

OCORRÊNCIA DA INFECÇÃO CAUSADA PELO VÍRUS DA LEUCOSE BOVINA NO ESTADO DE SÃO PAULO

EDUARDO HARRY BIRGEL

Professor Titular

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

JOSÉ LUIZ D'ANGELINO

Professor Assistente Doutor

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

MAURÍCIO GARCIA

Professor Assistente

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

FERNANDO JOSÉ BENESI

Professor Assistente Doutor

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

MARIA AMÉLIA ZOGNO

Biologista

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; GARCIA, M.; BENESI, F.J.; ZOGNO, M.A. Ocorrência da infecção causada pelos vírus da leucose bovina no Estado de São Paulo. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v.28, n.1, p.67-73, 1991.

RESUMO: Descreve-se a ocorrência da infecção pelo vírus da Leucose Bovina (VLB) em animais pertencentes a rebanhos leiteiros, criados no Estado de São Paulo. Examinaram-se, no período de 1986-1989, 2.708 amostras de soro sangüíneo, das quais 1.162 (42,9%) eram reagentes aos antígenos glicoprotéicos (gp 51) do VLB, utilizando-se como prova padrão a imunodifusão dupla de Ouchterloney em placas de gel de ágar. Comprovou-se a existência de bovinos soro-reagentes aos antígenos do vírus da Leucose Bovina nos 22 municípios paulistas, onde eram criados os rebanhos que serviram de base a esta pesquisa.

UNTERMOS: Leucose, bovinos; São Paulo-SP

INTRODUÇÃO

A Leucose Enzoótica dos Bovinos (LEB) é uma doença conhecida há muito tempo, pois, na literatura compulsada, está referido seu surgimento no leste da Europa, ao final do século XIX (LEISERING¹⁵, 1861; HOULDER¹⁴, 1869; SIEDAMGROTZKY²⁴, 1876). A grande movimentação de animais observada nas migrações pós-guerras, principalmente após a Segunda Guerra Mundial, permitiu que a doença se disseminasse por toda Europa para, em seguida, espalhar-se a todos os continentes do planeta. Alguns países, como a Alemanha Ocidental e a Dinamarca, instituíram precocemente programas de controle desta enfermidade, baseados no exame hematológico periódico de seus rebanhos, empregando as chaves hematológicas clássicas de GOTZE et al.¹³ (1954); BENDIXEN⁴ (1961); TOLLE²⁵ (1965). Graças a estes programas epidemiológicos, os mencionados países encontram-se numa situação privilegiada dentro do contexto mundial (CRESPEAU⁹, 1977; FLENSBURG¹¹, 1977).

O isolamento do vírus em 1969, por MILLER et al.¹⁹ permitiu o desenvolvimento de técnicas sorológicas para o diagnóstico da infecção, como a imunodifusão dupla de Ouchterloney em gel de ágar, utilizando o antígeno da cápsula do vírus da Leucose Bovina (gp 51), descrita por MILLER; VAN DER MAATEN²⁰ (1977) e, atualmente, empregada nos programas de controle da Leucose em vários países.

No Brasil existe a citação da ocorrência de linfossarcomas desde 1943 (RANGEL; MACHADO²²). A doença já foi descrita no Rio Grande do Sul (MERKT et al.¹⁸, 1959), Paraná (DINIZ et al.¹⁰, 1980), São Paulo (MACHADO et al.¹⁷, 1963), Rio de Janeiro (SANTOS et al.²³, 1959), Minas Gerais (RANGEL; MACHADO²², 1943), Pernambuco (CAVALCANTE et al.⁸, 1969), Piauí (PASSOS et al.²¹, 1986) e Mato Grosso do Sul (ABDO et al.¹, 1986). No Estado de São Paulo já foram realizados alguns levantamentos sorológicos da Leucose Enzoótica dos Bovinos através da prova de imunodifusão (IDLB). Assim, ALENCAR FILHO² (1978) encontrou 60% de soros reagentes em 64 amostras testadas, ALENCAR FILHO et al.³ (1979) encontraram 35,6% em 1.374 amostras, LIMA et al.¹⁶ (1980) encontraram 33,0% em 141 amostras, BIRGEL et al.⁵ (1983) encontraram 53,8% em 443 amostras e BIRGEL et al.^{6,7} (1988) encontraram 52,6% em 705 amostras.

