

Doença das mucosas associada à dermatite generalizada em bovinos, Mato Grosso do Sul¹

Luiz C.L. Ferreira², Eduardo F. Flores³, David Driemeier⁴, Orivaldo Melo⁵ e Ricardo A.A. Lemos^{6*}

ABSTRACT.- Ferreira L.C.L., Flores E.F., Driemeier D., Melo O. & Lemos R.A.A. 2008. [Mucosal disease associated with generalized dermatitis in cattle, Mato Grosso do Sul, Brazil.] Doença das mucosas associada à dermatite generalizada em bovinos, Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28(6):285-292. Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Senador Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79070-900, Brazil. E-mail: eqrural@nin.ufms.br

This paper reports epidemiological, clinical, pathological and laboratory diagnostic aspects of a form of dermatitis associated with mucosal disease (MD) in cattle. It also focuses on the methods used for identifying persistently infected (PI) animals and on the impact of the disease on fertility and weaning rates in the affected herd. Cases of dermatitis associated with MD were diagnosed in two 12 and 24-month-old Nelore calves belonging to a beef cattle farm that operates the full cycle of production (calving, rearing, finishing) in Mato Grosso do Sul, Midwest Brazil. The clinical signs exhibited by affected cattle included slow, progressive weight loss; formation of diffuse skin crusts in multiple body areas; skin dryness; multiple ulcerations on the gums and dorsal surface of the tongue which evolved to longitudinal fissures; formation of keratinized projections; and detachment of hoof horn. In addition, diarrhea affected one animal in the late stage of the disease. Necropsies also revealed longitudinal erosions in the esophagus. Histological examination showed coagulation necrosis foci in esophageal and lingual mucosae, with neutrophil and lymphocyte infiltration. Skin lesions consisted of epidermal coagulation necrosis associated with neutrophil infiltration and hyperkeratosis. In both cases, clinical diagnosis was confirmed by the isolation and identification of cytopathic and noncytopathic biotypes of the bovine viral diarrhea virus (BVDV) and immunohistochemical detection of viral antigens in formalin fixed tissues. Out of 300 cattle that had contact with the affected animals, 38 were found to be seropositive - in high neutralizing titers - to BVDV. Blood samples from 1,025 young animals and 40 bulls from the farm were examined for the presence of BVDV to identify potential PI animals. The virus was isolated from blood of three calves in the initial test and, 12 months later, from two of them which had remained on the farm. Only one of these calves was found to be BVDV-positive by immuno-

¹ Recebido em 26 de dezembro de 2007.

Aceito para publicação em 9 de fevereiro de 2008.

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brasil.

² Médico Veterinário Autônomo, Campo Grande, MS 79041-231. E-mail: caio@ciapecuaria.com.br

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS 97105-900, Brasil. E-mail: flores@ccr.ufsm.br

⁴ Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS 91500-000, Brasil. E-mail: davetpat@ufrgs.br

⁵ Médico Veterinário Autônomo, Rua Túlio Abrão 83, Campo Grande, MS 79051610.

⁶ Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UFMS, Av. Senador Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79070-900. *Autor para correspondência: eqrural@nin.ufms.br

histochemical testing performed on ear-tissue samples. In the year following the birth of PI calves, the herd underwent decreases in fertility and weaning rates, which later returned to their previous levels. The resulting data demonstrate the presence of BVDV infection in beef herds in Mato Grosso do Sul and provide evidence as to include the disease in the differential diagnosis of causes of generalized dermatitis in cattle.

INDEX TERMS: Bovine viral diarrhoea virus, mucosal disease, cattle diseases, viral diseases, dermatitis.

RESUMO.- São descritos os aspectos epidemiológicos, clínicos, patológicos e diagnósticos de uma forma de dermatite associada à doença das mucosas (DM) em bovinos. Também são abordadas metodologias para a identificação de animais persistentemente infectados (PI) e o impacto nos índices zootécnicos no rebanho afetado. Os casos de dermatite associados com DM ocorreram em dois bovinos Nelore, de 12 e 24 meses de idade, pertencentes a uma fazenda de ciclo completo de bovinos de corte no estado de Mato Grosso do Sul. Os sinais clínicos nesses animais consistiam de emagrecimento lento e progressivo, formação de crostas difusas na pele de todo o corpo, pele ressecada, múltiplas ulcerações nas gengivas e face dorsal da língua, que evoluíram para fendas longitudinais, formação de projeções cornificadas e desprendimento dos cascos. Em um caso, também ocorreu diarréia no estágio final da doença. Na necropsia observaram-se ainda erosões longitudinais no esôfago. O exame histológico revelou focos de necrose de coagulação na mucosa do esôfago e língua, com infiltrado de neutrófilos e linfócitos. As lesões da pele consistiam de necrose de coagulação da epiderme associada com infiltrado de neutrófilos e hiperqueratose. Nos dois casos, a suspeita clínica foi confirmada pelo isolamento viral e identificação dos biótipos citopático e não-citopático do vírus da diarréia viral bovina (BVDV), além da detecção de antígenos virais em tecidos por imunistoquímica. De um lote de 300 bovinos que tiveram contato com animais afetados, 38 foram testados e apresentaram altos títulos de anticorpos para o BVDV. Amostras de sangue coletadas de 1.025 animais jovens e 40 touros da propriedade foram submetidas a pesquisa de vírus para se identificarem possíveis animais persistentemente infectados (PI). O vírus foi isolado do sangue de três bezerros no teste inicial e, 12 meses depois, em dois deles que permaneceram na propriedade. Imunistoquímica realizada em biópsia de orelhas identificou apenas um destes animais como positivo. O rebanho apresentou redução no índice de fertilidade e taxa de desmame no ano seguinte ao nascimento dos bezerros PI, mas estes indicadores retornaram posteriormente aos valores anteriores. Os resultados apresentados demonstram a presença da infecção por BVDV em rebanhos de corte no estado de Mato Grosso do Sul, e evidenciam a necessidade da inclusão dessa enfermidade no diagnóstico diferencial de causas de dermatites generalizadas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Vírus da diarréia viral bovina, doença das mucosas, doenças de bovinos, doenças virais, dermatite.

