLAGITZ, M. G. et al. *Immunological implications of bovine leukemia virus infection*. **Research in Veterinary Science**, v. 114, p. 109–116, 2017.



DELLA LIBERA, A. M. M. P. et al. *Effects of bovine leukemia virus infection on milk neutrophil function and the milk lymphocyte profile*. **Veterinary Research**, v. 46, n. 1, 2015.

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

GILLET, N. et al. *Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in humans*. **Retrovirology**, v. 4, p. 18, 2007.

JIMBA, M. et al. *BLV-CoCoMo-qPCR: A useful tool to assess the infection status of bovine leukemia virus*. **BMC Veterinary Research**, v. 8, p. 167, 2012.

NAKADA, S. et al. *Economic losses associated with mastitis due to bovine leukemia virus infection*. **Journal of Dairy Science**, v. 106, p. 576–588, 2023.

NAKADA, S. et al. *Estimation of economic loss by carcass weight reduction of Japanese dairy cows due to infection with bovine leukemia virus*. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 198, p. 105528, 2022.

PANEI, C. J. et al. *Estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leukosis using BLV-CoCoMo-qPCR*. **BMC Veterinary Research**, v. 9, p. 95, 2013.

TAKESHIMA, S. N. et al. *BLV-CoCoMo-qPCR-2: Improvements in the BLV-CoCoMo-qPCR assay for bovine leukemia virus, reducing primer degeneration and constructing an ideal standard curve*. **Archives of Virology**, v. 160, p. 1325–1332, 2015.