Apesar das inúmeras citações da ocorrência desta insidiosa doença no Brasil, não existe até o momento nenhum programa oficial de controle da Leucose Enzoótica dos Bovinos. Além disso, o antígeno necessário para a realização da IDLB, ainda não é produzido em larga escala no Brasil.

O objetivo do presente trabalho é divulgar a ocorrência da infecção pelo vírus da Leucose Bovina em

rebanhos de bovinos leiteiros, criados no Estado de São Paulo, utilizando para tal finalidade o resultado dos exames realizados no Laboratório de Diagnóstico de Leucose Bovina do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Procura-se, também, estabelecer o significado desta infecção viral na produção leiteira do Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODO

No período de 1986-1989 foram examinadas 2.708 amostras de soro sangüíneo, colhidas de bovinos adultos de várias raças leiteiras, criadas em 22 municípios do Estado de São Paulo: Araras, Avaré, Botucatu, Bragança Paulista, Campinas, Capivari, Guaratinguetá, Igaratá, Ilha Bela, Itapetininga, Itatiba, Itu, Itupeva, Jacareí, Jaguariúna, Marília, Mogi Mirim, Salto, São Carlos, São José dos Campos, São Roque e Sorocaba.

Após a obtenção de soro por centrifugação do sangue coagulado, foi realizada a prova de imunodifusão dupla de Duchterloney em gel de ágar para Leucose Enzoótica dos Bovinos (IDLB). Para tanto, preparou-se um gel contendo 7 g de Ágar Noble em 1 litro de solução salina fisiológica aquecida, para a seguir colocar-se 8 ml em placas de Petri plásticas com 85 mm de diâmetro. Após o resfriamento, perfuraram-se, no gel de ágar, rosetas contendo seis poços com 4 mm de diâmetro, havendo no centro deles um sétimo poço, com o mesmo diâmetro e a 4 mm de distância dos demais, conforme ilustra a Fig. 1. Em três poços, em posição alternada, depositavam-se dois soros sabidamente reagentes (controles fortemente e fracamente positivos), e um não reagente (controle negativo). No central, colocava-se o antígeno glicoprotéico extraído do envelope do vírus da Leucose Bovina (gp 51)*. Nos demais poços depositavam-se os soros a serem testados. As placas assim preparadas eram mantidas em câmara úmida, à temperatura ambiente, realizando-se as leituras após 48 e 72 horas. Considerou-se o soro como reagente quando se formou, na zona de contacto entre antígeno/anticorpo específico, uma linha de identidade total facilmente evidenciada por incidência de luz difusa na porção inferior da placa (GARCIA¹², 1989).

* Kit Comercial - Rinderleukose - Antigen/Boehringer (RFA)

RESULTADOS

Os resultados apresentados na Tab.1, distribuídos segundo os municípios de origem das amostras examinadas, demonstram que a infecção de bovinos pelo vírus da Leucose Bovina ocorreu nos 22 municípios estudados, ressaltando terem sido observadas 1.162 reações soropositivas (42,9%) frente ao antígeno gp 51. Na Fig. 2 apresentam-se os 22 focos de Leucose Enzoótica assinalados, associados aos descritos por ALENCAR FILHO et al.³ (1979) e BIRGEL et al.^{6,7} (1988).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A Leucose Enzoótica dos Bovinos é uma doença cientificamente comprovada como existente no Brasil, a partir de 1943 (RANGEL; MACHADO²², 1943) e em São Paulo desde 1963 (MACHADO et al.¹⁷, 1963). Após as notificações pioneiras da existência da Leucose Bovina no Brasil, feitas a partir de levantamentos anatomopatológicos, destacaram-se na literatura nacional inúmeras citações da ocorrência da enfermidade, diagnosticada pelas manifestações clínicas (neoplasias e leucocitose por linfocitose) ou da infecção viral pela detecção dos anticorpos séricos. Seguramente, o vírus da Leucose Bovina, introduzido pela importação de bovinos infectados, estabeleceu-se em nossos rebanhos e gradativamente, pela comercialização dos animais, disseminou-se pelas regiões de pecuária leiteira mais avançada. Repetiu-se, provavelmente, o que ocorreu mundialmente: a doença circunscrita, no final do século passado, às regiões lestes da Europa, como citam vários autores referidos na introdução, disseminou-se após as grandes guerras mundiais, por toda a Europa e nos demais continentes.