INTRODUÇÃO

O agente da diarréia viral bovina (BVDV) é um vírus envelopado pequeno, da família *Flaviridae*, gênero *Pestivirus*, amplamente distribuído na população bovina mundial. A prevalência de anticorpos pode atingir 70 a 80% dos bovinos e até 80% dos rebanhos na América do Norte e em alguns países europeus. No Brasil estudos sorológicos, descrições clínico-patológicas, isolamento e caracterização do agente têm sido realizados em várias regiões (Flores et al. 2005).

O BVDV apresenta dois biótipos reconhecidos pelo efeito causado por sua replicação em cultivo celular, os biótipos citopático (CP) e não-citopático (NCP) (Steven & Grooms 2004). Os vírus NCP constituem a maioria dos isolados de campo, e estão associados com as diversas manifestações clínicas da infecção, inclusive a geração de bezerros persistentemente infectados, evento que ocorre após a infecção fetal entre os dias 40 e 120 de gestação (Grooms 2004). Por outro lado, os vírus CP estão presentes, quase que exclusivamente, em casos da doença das mucosas (DM). Tem sido demonstrado que os vírus CP se originam dos vírus NCP nos animais PI, por meio de mutações ou recombinações no genoma (Meyers et al. 1992, 1996). O BVDV também se apresenta em dois genótipos, BVDV tipo 1 e BVDV tipo 2 (Ridpath et al. 1994, Pellerin et al. 1994, Wolfmeyer et al. 1997), conforme propriedades antigênicas e análise filogenética (Ridpath et al. 1994).

A infecção por BVDV pode manifestar-se sob várias apresentações clínicas, que vão desde condições subclínicas até a morte do animal. Estima-se que 70-90% das infecções por BVDV ocorram sem manifestações clínicas. Outras formas da enfermidade incluem doença respiratória, gastrentérica, síndrome hemorrágica com trombocitopenia, abortos, infertilidade temporária, defeitos congênitos, imunodepressão e doença das mucosas (Grooms et al. 2002).

Vacas prenhes infectadas com cepas NCP de BVDV antes do desenvolvimento da imunocompetência fetal (40-120 dias de gestação) podem parir bezerros que são imunotolerantes e persistentemente infectados (PI) por BVDV (Grooms 2004). Bovinos que nascem PI são importantes na epidemiologia, pois se constituem na maior fonte de vírus nos rebanhos. Portanto, a sua detecção e remoção para o controle e/ou erradicação da infecção é fundamental (Dubovi 1992, Grooms 2004). A doença das mucosas (DM) ocorre quando os bezerros PI são superinfectados com o biótipo CP homólogos antigenicamente

ao vírus NCP residente (Grooms & Keilen 2002, Radostits et al. 2002, Potgieter 2004). Isto ocorre geralmente por meio de mutações ou recombinações no genoma do vírus NCP, originando o correspondente CP (Meyers et al. 1992, 1996).

A ocorrência de dermatite é comum na forma crônica da DM e se caracteriza, na maioria das vezes, por áreas de alopecia e hiperqueratose ou eczema na região cervical e erosões crônicas no períneo, vulva, prepúcio, junção entre a pele e o corno, espaço interdigital, na sola do casco e ao redor das pinças e dedos acessórios (Potgieter 2004). Entretanto, na literatura consultada não foram encontrados relatos de casos de DM associados à dermatite generalizada. Embora no Brasil existam diversos relatos da infecção por BVDV e de casos clínicos compatíveis com a DM, poucos casos foram confirmados laboratorialmente e um caso foi descrito recentemente (Schmitz 2006).

O objetivo deste trabalho foi descrever a epidemiologia, sinais clínicos, patologia e diagnósticos laboratoriais de dois casos de DM associados à dermatite generalizada severa, em um rebanho de bovinos de corte de criação extensiva no estado de Mato Grosso do Sul (MS). Também foram abordadas as metodologias utilizadas para a identificação de bovinos PI, e analisado o impacto causado pela infecção nos índices zootécnicos neste rebanho.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em uma propriedade de criação extensiva de bovinos de corte predominantemente da raça Nelore, com área de 3.100 ha, localizada no município de Sidrolândia, MS. Nesta propriedade, dois bovinos (identificados como Bov.1 e Bov.2) apresentaram sinais clínicos e lesões compatíveis com DM. Estes bovinos foram encaminhados ao setor de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (FMEZ/UFMS) e acompanhados durante a evolução clínica da doença até o estágio terminal, quando foi realizada a necropsia e colhidos materiais para o diagnóstico laboratorial. Após a confirmação do diagnóstico, foi realizado um inquérito epidemiológico retrospectivo e prospectivo para avaliar os efeitos da presença dos bovinos PI na produtividade. A composição média do rebanho é de 1.100 fêmeas com mais de 36 meses, 400 fêmeas de 24-36 meses, 400 fêmeas de 12-24 meses, 950 fêmeas até 12 meses, 40 machos com mais de 36 meses (tousos), 300 machos de 12-24 meses e 850 machos até 12 meses. Os dados epidemiológicos e informações adicionais referentes ao índice de fertilidade e taxa de desmama da propriedade, nos últimos anos, foram obtidos com o proprietário, o Médico Veterinário e o administrador da fazenda.

Fragmentos de diferentes órgãos e tecidos, incluindo a orelha, pele, cérebro, língua, esôfago, pulmão, coração, baço, linfonodos mesentéricos, íleo, fígado e rins foram colhidos durante a necropsia e fixados em formol a 10% tamponado por 48 horas, incluídos em parafina, processados histologicamente e corados pela hematoxilina-eosina (HE). Parte desse material, já emblocado, foi processado para imunohistoquímica (IHQ) no

setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

A IHQ foi baseada na técnica descrita por Haines et al. (1992), utilizando-se um *kit* comercial (DAKO, USA) contendo um anticorpo secundário e um complexo de avidina conjugada com peroxidase, além do anticorpo monoclonal comercial anti-BVDV 15C5 (Syracuse, USA), que foi diluído em solução tampão fosfato na concentração de 1:500.

