

EVOLUÇÃO SOROLÓGICA DA LEUCOSE ENZOÔTICA BOVINA EM REBANHOS
DO MUNICÍPIO DE SANTA MARIA/RS*

Serologic Evolution Against Bovine Leukosis Virus in Dairy
Herds of Santa Maria/RS

Eduardo Furtado Flores**, Rudi Weiblen***, Neite Machado Pereira****,
Jorge Augusto Brittes Portolann*****, Paulo Cesar Romero de Lima*****
e Lourdes Medina Hernandez*****

RESUMO

Com o objetivo de determinar a evolução sorológica da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos do município de Santa Maria, RS, foram realizadas duas coletas de soro com intervalos de 6 a 12 meses. As amostras foram coletadas de 190 vacas leiteiras em 15 propriedades e testadas pela técnica da imunodifusão em ágar, com antígeno glicoproteico. No intervalo entre as coletas, 9 propriedades tiveram um acréscimo no número de animais positivos, três mantiveram os mesmos animais positivos e outros três tornaram-se negativos pelo descarte dos animais reagentes. O número total de animais identificados como positivos aumentou de 45 para 56 durante esse período.

UNITERMOS: Leucose bovina, anticorpos, evolução.*

* Trabalho realizado com o apoio financeiro do fundo de incentivo à Pesquisa, FIPE e CNPq.

** Médico Veterinário, Aluno do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria. 97.119 Santa Maria, RS. Bolsista do CNPq.

*** Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria, RS. 97.119 Santa Maria, RS. Pesquisador do CNPq.

**** Médico Veterinário, bolsa de aperfeiçoamento do CNPq.

***** Aluno do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, bolsa de iniciação científica do CNPq.

***** Médico Veterinário.

SUMMARY

With the objective to determine the serologic evolution of Bovine Enzootic Leukosis in Santa Maria, RS dairy herds, serum samples were collected twice with a 6 - 12 months interval. The agar immunodiffusion test with glicoprotein antigen was used to test serum samples from 190 dairy cows in 15 herds. Nine herds had an increase of positive cows, three maintained the same number of positive cows. The total number of serologic positive cows increased from 45 to 56 during this period.

KEY WORDS: bovine leukosis, antibody, evolution.

INTRODUÇÃO

A Leucose Enzoótica Bovina é uma enfermidade neoplásica comum de bovinos, que ocorre principalmente em gado leiteiro e que afeta sobretudo animais adultos (SORENSEN, 25). A sua etiologia tem sido atribuída a um agente viral (MILLER et alii, 15), chamado de vírus da Leucose Bovina (VLB) provavelmente associado a uma predisposição genética (MARSHAK et alii, 14). A infecção pelo VLB é na maioria das vezes inaparente (KAHRS, 11). Em torno de 30% dos animais infectados desenvolve uma linfocitose persistente de caráter benigno, enquanto a ocorrência de linfossarcoma raramente excede a 5% dos animais (FERRER, 7, MARSHAK et alii, 14). Essas duas condições, essencialmente distintas quanto aos aspectos clínicos e de malignidade são denominadas conjuntamente de Leucose Enzoótica Bovina (MARSHAK et alii, 14).

Uma vez infectados, os bovinos permanecem portadores e são fontes de eliminação do vírus por toda a sua vida (VAN DER MAATEN, 27). A transmissão do VLB ocorre principalmente horizontalmente por contato entre animais adultos, embora a transmissão transplacentária aos fetos possa ocorrer em um pequeno número de casos (PIPER et alii, 21). A grande maioria dos animais adquire a infecção a partir dos dois anos de idade, quando por questões de manejo, passam a conviver com os animais adultos infectados (FERRER, 7; OLSON, 20).

Como o VLB infecta exclusivamente linfócitos "in vivo" e usualmente não produz partículas víricas livres, a sua transmissão parece envolver obrigatoriamente a transferência de linfócitos infectados (MILLER & VAN DER MAATEN, 17; ROBERTS et alii, 23). Por isso, o sangue contaminado tem sido considerado o principal meio de transmissão da infecção (BUXTON et alii, 4; EVERMANN et alii, 6; FERRER, 7; LUCAS et alii, 13). Estudos conduzidos por EVERMANN et alii (6) demonstraram que

pequenos volumes de sangue contaminado (0,001ml) quando inoculados pelas vias intramuscular, subcutânea, endovenosa ou intradérmica em bovinos são suficientes para produzir a infecção.