Os resultados obtidos na presente pesquisa demonstraram claramente - como se observa na Fig. 2 - que a infecção encontra-se disseminada em várias regiões do Estado de São Paulo. Ampliou-se o número de municípios deste Estado que apresentam rebanhos com animais soro-reagentes aos antígenos do vírus da Leucose Bovina, pois ALENCAR FILHO et al.³ (1979) descreveram focos em 14 municípios paulistas; BIRGEL et al.^{5,6,7} (1983,1988) afirmaram que, na bacia leiteira de Campinas, 75% dos bovinos leiteiros da raça Holandesa - variedade branca e preta, com idade maior do que 48 meses, eram reagentes ao vírus da Leucose Bovina e que os 5 rebanhos avaliados apresentavam animais soro-reagentes. Demonstraram, também, a existência de focos desta infecção em 12 municípios do Estado de São Paulo, nos quais não havia referência sobre a ocorrência da Leucose Enzoótica dos

Bovinos. Na presente pesquisa, descreve-se a infecção em rebanhos criados em 7 municípios paulistas, nos quais ainda não havia sido descrita a ocorrência da infecção causada pelo vírus da Leucose Bovina. A reunião dos resultados obtidos no presente levantamento, e nos realizados por ALENCAR FILHO et al.³ (1979); BIRGEL et al.^{5,6,7} (1983, 1988) permite afirmar existirem focos da infecção pelo vírus da Leucose Bovina, em 33 municípios do Estado de São Paulo, como está delineado na Fig. 2.

A associação dos mencionados resultados demonstra a irreversibilidade da situação da Leucose Enzoótica dos Bovinos e a tendência de seu agravamento progressivo. Caso não sejam tomadas medidas oficiais urgentes de diagnóstico da infecção e de sua profilaxia, como as verificadas em alguns países da Europa (CRESPEAU⁹, 1977; FLENSBURG¹¹, 1977), não haverá possibilidade de controle ou erradicação desta doença em São Paulo.

É imperativo, pois, que haja a sensibilização das autoridades responsáveis pela sanidade dos rebanhos brasileiros e das instituições de pesquisa para que sejam estabelecidas, o mais breve possível, as indispensáveis medidas de diagnóstico, permitindo a recomendação de normas profiláticas para o controle da Leucose Enzoótica dos Bovinos em nosso País.

BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; GARCIA, M.; BENESI, F.J.; ZOGNO, M.A. Occurrence of the Enzootic Bovine Leukosis infection in cattle of the State of São Paulo. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, v.28, n.1 p.67-73, 1991.

SUMMARY: Enzootic Bovine Leukosis (EBL) has been known since the last century and nowadays it is considered cosmopolite. In Brazil, EBL has been described in many States. The objective of this paper is to divulge the results of the activities of EBL Diagnostic Laboratory at the Department of Medical Clinics of the Faculty of the Veterinary Medicine of the University of São Paulo between the years 1986 and 1989. From 2708 samples of blood serum obtained from bovines raised in the State of São Paulo, 1162 samples showed a positive reaction by the agar-gel immunodiffusion test (42.9%). It was verified the existence of reactor bovines in the 22 districts included in this study.

UNITERMS: Bovine leukosis; São Paulo-SP; Brazil

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-ABDD, M.A.G.S.; RIBEIRO, O.C.; CHQUILOFF, M.A.G. Ocorrência de neoplasias em bovinos e caninos do Estado de Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 20., Cuiabá, 1986. *Anais*. Brasília, Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1986. p.112.
- 02-ALENCAR FILHO, R.A. Imunodifusão como recurso diagnóstico da leucemia linfática crônica em bovinos. *O Biológico*, v.44, p.27-8, 1978.
- 03-ALENCAR FILHO, R.A.; MAZANTI, M.T.; SAAD, A.D.; POHL, R. Levantamento preliminar da infecção pelo vírus da leucemia linfática crônica (LLC) dos bovinos no Estado de São Paulo. *O Biológico*, v.45, p.47-54, 1979.
- 04-BENDIXEN, H.J. Methoden und Ergebnisse der systematischen Bekämpfung der Rinderleukose in Dänemark. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, v.68, p.100-4, 1961.
- 05-BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; BENESI, F.J.; HAGIWARA, M.K.; PRADO, M.S.S. Considerações sobre a Leucose Enzoótica dos Bovinos Adultos em rebanho leiteiro criado no Estado de São Paulo. I- Prevalência de soros reagentes. In: SEMANA DE VETERINÁRIA DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2., São Paulo, 1983. *Anais*. p.70.
- 06-BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; GARCIA, M.; MARÇAL, W.S. Estudo preliminar sobre a ocorrência da Leucose dos Bovinos Adultos em animais criados na região de Campinas. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 43., Campinas, 1988. *Anais*. p.32.
- 07-BIRGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; GARCIA, M.; ZOGNO, M.A. Ocorrência de infecção causada pelo vírus da Leucose Bovina em gado leiteiro criado no Estado de São Paulo. Avaliação pela detecção de anticorpos séricos por imunodifusão com antígeno viral. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 43., Campinas, 1988. *Anais*. p.31.
- 08-CAVALCANTE, M.I.; BARRETO, S.C.P.; COSTA FILHO, G.A. Sobre a ocorrência da Leucose Bovina no Estado de Pernambuco. *Pesq. vet. bra.*, v.4, p.225-7, 1969.