Amostras de sangue total foram coletadas dos animais durante a fase de manifestação dos sinais clínicos. Essas amostras foram encaminhadas para isolamento viral no Setor de Virologia da Universidade de Santa Maria (SV/UFMS). O isolamento viral foi realizado pela inoculação das capas flogísticas em células de cultivo (células de linhagem de rim fetal bovino, MDBK), livres de *pestivirus*. A replicação do vírus nas células inoculadas foi evidenciada pela detecção de proteínas virais por imunofluorescência indireta (IFA), utilizando um pool de anticorpos monoclonais anti-BVDV (Botton et al. 1998a) como anticorpo primário e um anticorpo anti-IgG de camundongo conjugado com fluoresceína como anticorpo secundário (Sigma, Saint Louis, MO). Após o diagnóstico virológico (isolamento positivo) da enfermidade no Bovino 1, coletou-se aleatoriamente sangue de 38 bovinos que tiveram contato com este animal, para a realização de testes sorológicos. Essas amostras foram submetidas a prova de soroneutralização (titulação) para BVDV no SV/UFMS. O teste de soroneutralização foi realizado em placas de poliestireno de 96 cavidades, utilizando-se diluições crescentes de soro contra doses constantes de vírus e células MDBK. A leitura dos testes foi realizada após 96h de incubação, pelo monitoramento do efeito citopático ou por imunofluorescência indireta (Botton et al. 1998b).

Para a identificação de possíveis bezerros PI, nascidos após os casos clínicos da DM, foram colhidas amostras de sangue de todos os bezerros nascidos no ano de 2005 e de todos os touros da propriedade. Estes, mais 212 vacas prenhes que chegaram na propriedade em 2003, haviam sido os únicos bovinos introduzidos no rebanho durante os anos de estudo. As amostras colhidas foram encaminhadas para o Setor de Doenças Infecciosas da FAMEZ/UFMS, onde foram processadas para separação do soro. As amostras de soro foram encaminhadas resfriadas para o SV/UFMS, para a realização de pesquisa de vírus por isolamento. Essas amostras foram submetidas ao isolamento e identificação viral, conforme descrito acima para o sangue total dos animais com DM. Fragmentos da extremidade da orelha dos bezerros que foram positivos para o isolamento de BVDV foram colhidos 45 dias após a realização do isolamento. Esse material foi fixado em formol tamponado a 10% e encaminhado para Setor de Patologia Veterinária da UFRGS para realização da IHQ. Com o objetivo de confirmar se os bezerros eram realmente PI, novos exames de isolamento viral e IHQ foram realizados 12 meses após.

Os índices de fertilidade, para um período de estação de monta de quatro meses, e a taxa de desmame, foram calculados utilizando as fórmulas abaixo (Zimmer & Euclides Filho 1997):

$$\text{Índice de fertilidade} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de fêmeas prenhes (60 dias pós-cobertura)}}{\text{n}^\circ \text{ de fêmeas colocadas em reprodução}} \times 100$$

$$\text{Taxa de desmame} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de bezerros desmamados}}{\text{n}^\circ \text{ de fêmeas colocadas em reprodução}} \times 100$$

As freqüências populacionais de vacas cobertas, prenhes e bezerros desmamados foram comparadas entre os anos agrícolas pelo teste do Qui-quadrado (χ^2), para tabelas de contingência. As diferenças entre freqüências, quando significativas, foram ajustadas pelo teste de Yates para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os casos de DM com dermatite generalizada severa ocorreram em dois bovinos da raça Nelore, um macho com idade de 24 meses (Bov.1) e uma fêmea com 12 meses (Bov.2), os quais estavam em lotes de aproximadamente 300 animais com idade de 12-24 meses. O Bovino 1 adoeceu em junho/2005 e o Bovino 2 em novembro do mesmo ano. Os dois animais estavam em lotes diferentes e não tinham contato entre si. A propriedade realiza programa de vacinação contra a febre aftosa, brucelose, clostridiose e botulismo. Vacina contra BVDV não era utilizada na propriedade até agosto de 2005, quando apenas um lote de bois, onde ocorreram casos de encefalite por herpesvírus tipo 5 (BoHV-5), foi imunizado com vacina multivalente que continha também antígenos de BVDV.

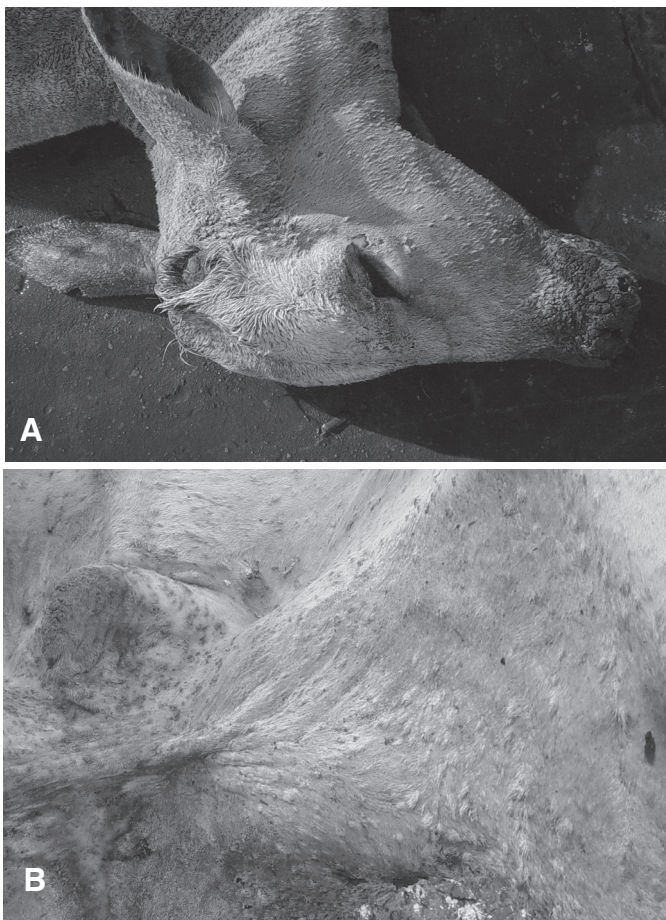


Fig.1. Bovino com sinais clínicos de doença das mucosas associada à dermatite (Bov.1). (A) Dermatite na cabeça e formação de projeções cornificadas em forma de papilas na junção da pele com o corno e crostas no focinho. (B) Dermatite na região inguinal e escrotal com crostas.