A difusão da infecção é notadamente mais rápida em regiões ou em épocas de grande incidência de insetos hematófagos, o que sugere a importância desses insetos na transmissão do VLB (BECH-NIELSEN et alii, 2). A utilização de agulhas hipodérmicas e material cirúrgico contaminados parece desempenhar um importante papel na epidemiologia da infecção (EVERMANN et alii, 6). A transmissão através de técnicas como descórneo (DIGIACOMO et alii, 4), colocação de brincos (LUCAS et alii, 13) e palpação retal para diagnóstico de gestação (HOPKINS et alii, 10) tem sido demonstrada experimentalmente e pode contribuir para a difusão da infecção entre animais de um mesmo rebanho. Essas observações indicam que o VLB possui uma alta infectividade quando introduzido através da pele e mucosas, podendo ser inoculado acidentalmente por vários procedimentos cirúrgicos e terapêuticos (LUCAS et alii, 13). Por outro lado, a transmissão através do contato de mucosas com secreções nasais como saliva e urina parece desempenhar um papel secundário na epidemiologia da infecção (MILLER & VAN DER MAATEN, 17). A inseminação artificial com sêmen de touros soropositivos (MONKE, 19), assim como a transferência de embriões (DIGIACOMO et alii, 5) parecem não oferecer maiores riscos de transmissão do VLB.

A infecção pelo VLB está distribuída mundialmente e a sua prevalência varia muito entre os rebanhos (KAHRS, 11). Acredita-se que em torno de 20% do rebanho leiteiro adulto e 10% do gado de corte dos Estados Unidos seja portador do vírus da Leucose Bovina (BAUMGARTENER et alii, 1; FERRER, 7).

Vários estudos sorológicos demonstram que a infecção pelo VLB está amplamente distribuída nos rebanhos bovinos de diversos estados do Brasil (FLORES et alii, 8; GOMES et alii, 9; KANTEK et alii, 12; MODENA et alii, 18; ROMERO & ROWE, 24). A enfermidade foi introduzida no Brasil provavelmente através da importação de animais infectados, em uma época anterior à identificação do agente etiológico e ao desenvolvimento de técnicas eficazes para a detecção desses animais (RIBEIRO, 22).

ROMERO & ROWE (24) sugeriram que a importação de animais infectados, assim como as medidas de premunicação contra *Anaplasma* e *Babesia* contribuíram decisivamente para a introdução e difusão da infecção pelo VLB em nosso país. Nesse sentido, FLORES et alii (8), estudando a prevalência da infecção no rebanho leiteiro de Santa Maria, RS, verificaram que a maior parte das propriedades infectadas possuía ou já tinha

possuindo animais importados ou provenientes de áreas indenes ao carrapato, tendo então sido submetidos à premunicação.

Como virtualmente todos os bovinos infectados desenvolvem anticorpos (PIPER et alii, 21) e permanecem portadores por um tempo indeterminado (VAN DER MAATEN, 27), a detecção desses anticorpos através de técnicas sorológicas é considerada como evidência da infecção (FERRER, 7). A técnica da imunodifusão em gel de ágar (IDGA) com antígeno glicoproteico (MILLER & VAN DER MAATEN, 16) é a prova mais utilizada em todo o mundo no diagnóstico da infecção pelo VLB, tendo sido adotada como teste oficial por órgãos sanitários de vários países (MONKE, 19).

O objetivo do presente trabalho foi estudar a evolução sorológica em alguns rebanhos infectados pelo vírus da Leucose Bovina no município de Santa Maria, RS, procurando relacionar essa evolução aos fatores epidemiológicos envolvidos.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento utilizou o soro de 190 vacas leiteiras pertencentes a 15 propriedades identificadas como positivas para o vírus da Leucose Enzoótica Bovina (VLB) em um inquérito sorológico realizado previamente (FLORES et alii, 8).