- 09-CRESPEAU, F.L. Comparación entre los metodos serológicos y hematológicos utilizados en el diagnóstico de la leucosis bovina. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE LEUCOSE BOVINA, 1., Caracas, 1977. *Anais.* p.43-58.
- 10-DINIZ, J.F.M.; BARONI, J.M.; FERNANDES, B.F.; MARTINS, D.M. Leucose bovina no Estado do Paraná. *Rev. Setor Ciênc. Agr.*, Curitiba, v.2, p.33-8, 1980.
- 11-FLENSBURG, J. Resultados y experiencias del control de la leucosis bovina en Dinamarca. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE LEUCOSE BOVINA, 1., Caracas, 1977. *Anais.* p.77-82.
- 12-GARCIA, M. *Avaliação do leucograma de fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta naturalmente infectadas pelo vírus da Leucose Bovina.* São Paulo, 1989. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- 13-GOTZE, R.; ROSENBERGER, G.; ZIEGENHAGEN, G. Die Leukosis des Rindes: Ihre häematologische und klinische Diagnose. *Mh. Vet. Med.*, v.9, p.517-26, 1954.
- 14-HOULDER, 1869 apud ROSENBERGER, G. *Enfermedades de los bovinos.* Buenos Aires, Hemisferio Sur, 1983. p.48.
- 15-LEISERING, 1861 apud ROSENBERGER, G. *Enfermedades de los bovinos.* Buenos Aires, Hemisferio Sur, 1983. p.48.
- 16-LIMA, E.G.; HAYSSAKA, J.M.; PEINADO, M. Inquérito sorológico para Leucose Bovina em gado importado. *Rev. Patol. trop.*, v.9, n.314, p.137-43, 1980.
- 17-MACHADO, A.V.; SILVA, J.M.L.; CURIAL, O.; TREIN, E.J.; SALIBA, A.M.; MARTINS, E.O.; CAVALCANTE, M.I.; SANTOS, J.A.; TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; FARIA, J.F.; NOVLOSKI, G.; PEREIRA, E.F.C. Incidência de blastomas em animais no Brasil. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. M. Gerais*, v.15, p.327-401, 1963.
- 18-MERKT, H.; GIUDICE, J.C.O.; MULLER, J.A. Leucose bovina: concepção moderna e primeira verificação da doença no Rio Grande do Sul. *Rev. Esc. Agron. Vet. Univ. R. G. Sul.*, v.2, n.3, p.7-19, 1959.
- 19-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. Nat. Cancer. Inst.*, v.43, p.1297-305, 1969.
- 20-MILLER, J.M.; VAN DER MAATEN, M.J. Use of glycoprotein antigen in the immunodiffusion test for bovine leukemia virus antibodies. *Europ. J. Cancer.*, v.13, p.1369-75, 1977.
- 21-PASSOS, D.A.; SILVA, S.V.; MARTINS, F.E.N.; SOUSA, A.F.; Sobre um caso de Leucose Bovina no Estado do Piauí. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 20., Cuiabá, 1986. *Anais.* Brasília, Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1986. p.150.
- 22-RANGEL, V.M.; MACHADO, A.V. Contribuição à oncologia comparada em Minas Gerais. *Arq. Esc. Sup. Vet. Est. M. Gerais.*, v.1, p.83-95, 1943.
- 23-SANTOS, J.A.; PINHEIRO, P.V.; SILVA, L.J. Linfossarcoma com lesões da língua e câmara cardíaca em bovinos. *An. Esc. Flumin. Med. Vet.*, v.2, p.1-8, 1959.
- 24-SIEDAMGROTZKY, 1876 apud ROSENBERGER, G. *Enfermedades de los bovinos.* Buenos Aires, Hemisferio Sur, 1983. p.48.
- 25-TOLLE, A. Zur Beurteilung quantitativer hämatologischer Befunde im Rahmen der Leukose-Diagnostik beim Rind. *Zbl. Vet. Med., B*, v.12, p.281-90, 1965.