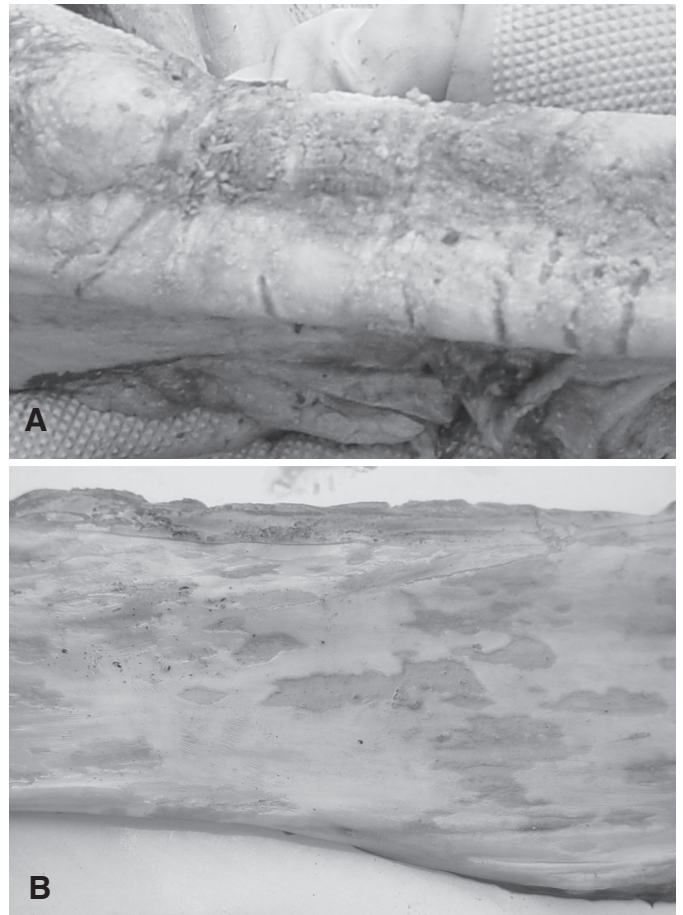


Fig.2. Achados de necropsia no trato digestivo em bovino com doença das mucosas associada à dermatite (Bov.1.). (A) Ulcerações que evoluíram para fendas longitudinais na língua. (B) Numerosas ulcerações longitudinais no esôfago.

Nos dois bovinos acometidos pela DM, os sinais clínicos eram semelhantes e se caracterizavam por dermatite generalizada (Fig.1), emagrecimento lento e progressivo e ulcerações recobertas por fibrina na face dorsal da língua e nas gengivas. Com a evolução do quadro clínico, as ulcerações assumiam a forma de fendas transversais (Fig.2A) com profundidade de até 0,5cm, estendendo-se por toda a superfície da língua. A dermatite era do tipo crostosa e afetava a pele ao redor do focinho (Fig.1A), da face interna das orelhas, da base dos cornos (Fig.1A), da banda coronária e do espaço interdigital (Fig.3). Na face interna das orelhas, as crostas eram circulares, com tendência a coalescência. Na banda coronária, a pele estava espessada, sem elasticidade, com perda de pêlos e rachaduras. O Bovino 2 apresentava rachadura no perióplio com desprendimento do estojo córneo do casco (Fig.3). Nos dois bovinos, as crostas ao redor do focinho, dos cornos e no espaço interdigital assumiam forma de papilas com aspecto e consistência semelhantes ao tecido córneo (Fig.1A e 3). Nas demais regiões do corpo a dermatite era do tipo exsudativa e se caracterizava pela formação de tufo de

pelos por todo o corpo (Fig.1B), sendo mais severa na região cervical, axilar e perineal. Exames laboratoriais não revelaram a presença de *Dermatophilus congolensis* e *Trichophyton* spp. A evolução do quadro clínico foi de 35 dias no Bovino 1 e de 45 dias no Bovino 2, o qual foi sacrificado no estágio terminal da doença.

Nos dois bovinos necropsiados (Bov.1 e Bov.2), além das lesões observadas ao exame clínico, percebia-se que as lesões ulcerativas na cavidade oral estendiam até a base da língua (Fig.2A), alcançavam a faringe e esôfago. Neste órgão havia múltiplas ulcerações longitudinais em toda a extensão da mucosa (Fig.2B).

O exame microscópico da pele do espaço interdigital, da banda coronária, do entorno do focinho e da junção do corno com a pele, revelou principalmente hiperqueratose moderada a acentuada. Na epiderme havia focos extensos de necrose de coagulação que alcançavam o limite da derme, onde se observava infiltrado moderado de linfócitos, predominantemente ao redor dos vasos. Nos fragmentos de pele das regiões cervical, axilar e perineal a dermatite era do tipo exsudativa e se caracterizava por necrose de coagulação dos estratos basal e espinhoso da epiderme associada a infiltrado inflamatório constituído predominantemente por neutrófilos, moderado a acentuado, e moderada paraqueratose (Fig.4A). As lesões na língua consistiam de hiperqueratose e necrose de coagulação focalmente extensiva na epiderme. Na submucosa havia acentuado infiltrado inflamatório constituído predominantemente por linfócitos e alguns neutrófilos (Fig.4B). No esôfago havia focos de necrose de coagulação associados a infiltrado inflamatório, predominantemente constituído por neutrófilos, que atingia toda a mucosa, alcançando o limite com a submucosa.