As amostras de sangue para a sorologia foram coletadas em duas etapas em cada propriedade, com intervalos que variam de 6 a 12 meses. Por ocasião da segunda coleta foram considerados apenas os animais que já haviam sido coletados na primeira vez, excluindo aqueles anexados ao rebanho durante o intervalo de coletas.

O sangue foi obtido por punção da veia jugular e acondicionado em frascos de vidro identificados. Após a retração do coágulo, o soro foi retirado e enviado ao laboratório de virologia da UFSM, onde foi conservado a -18°C até ser processado.

As amostras de soro foram submetidas à prova de imunodifusão em ágar, para a detecção de anticorpos contra a glicoproteína maior do VLB (gp 51) (MILLER & VAN DER MAATEN, 16), com algumas modificações descritas por FLORES et alii (8). O antígeno foi cedido pela EMBRAPA/CNPISA/Concórdia, SC e o soro-controle positivo foi obtido de um animal identificado como positivo para o vírus da Leucose Bovina.

RESULTADOS

Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 1.

TABELA 1. Evolução sorológica da Leucose Enzoótica Bovina, através da prova de imunodifusão em ágar, em rebanhos do município de Santa Maria, RS.

Rebanho	Número de Animais	1ª Coleta		2ª coleta		Intervalo (meses)
		pos.	neg.	pos.	neg.	
A	21	17	4	20	1	10
B	12	7	5	8	4	6
C	6	4	2	5	1	8
D	19	2	17	5	14	9
E	10	2	8	4	6	12
F	5	2	3	4	1	9
G	13	1	12	2	11	9
H	10	1	9	2	8	12
I	12	1	11	2	10	8
J	18	1	17	1	17	9
K	14	1	13	1	13	10
L	18	2	16	2	16	9
M	10	2	8	-*	8	10
N	14	1	13	-	13	11
O	8	1	7	-	7	11
T O T A L	190	45	135	56	130	

* Propriedades que descartaram os animais identificados como positivos

Os resultados dos testes de imunodifusão em ágar com as amostras coletadas nas duas oportunidades indicam que houve um acréscimo do número de animais reagentes em 9 rebanhos (A, B, C, D, E, F, G, H, e I), a manutenção dos mesmos animais positivos em 3 propriedades (J, K e L) e 3 rebanhos (M, N, O) que possuíam animais reagentes na primeira coleta tornaram-se negativos por ocasião da segunda coleta. Na propriedade A, o número de animais positivos entre as duas coletas aumentou de 17 para 20; na propriedade B de 7 para 8; na C de 4 para 5; D de 2 para 5; na E de 2 para 4; na F de 2 para 4; e nas propriedades H e I o número de animais sorologicamente positivos aumentou o de 1 para 2. As propriedades J e K mantiveram um único animal positivo entre as coletas, enquanto o rebanho L continuou com 2 animais reagentes. A propriedade

M que apresentou 2 animais positivos na primeira coleta e os rebanhos N e Q com um animal reagente cada tornaram-se negativas devido ao descarte dos animais positivos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A análise dos resultados permite a evidência de diferentes comportamentos da infecção nos rebanhos estudados. As diferentes taxas de difusão parecem ser devido a diversidade dos fatores epidemiológicos presentes em cada propriedade. Apesar dessa diversidade e da ampla variação dos níveis zootécnico e de tecnificação, os rebanhos estudados apresentaram como característica comum a presença de animais importados ou provenientes de áreas indenes ao carrapato, fato já referido por FLORES et alii (8). Nesse sentido, ROMERO & ROWE (24) consideraram também a importação de animais infectados e a premunicação contra *Anaplasma* e *Babesia* como importantes meios de introdução e disseminação da infecção no Brasil.

Os animais soropositivos, que segundo VAN DER MAATEN (27) são fontes permanentes de eliminação do vírus, uma vez introduzidos nos rebanhos representam o ponto inicial para a difusão da infecção. A velocidade de disseminação dentro de um rebanho parece estar diretamente relacionada com o número de animais soropositivos e a interação dos fatores epidemiológicos presentes.