Recebido para publicação em 12/06/90

Aprovado para publicação em 19/02/91

TABELA 1 - Resultados da prova de imunodifusão dupla de Ouchterloney em gel de ágar, utilizando como antígeno a glicoproteína do envelope do vírus da Leucose Bovina (gp 51), realizada em 2.708 amostras de soro sangüíneo de bovinos leiteiros criados em 22 municípios do Estado de São Paulo. São Paulo, 1990.

MUNICÍPIOS	Nº TOTAL DE AMOSTRAS	Nº DE AMOSTRAS REAGENTES	Nº RELATIVO DE AMOSTRAS REAGENTES
Araras	16	9	56,2
Avaré	14	6	48,9
Botucatu	3	1	33,3
Bragança Paulista	2	1	50,0
Campinas	671	331	49,3
Capivari	169	61	36,1
Guaratinguetá	5	4	80,0
Igaratá	65	19	29,2
Ilha Bela	7	1	14,3
Itapetininga	33	5	15,2
Itatiba	270	107	39,6
Itu	7	5	71,4
Itupeva	22	7	31,8
Jacareí	128	18	14,1
Jaguariúna	552	241	43,7
Marília	10	6	60,0
Mogi-Mirim	2	2	100,0
Salto	349	202	42,1
São Carlos	119	54	54,6
São José dos Campos	56	41	26,8
São Roque	20	9	45,0
Sorocaba	188	86	54,3
TOTAL	2708	1162	42,9

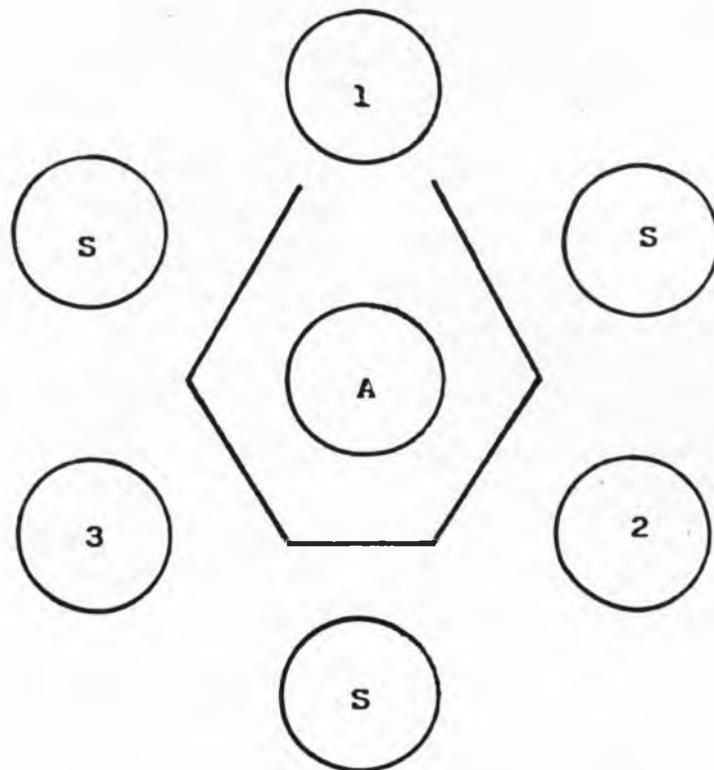


FIGURA 1 — Esquema da realização da prova de imunodifusão dupla de Ouchterloney em ágar gel para detecção de anticorpos séricos produzidos pelo vírus de leucose bovina.

- | | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| A = Antígeno | 1. Soro padrão negativo |
| S = Soros testes positivos | 2. Soro padrão positivo |
| ϕ = 4 mm e distâncias de 4 mm | 3. Soro padrão fracamente positivo |

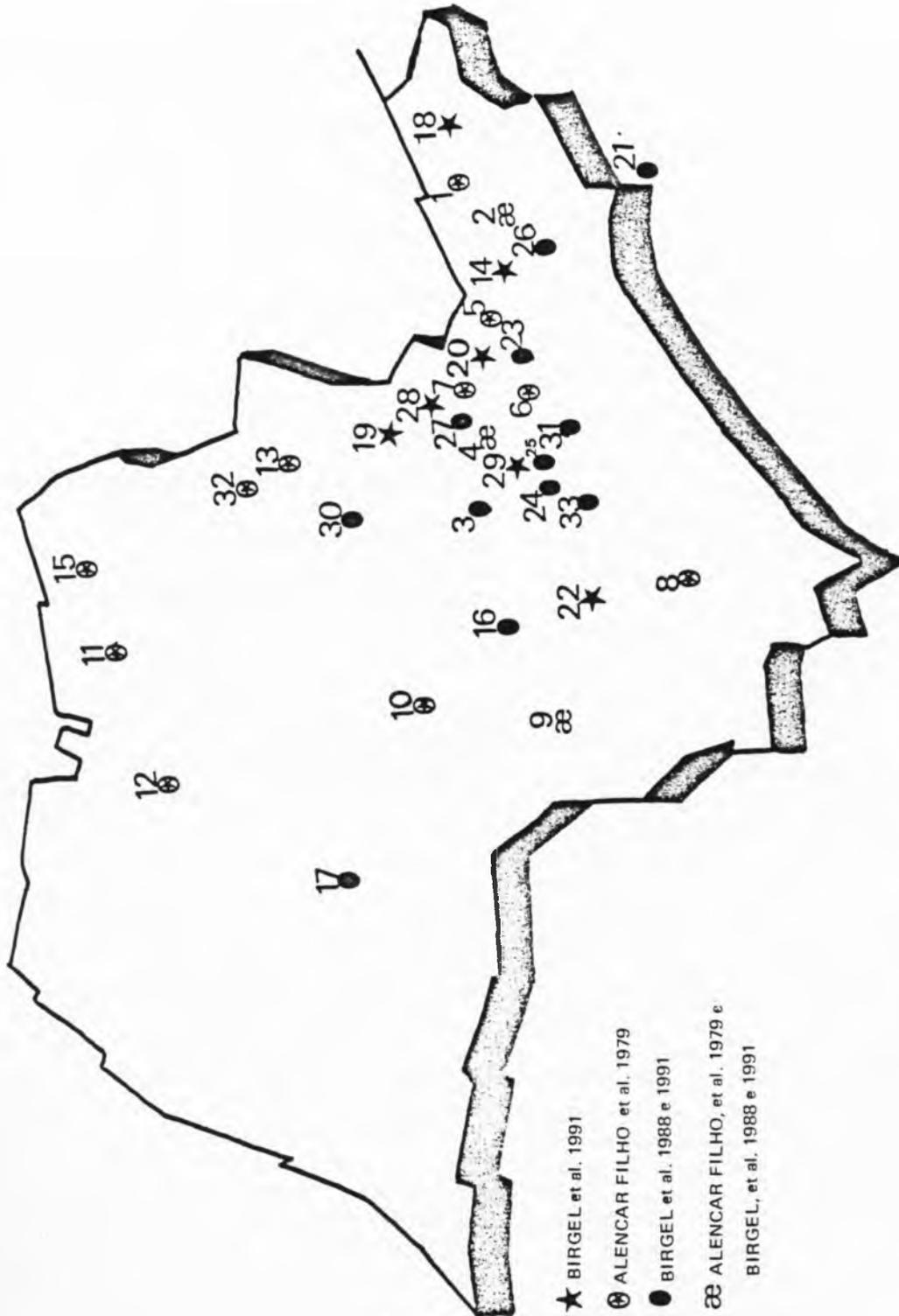


FIGURA 2 — Focos de Leucose Enzoótica dos bovina em São Paulo, SP — 1990.
 LOCALIDADES: 1. Pindamonhangaba; 2. São José dos Campos; 3. Capivari; 4. Campinas; 5. Nova Odessa; 7. Amparo; 8. São Miguel Arcanjo; 9. Avaré; 10. Agudos; 11. Barretos; 12. São José do Rio Preto; 13. Santa Rita do Passa Quatro; 14. Igaratá; 15. Ituverava; 16. Botucatu; 17. Marília; 18. Guaratinguetá; 19. Araras; 20. Bregança Paulista; 21. Ilha Bela; 22. Itapetininga; 23. Itatiba; 24. Itu; 25. Itupeva; 26. Jacareí; 27. Jaguariúna; 28. Mogi Mirim; 29. Salto; 30. São Carlos; 31. São Roque; 32. Serra Azul; 33. Sorocaba