Nos dois casos, o diagnóstico foi confirmado em nível laboratorial, pelo isolamento de BVDV dos biótipos citopático e não-citopático concomitantemente, a partir do sangue total; e pela identificação de antígenos virais na



Fig.3. Bovino com sinais clínicos de doença das mucosas associada à dermatite (Bov.2). Formação de projeções cornificadas em forma de papilas no espaço interdigital, desprendimento dos cascos e crostas na pele.

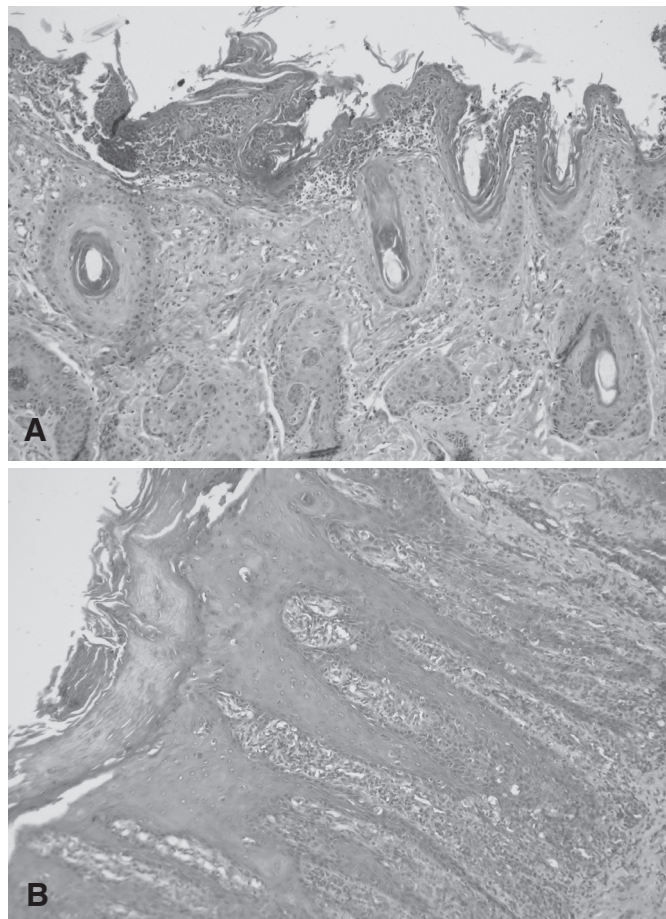


Fig.4. Histopatologia de bovino com doença das mucosas associada à dermatite. (A) Pele com hiperqueratose e pústulas intracorneais multifocais. HE, obj.20x. (B) Língua com hiperqueratose, áreas de ulceração e inflamação na submucosa. HE, obj.10x.

IHQ de fragmentos da extremidade da orelha, do esôfago, do linfonodo e do cérebro.

Os 38 bovinos assintomáticos que tiveram contato com o Bovino 1 na fase clínica, revelaram-se positivos no teste de soroneutralização, com títulos variáveis de anticorpos neutralizantes (Quadro 1). Dos touros adquiridos (40) e bezerros nascidos (1.025) após o diagnóstico de DM no rebanho, o vírus foi isolado de três bezerros machos de 6-7 meses. Em dois desses bezerros, a IHQ realizada 45 dias após a coleta do sangue para isolamento do vírus, inicialmente apresentou resultado negativo. Em novo exame realizado, 12 meses após, um desses bezerros foi positivo na IHQ e os dois foram positivos no isolamento viral. Os resultados do índice de fertilidade e da taxa de desmama deste rebanho estão demonstrados no Quadro 2. A proporção de vacas identificadas como prenhes, durante o diagnóstico de gestação no ano posterior ao nascimento dos bovinos com DM, foi significativamente menor ($p<0,001$) quando comparada com os anos agrícolas anteriores e posteriores. A taxa de desmama também foi significativamente ($p<0,001$) maior quando comparada com o ano agrí-

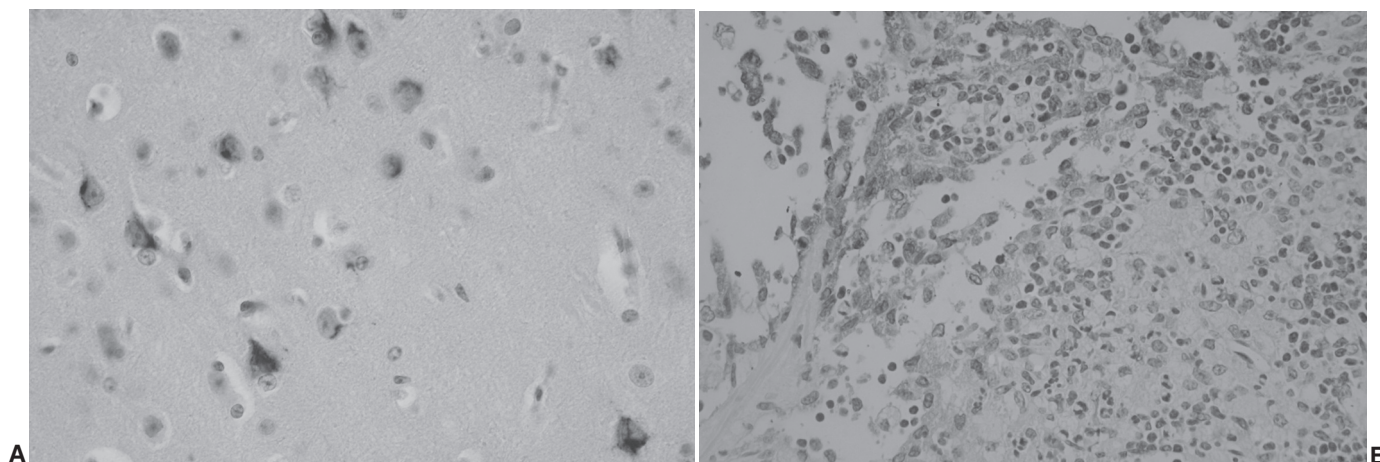


Fig.5. IHQ de bovino com doença das mucosas associada à dermatite. (A) Neurônios do córtex cerebral com marcação positiva acentuada pela IHQ para o BVDV. Streptavidina-Biotina Peroxidase, obj.40x. (B) Macrófagos em seios subcapsulares marcados positivamente para o BVDV. Streptavidina-Biotina Peroxidase, obj.40x.