As propriedades que apresentaram uma maior difusão foram aquelas com um nível de tecnificação mais avançado. Nessas propriedades, há a interação de diversos fatores que interferem positivamente na disseminação da infecção, incluindo a presença de vários animais infectados, grande rodízio (compra e venda) de animais, criação em sistema semi-confinado e o uso rotineiro de práticas como vacinações, everminações e outras medidas terapêuticas; pequenas cirurgias, amochamento, colocação de brinco e palpação retal para diagnóstico de gestação. Esses procedimentos, segundo EVERMANN et alii (6), DIGIACOMO et alii (4), LUCAS et alii (13) e HOPKINS et alii (10) parecem desempenhar um importante papel na transmissão da infecção entre os animais de um mesmo rebanho. Além disso, o sistema de criação em semi-confinamento proporciona um contato estreito entre os animais, favorecendo a disseminação do agente.

Em determinadas propriedades houve o acréscimo de um dos dois animais positivos ou a manutenção dos mesmos. Essa difusão lenta parece

ser devida à presença de poucos (um ou dois) animais infectados associada às condições semi-extensivas de criação. A não utilização rotineira de práticas apontadas como responsáveis pela transmissão do vírus contribui para essa disseminação lenta ou nula.

A eliminação dos animais positivos mostrou-se efetiva no controle da infecção em alguns rebanhos. A eliminação desses animais, associada ao sistema semi-extensivo de criação e à ausência de práticas de manejo e terapêuticas responsáveis pela difusão do VLB, tornou algumas propriedades negativas por ocasião da segunda coleta de material para sorologia.

A baixa incidência de insetos hematófagos na região e as condições semi-extensivas com pouca tecnificação parecem ter contribuído para a difusão lenta da infecção na maioria dos rebanhos. Nesse sentido BECH-NIELSEN (2) verificou que a presença maciça desses insetos aliada às condições de confinamento acelera sobremaneira a disseminação da infecção dentro dos rebanhos. A transmissão do VLB por insetos hematófagos, considera de grande importância na epidemiologia da infecção em regiões tropicais, parece desempenhar um papel secundário na difusão desse agente na região estudada.

A identificação e eliminação dos animais sorologicamente positivos mostrou ser um método eficaz no controle da infecção em rebanhos com poucos animais infectados. Esse método, aliado às medidas de controle envolvendo os fatores responsáveis pela transmissão, do agente, pode ser utilizado na tentativa de controlar ou erradicar a enfermidade de propriedades com níveis maiores de infecção.

LITERATURA CITADA

01. BAUMGARTENER, L.E.; OLSON, C.; MILLER, J.M. & VAN DER MAATEN, M.J. Survey for antibodies to leukemia (C-type) virus in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 165:249-51, 1975.
02. BECH-NIELSEN, S.; PIPER, C.E. & FERRER, J.F. Natural mode of transmission of the bovine leukemia virus: Role of bloodsucking insects. *Am. J. Vet. Res.*, 39:1089-92, 1978.
03. BUXTON, B.A.; HINKLE, N.C. & SCHULTZ, R.D. Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: Potential for transmission by stable flies horn flies and tabanids. *Am. J. Vet. Res.*, 46(1):123-6, 1985.
04. DIGIACOMO, R.F.; DARLINGTON, R.L. & EVERMANN, J.F. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy calves by dehorning. *Can. J. Comp. Med.*, 49(3):340-2, 1985.
05. DIGIACOMO, R.F.; STUDER, E. & EVERMANN, J.F. Embryo transfer and transmission of bovine leukosis virus in a dairy herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 188(8):827-8, 1986.

06. EVERMANN, J.F.; DIGIACOMO, R.F.; FERRER, J.F. & PARISH, S.M. Transmission of bovine leukosis virus by blood inoculation. *Am. J. Vet. Res. Assoc.*, 47:1885-7, 1986.
07. FERRER, J.F. Bovine Leukosis: Natural mode of transmission and principles of control. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 175(12):1281-6, 1979.
08. FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; PEREIRA, N.M.; PORTOLANN, J.A.B. & CHIELLE, L.L. Prevalência de anticorpos contra o vírus da leucose Bovina (VLB) no rebanho leiteiro de Santa Maria, RS. *Rev. Centro de Ciências Rurais, Santa Maria*, 18(1):67-73, 1988.
09. GOMES, M.; MOOJEN, V.; FERNANDES, J.C.T. & FERREIRO, L. Detecção de anticorpos séricos contra o vírus da Leucose Enzoótica Bovina (VLEB) em Bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. *Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre*, 13:15-22, 1985.
10. HOPKINS, S.G.; EVERMANN, J.F.; DIGIACOMO, R.F.; PARISH, S.M. FERRER, J.F.; SMITH, S. & BANGERT, R.L. Experimental transmission of bovine leukosis virus by simulated rectal palpation. *Vet. Rec.*, 122:389-91, 1988.
11. KAHRS, R.F. Bovine leukaemia virus. In: KAHRS, R.F. *Viral Diseases of cattle*. Iowa, Iowa State University. 1981, p.79-88.
12. KANTEK, C.E.; KRUGER, E.R. & WELTE, J.R. Prevalência do vírus da leucose enzoótica bovina no rebanho leiteiro do Paraná. *Pesq. Vet. Bras.*, 3(4):110-2, 1983.
13. LUCAS, M.H.; ROBERTS, D.H. & WIBBERLEY, G. Ear tattooing as a method of spread of bovine leukosis virus infection. *Br. Vet. J.*, 141: 647-52, 1985.
14. MARSHAK, R.R.; ABT, D.A. & FERRER, J.F. Hematology in the diagnosis of bovine leukosis. In: BOVINE LEUKOSIS SYMPOSIUM. Maryland, May 22nd-23rd, *Proceedings...* College Park, USA, 1979. p.67-75.
15. MILLER, J.M.; MILLER, L.D.; OLSON, C. & GILLETTE, K.G. Virus-like particles in Phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 43:1297-305, 1969.
16. MILLER, J.M. & VAN DER MAATEN, M.J. Use of glicoprotein antigen in the immunodiffusion test for bovine leukemia virus antibodies. *Eur. J. Cancer*, 13:1369-77, 1977.
17. MILLER, J.M. & VAN DER MAATEN, M.J. Infectivity tests of secretions and excretions from cattle infected with bovine leukemia virus. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 62(2):425-8, 1979.
18. MODENA, C.M.; GOUVEIA, A.M.G.; DE AZEVEDO, N.A.; DA SILVA, J.A.; VIANA, F.C. & REHFELD, O.A.M. Leucose Enzoótica Bovina: I - Prevalência em rebanhos de alta linhagem no Estado de Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 36(1):39-45, 1984.
19. MONKE, D.R. Noninfectivity of semen from bulls infected with bovine leukosis virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 188:823-6, 1986.
20. OLSON, C. Bovine lymphosarcoma (leukemia): a synopsis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 165:630-4, 1974.
21. PIPER, C.C.; FERRER, J.F.; ABT, D.A. & MARSHAK, R.R. Postnatal and prenatal transmission of the bovine leukemia virus under natural conditions. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 62:165-8, 1979.

22. RIBEIRO, A.G.P. *Estudos hematológicos, sorológicos e citoquímicos em animais reagentes e não reagentes para leucose bovina*. Itaguaí, RJ, UFRRJ, 1986. 145p. (Tese de Mestrado)
23. ROBERTS, D.H.; LUCAS, M.H.; WIBBERLEY, G. & CHASEY, D. An investigation into the susceptibility of cattle to bovine leukosis virus following inoculation by various routes. *Vet. Rec.*, 110: 222-4, 1982.
24. ROMERO, C.H. & ROWE, C.A. Enzootic bovine leukosis in Brasil. *Trop. Anim. Health. Prod.*, 13:107-11, 1981.
25. SORESENSEN, D.K. Clinical manifestations of bovine leukosis. In: BOVINE LEUKOSIS SYMPOSIUM, Maryland, May 22nd-23rd. *Proceedings...* College Park, USA, 1979. p.5-15.
26. VAN DER MAATEN, M.J. & MILLER, J.M. Susceptibility of cattle to bovine leukemia virus infection by various routes of exposure. *Advances in comparative leukemia research*. Amsterdam. Elsevier/North Holland, USA, 1977. p.118-23.
27. VAN DER MAATEN, M.J. Characteristics of bovine leukemia virus and its tumor inducing activity. In: BOVINE LEUKOSIS SYMPOSIUM, Maryland, May 22nd-23rd. *Proceedings...* College Park, USA, 1979. p.119-33.