Quadro 1. Títulos de anticorpos neutralizantes anti-BVDV em 10% dos animais, escolhidos aleatoriamente, de um lote no qual ocorreu o caso do Bov. 1 de doença das mucosas (DM)

Nº de Animais	Anticorpos neutralizantes (título)
10	160
8	80
7	20
6	40
3	10
2	> 320
2	5

Quadro 2. Índice de fertilidade e taxa de desmame dos animais de uma propriedade de criação extensiva de bovinos de corte, com média de 4000 cabeças, que realiza as atividades de cria, recria e engorda, localizada no município de Sidrolândia, Mato Grosso do Sul, na qual ocorreram dois casos de doença das mucosas

Ano agrícola	Vacas cobertas/prenhas	% ¹	Desmamados	% ²
02/03	1565/1190	76,0 ^A	1238	#
03/04	1787/1323	74,0 ^A	1218	68,1 ^B
04/05 ^â	1615/1087	67,3 ^B	1003	62,1 ^B
05/06	1338/1119	83,6 ^{AC}	1033	77,2 ^{BC}
06/07	1446/1191	82,4 ^{AC}	—	—

¹ $\chi^2 = 719,17$; GL = 4; $p < 0,0001$; ² $\chi^2 = 976,09$; GL = 4; $p < 0,0001$. Letras distintas entre linhas representam diferença significativa ($p < 0,001$).

* Estação de monta seguinte ao nascimento dos bezerras PI.

Como entraram no rebanho 212 vacas prenhas, não foi possível calcular corretamente a taxa de desmame.

cola posterior à desmama dos bovinos com DM.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de dermatite generalizada grave associada com doença das mucosas (DM) baseou-se no quadro clínico, nos achados de necropsia, nas lesões histológicas; foi confirmado pelo isolamento de BVDV dos biótipos

CP e NCP e pela detecção de antígenos de BVDV na IHQ, que são métodos de diagnóstico descritos na literatura (Grooms & Keilen 2002, Portgieter 2004, Flores et al. 2005, Schmitz 2006).

No presente relato, a dermatite exsudativa generalizada grave foi o principal sinal clínico observado, juntamente com as lesões ulcerativas na gengiva e língua. Embora a ocorrência de dermatite seja comum em casos crônicos de DM (Grooms et al. 2002, Potgieter 2004), e que antígenos de BVDV sejam frequentemente detectados em biopsias de pele de bovinos PI (Braum et al. 1996) confirmando o tropismo do vírus pelo epitélio, não foram encontradas descrições na literatura sobre a ocorrência de dermatite generalizada e acentuada como a observada no presente relato. As lesões de pele descritas em bovinos cronicamente afetados pela DM são localizadas e manifestam-se geralmente como áreas de alopecia e hiperqueratose ou eczema na região cervical e erosões crônicas no períneo, vulva e prepúcio, na junção entre a pele e o corno, espaço interdigital, na sola do casco e ao redor das pinças e dedos acessórios (Potgieter 2004). Além das lesões de pele, são observados sinais clínicos semelhantes aos casos agudos de DM, porém menos graves, como diarreia contínua ou intermitente e secreção oculonasal. No presente relato, a diarreia foi observada somente no estágio terminal da doença no Bovino 2, e não foi observada secreção oculonasal em qualquer dos bovinos estudados.

As lesões de pele e o curso clínico observados no presente estudo foram muito semelhantes aos descritos por Odeon et al. (2003), nos quais a dermatite foi a principal manifestação clínica e a morbidade foi de 4,1% a 10%. Ressalta-se que os casos descritos por esses autores não se tratavam de DM, e sim de infecção aguda por BVDV, e não apresentavam lesões na cavidade oral e esôfago. Nos surtos descritos por Odeon et al. (2003), antígenos de BVDV foram encontrados em áreas de dermatite exsudativa indicando o tropismo do vírus por células epiteliais. A dermatite caracterizou-se por lesões crostosas ao redor do focinho,

nas orelhas e pálpebras, e dermatite exsudativa generalizada mais acentuada nas axilas, períneo e virilha. O curso clínico foi de até 30 dias com letalidade variável, sendo em alguns casos superior a 30%. Esses autores consideram que as ocorrências de lesões de pele, na ausência de lesões do sistema digestivo, não são as manifestações típicas nem da infecção aguda por BVDV, nem da DM, sugerindo a existência de relação entre as lesões observadas e a virulência dos vírus isolados.

A evolução clínica de 35 (Bov.1) a 45 dias (Bov.2) observada nos dois bovinos deste surto pode ser considerada como a forma crônica de DM, pois na forma aguda a morte geralmente ocorre entre 3 e 10 dias (Grooms et al. 2002), podendo chegar a 21 dias (Potgieter 2004). Na forma crônica, a evolução pode ser de até 18 meses (Potgieter 2004). A idade dos bovinos afetados também está de acordo com o que é geralmente descrito para a DM (Grooms et al. 2002, Potgieter 2004).

A dermatite apresentada pelos bovinos no presente estudo foi mais acentuada e generalizada, diferindo de outro caso de DM crônica diagnosticada no estado de Mato Grosso do Sul em um bovino de 22 meses de idade (Oliveira 2003). Salienta-se que o mesmo também não apresentou diarreia e as lesões erosivas nas mucosas do trato digestivo estavam restritas ao esôfago. Esse bovino apresentou emagrecimento progressivo, erosão do espelho nasal e discreta dermatite exsudativa na região cervical. A evolução foi de 30 dias e o bovino foi sacrificado em fase terminal da doença (Oliveira 2003).

Um caso de DM foi descrito recentemente no Brasil em um bovino que apresentou enterite fibrinonecrótica, edema de serosa e necrose das placas de Peyer no intestino delgado e fissuras na mucosa do cólon proximal, mas não foram observadas lesões de pele (Schmitz 2006). As lesões orais e na mucosa do esôfago apresentadas pelos bovinos deste relato eram semelhantes às descritas para um caso de enfermidade gastrointestinal respiratória causada por BVDV tipo 2 biótipo NCP descrito no Rio Grande do Sul (Flores et al. 2000). Entretanto, no presente caso, as lesões de pele eram mais acentuadas e os demais sinais clínicos e achados de necropsia descritos por esses autores não estavam presentes. Outros relatos clínico-patológicos descrevem a ocorrência de enfermidade compatível com DM no Brasil (Flores & Schuch 2007), porém sem comprovação virológica e nenhum deles associado com dermatite generalizada.

Na necropsia dos dois bovinos deste relato, as lesões ulcerativas estavam restritas à cavidade oral e ao esôfago. Embora lesões graves em outras mucosas do trato digestivo caracterizadas por erosões e ulcerações nos pilares do rúmen, omaso, abomaso, intestino (placas de Peyer necróticas, hemorrágicas) e ceco são relatadas na DM (Grooms et al. 2002).

O isolamento do vírus do sangue total, dos dois bovinos, está de acordo com outros autores (Grooms et al. 2002, Radostits et al. 2002, Saliki & Dubovi 2004), que descrevem ser este o material de eleição para o diagnóstico por

isolamento. A imunistoquímica também demonstrou ser um eficiente meio de diagnóstico, o que já havia sido observado anteriormente (Grooms et al. 2002, Lertora et al. 2003, Schmitz 2006).

A detecção de infecção prévia através da soroneutralização em todos os bovinos testados, os quais correspondiam a 10% do total do lote exposto ao Bovino 1, confirma relatos anteriores de que bovinos em contato com animais PI apresentam altas taxas de infecção. Essas taxas podem atingir, em sistemas fechados de criação, mais de 90% dos bovinos expostos antes que eles completem 3-4 meses de idade (Houe et al. 1993). Dados semelhantes foram observados por outros autores (Moerman et al. 1993) que descrevem a soroconversão, num período de três meses, em todos os bovinos soronegativos que foram colocados em contato com animais PI.

Os títulos de anticorpos neutralizantes encontrados estiveram entre 5 e 320, diferindo do relatado por Frederiksen et al. (1999) que na infecção natural e experimental encontraram títulos de anticorpos neutralizantes contra o BVDV de 256 e 4096, que nunca foram menores que 64, inclusive três anos após a infecção. Entretanto é importante lembrar que diferentes cepas virais, células e protocolos podem ter sido utilizados na soroneutralização, dificultando as comparações (Flores et al. 2005). A grande variabilidade antigênica do vírus pode resultar em títulos neutralizantes muito variáveis, mesmo num único animal, quando o soro é testado contra diferentes vírus (Flores et al. 2005).

O isolamento do vírus, em três amostras de soro colhidas dos bezerros nascidos no ano da ocorrência da doença das mucosas demonstra que esta metodologia pode ser utilizada para a identificação de bovinos PI. Entretanto, é necessário um novo teste após 3-4 semanas para concluir se o bovino é mesmo PI ou se trata de infecção aguda (Sandvik 1999). No presente caso, a confirmação não foi possível em um dos bovinos, pois o proprietário vendeu esse animal antes da realização de novo teste. Nos outros dois bezerros, a presença do vírus não foi confirmada pela IHQ realizada em biópsia de orelha, 45 dias após a realização do isolamento. Na nova coleta, 12 meses após, um bezerro foi positivo na IHQ e os dois foram novamente positivos no isolamento viral, evidenciando que os dois bezerros eram PI. Variações nos resultados são descritas entre laboratórios e entre métodos de diagnóstico (Edmondson et al. 2007, Hilbe et al. 2007). O RT-PCR, também pode ser utilizado como método de diagnóstico para detecção de bovinos PI (Pilz et al. 2007).

Os índices de fertilidade e as taxas de desmame relatados na propriedade variaram, analisando-se anos anteriores e posteriores ao aparecimento dos casos de DM, ou seja, do contato de bovinos da propriedade com animais PI. Esses dados foram analisados estatisticamente e os resultados mostram que no ano agrícola 2005/2006, posterior ao aparecimento da doença das mucosas na propriedade, apesar das condições climáticas adversas (baixa precipitação pluviométrica), observou-se uma melhora sig-

nificativa ($p < 0,001$) no índice de fertilidade e na taxa de desmame, mesmo sem a adoção de qualquer medida específica para o controle da infecção pelo BVDV. O manejo sanitário, reprodutivo e nutricional da propriedade não foi alterado. É possível que o retorno aos índices zootécnicos se deva à imunidade natural adquirida pelos bovinos à infecção por BVDV. Como na propriedade estudada a criação é extensiva não foi possível identificar abortos e nem malformações. Os dados apresentados neste relato demonstram a presença da infecção e a ocorrência de casos clínico-patológicos causados por BVDV em bovinos de corte criados extensivamente no estado de Mato Grosso do Sul. Ressalta-se a ocorrência de dermatite generalizada observada nos dois casos, quadro que não é comumente descrito na maioria dos casos de DM, evidenciando a necessidade da inclusão dessa enfermidade no diagnóstico diferencial de causas de dermatites generalizadas.

Agradecimentos.- À Escola de Qualificação Rural da UFMS (Equali) pelo apoio incondicional na realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Botton S.A., Gil L.H.G., Silva A.M., Flores E.F., Weiblen R., Pituco M.E., Roehe P.M., Moojen V. & Wendelstein A.C. 1998a. Caracterização preliminar de amostras do vírus da diarreia viral bovina (BVDV) isoladas no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 18:84-92.
- Botton S.A., Silva A.M., Brum M.C.S., Weiblen R. & Flores E.F. 1998b. Antigenic characterization of Brazilian isolates of bovine diarrhoea virus (BVDV) with monoclonal antibodies and by cross-neutralization. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 31:1429-1438.
- Braun U., Thur B., Weiss M. & Giger T. 1996. Bovine virus diarrhoea/mucosal disease in cattle: clinical findings in 103 calves and cattle. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 138:465-475.
- Dubovi E.J. 1992. Genetic diversity and BVDV virus. *Comp. Immun. Microb. Infect. Dis.* 15(3):155-165.
- Edmondson M.A., Givens M.D., Walz P.H., Gard J.A., Stringfellow D.A. & Carson R.L. 2007. Comparison of test detection of bovine viral diarrhoea virus in diagnostic samples. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19(4):376-81.
- Flores E.F., Gil L.H.V., Botton S.A., Weiblen R., Ridpath J.L., Kreutz L.C., Pilati C., Driemeier D., Moojen V. & Wendelstein A.C. 2000. Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. *Vet. Microbiol.* 77:175-183.
- Flores E.F., Weiblen R., Vogel F.S.F., Roehe P.M., Alfieri A.A. & Pituco E.M. 2005. A infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. *Pesq. Vet. Bras.* 25(3):125-134.
- Flores E.F. & Schuch L.F.D. 2007. Diarreia viral bovina, p.81-93. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (ed.), *Doença de Ruminantes e Equídeos*. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria.
- Fredriksen B., Sandick T., Loken T. & Odegaard S.A. 1999. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with Bovine Virus Diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 144(5):111-114.
- Grooms D.L. & Keilen E.D. 2002. Screening of neonatal calves for persistent infection with bovine viral diarrhoea virus by immunohistochemistry on skin biopsy samples. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9(4):898-900.
- Grooms D.L., Baker J.C. & Ames T.R. 2002. Diseases caused by bovine virus diarrhoea virus, p.707-714. In: Smith B.P. (ed.), *Large Animal Internal Medicine: diseases of horses, cattle, sheep, and goats*. 3rd ed. Mosby, St Louis, MO.
- Grooms D.L. 2004. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20(1):5-19.
- Haines D.M., Clark E.J. & Dubovi E.J. 1992. Monoclonal antibody-based immunohistochemistry detection of bovine viral diarrhoea virus formalin-fixed, paraffin embedded tissues. *Vet. Pathol.* 29(1):27-32.
- Hilbe M., Stalder H., Peterhans E., Haessig M., Nussbaumer M., Egli C., Schelp C., Zlinszky K. & Ehrensperger F. 2007. Comparison of five diagnostic methods for detecting bovine viral diarrhoea virus infection in calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19(1):28-34.
- Houe H., Pedersen K.M. & Meyling A. 1993. The effect of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infection on conception rate. *Prev. Vet. Med.* 15:117-123.
- Lertora J., Paredes E., Reinhardt G. & Alberdi A. 2003. Inmunohistoquímica en biopsias de piel tratadas con proteína K y microondas para el diagnóstico en animales persistentemente infectados con el virus diarreia viral bovina. *Arch. Med. Vet.* 35(1):23-36.
- Meyers G., Tautz N. & Stark R. 1992. Rearrangement of viral sequences in cytopathogenic pestiviruses. *Virology* 191:368-376.
- Meyers G., Tautz N., Becher P., Thiel H.J. & Kümmerer B.M. 1996. Recovery of cytopathogenic and noncytopathogenic bovine viral diarrhoea from cDNA constructs. *J. Virol.* 70:8606-8613.
- Moerman A., Straver P.J., Dejong M.C.M., Quak J., Baanvinger T. & Van Oirschot J.T. 1993. A long term epidemiological study of bovine viral diarrhoea infections in a large herd of dairy cattle. *Vet. Rec.* 132:622-626.
- Odeon A.C., Risatti G., Kaiser G.G., Leunda M.R., Odriozola E., Campero C.M. & Donis R.O. 2003. Bovine viral diarrhoea virus genomic associations in mucosal disease, enteritis and generalized dermatitis outbreaks in Argentina. *Vet. Microbiol.* 96(2):133-44.
- Oliveira V.A. 2003. Comunicação pessoal (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UFMS, Campo Grande. E-mail: valdemiralves@nin.ufms.br).
- Pellerin C., Van Den Hurk J. & Lecomte J. 1994. Identification of a new group of bovine viral diarrhoea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities. *Virology* 203:260-267.
- Pilz D., Alfieri A.F., Lunardi M. & Alfieri A.A. 2007. RT-PCR em pools de soros sanguíneos para diagnóstico da infecção aguda e de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59(1):1-7.
- Potgieter L.N.D. 2004. Bovine viral diarrhoea and mucosal disease, p.946-969. In: Coetzer J.A.W. & Tustin R.C. (ed.), *Infectious Diseases of Livestock in Southern Africa*. Vol.2. 2nd ed. Oxford University Press, Cape Town.
- Radostits O.M., Gay C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. Diarreia viral bovina, doença das mucosas, complexo doença pestivirus bovino, p.974-993. In: ____ (ed.), *Clínica Veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 9ª ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Ridpath J.F., Bolin S.R. & Dubovi E.J. 1994. Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes. *Virology* 205:66-74.
- Sandvick T. 1999. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Vet. Microbiol.* 64:123-134.
- Saliki J.T. & Dubovi E.J. 2004. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.* 20:69-83.
- Schmitz M. 2006. Caracterização patológica e imunoistoquímica da infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Porto Alegre. 59p.
- Steven R.B. & Grooms D.L. 2004. Origination and consequences of Bovine Viral Diarrhoea Virus diversity. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20(1):51-68.
- Wolfmeyer A., Wolf G. & Beer M. 1997. Genomic (5'UTR) and serological differences among German BVDV field isolates. *Arch. Virol.* 142:2049-2057.
- Zimmer A.H. & Euclides Filho K. 1997. As pastagens e a pecuária de corte brasileira. *Anais do Simpósio Internacional sobre Produção Animal em Pastejo*, UFV, Viçosa, p.349-379.