

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

PERFIL HEMATOLÓGICO PARA VACAS SOROPOSITIVAS PARA LEUCOSE¹ HEMATOLOGIC PROFILE OF SOROPOSITIVE COWS FOR LEUKOSIS

César Augusto Da Rosa², Caroline Fernandes Possebon³, Gabriel Woermann Rick⁴, Cristiane Beck⁵, Denise Da Rosa Fraga⁶, Cynthia Lopes Pergoraro⁷

¹ Projeto de Pesquisa realizado durante Bolsa de Iniciação Científica PIBIC/CNPq

² Estudante do Curso de Medicina Veterinária. Bolsista PIBIC/CNPq.

³ Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária.

⁴ Acadêmico do Curso Medicina Veterinária. Bolsista PIBIC/UNIJUI.

⁵ Professora Dra. Curso Medicina Veterinária. Orientadora.

⁶ Professora Doutora Curso Medicina Veterinária Unijui.

⁷ Médica Veterinária pós graduada em Clínica de Bovinos de Leite.

INTRODUÇÃO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma doença infectocontagiosa, de caráter crônico que se manifesta naturalmente em bovinos e bubalinos acarretando em perdas econômicas devido aos gastos pela queda na produção leiteira, problemas reprodutivos, descarte prematuro dos animais acometidos e ao veto para a exportação desses animais (RADOSTITS et al., 2002; PEREIRA, 2013).

O Vírus da Leucose Bovina (VLB) está distribuído por todo o mundo sendo considerado endêmico em vários países, embora já existam regiões e países livres da doença. (NUOTIO et al., 2003; OTACHEL-HAWRANEK, 2007). Seu aparecimento é maior em rebanhos leiteiros e tal fato é explicado por esta categoria ter uma vida média mais alta e pelo manejo adotado, ocorrendo em todas as raças nos animais com idade superior a dois anos (BRAGA et al., 1998).

Conforme Silva et al., (2008) o vírus da LEB pertence à família Retroviridae, sub-família Oncovirinae e gênero Deltaretrovirus, sendo um vírus RNA tumoral, envelopado, podendo ser inativado por solventes e detergentes lipídicos e pelo calor (56°C) (PEREIRA, 2013). Infecta linfócitos tipo B e T, monócitos, granulócitos, macrófagos e neutrófilos (HIRSH; LEITE, 2016). Essa doença é caracterizada por um curto período de viremia pós infecção, seguido de um longo período de incubação até o aparecimento dos sinais clínicos, ocorrendo proliferação linfocitária exagerada em diferentes órgãos, levando a formação de tumores com proliferação e infiltração de linfócitos (BIRGEL JUNIOR et al., 2006).

A transmissão da VLB pode ocorrer de forma horizontal e vertical, sendo a forma horizontal a responsável pela maioria das infecções em bovinos e a forma iatrogênica é o principal modo de transmissão, contribuindo para a disseminação da doença dentro dos rebanhos (PEREIRA, 2013).

O diagnóstico é dado pelos testes sorológicos como o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e o ELISA, onde o IDGA é a prova oficial de diagnóstico por apresentar uma boa especificidade, porém sua sensibilidade não é satisfatória. Já o teste de ELISA se destaca por sua praticidade e a possibilidade de emprego de outros materiais para o diagnóstico da doença como o soro e o leite

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

(HIRSH; LEITE, 2016).

A Leucose Enzoótica Bovina não possui tratamento e possui prognóstico desfavorável, dessa forma é necessário adequar medidas de higiene e controle nas propriedades para evitar a disseminação do vírus, tais como uso de agulhas, seringas e luvas descartáveis, desinfecção dos instrumentos cirúrgicos e de identificação dos animais e realização de exames nos rebanhos semestralmente para auxiliar na identificação e controle dos animais soropositivos (SILVA et al., 2008). O presente estudo tem o objetivo de demonstrar o as alterações perfil hematológico de vacas soropositivas para LEB pelo teste de ELISA.

METODOLOGIA

Dados de histórico de ocorrência de LEB de um rebanho leiteiro, no município de Júlio de Castilhos, Rio Grande do Sul, Brasil, localizado na região noroeste do estado foram avaliados. Amostras de sangue de 65 animais foram coletadas em abril de 2017.

As amostras de sangue foram colhidas por venopunção coccígea em sistema vacutainer de 65 bovinos leiteiros, de diferentes idades e colocados cerca de 10 mL em tubos de ensaio sem anticoagulante, conservadas em gelo e enviadas para a realização teste de ELISA no setor de Virologia da Universidade Federal de Santa Maria/RS. Dos animais soropositivos (n=...) foram realizadas novas coletas de sangue, em ...dias após a primeira coleta, pelo mesmo método e introduzidas em tubos com anticoagulante EDTA, sendo posteriormente acondicionadas em caixa térmica com gelo, e enviadas para o laboratório de análises clínicas veterinárias do Hospital Veterinário da UNIJUI para realização do hemograma.

Os resultados do perfil hematológico foram analisados e comparados com alterações hematológicas descritas na literatura em animais soropositivos pelo ELISA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Leucose Enzoótica Bovina é uma doença cosmopolita, sendo que no Brasil a disseminação entre os estados ocorreu pela ausência do controle sanitário e de importação de bovinos entre os hemisférios (CAMERA et al., 2012). Em um estudo realizado em 1996 pela análise sorológica de um total de 39.799 amostras de bovinos das diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul foi evidenciado que 3.645 dos animais (9,2%) apresentaram-se soropositivos (MORAES et al., 1996). Neste trabalho acompanhado, em apenas uma propriedade, foram encontradas 31% (n= 20/68) das amostras positivas no teste de ELISA.

É uma doença de caráter crônico, que possui como um dos principais sinais clínicos a agregação de linfócitos neoplásicos e linfocitose persistente, assim como distúrbios digestivos, cardiorrespiratórios, reprodutivos, inapetência, emagrecimento progressivo, anorexia, podendo ocorrer complicações neurológicas em decorrência do aparecimento dos linfossarcoma (TOSTES, 2005; PEREIRA, 2013). O diagnóstico clínico pode ser baseado nos sinais (decorrentes da formação de tumores) e dados epidemiológicos, como entrada de animais oriundos de rebanhos positivos para VLB (PEREIRA, 2013). Os animais soropositivos da propriedade não apresentavam sinais clínicos característicos, tais como formação de tumores.

Os métodos utilizados atualmente para diagnóstico preciso da doença são o IDGA e o teste de

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

ELISA. O IDGA tem se mostrado uma importante ferramenta de detecção de anticorpos contra a proteína gp 51 da partícula viral no plasma ou no soro, possui uma alta especificidade pelo fato do vírus ser estável genomicamente, sendo um teste viável e muito acessível (RADOSTITS et al., 2002). Este teste tem sido adotado como exame oficial por órgãos de defesa de vários países para o diagnóstico do VLB (PEREIRA, 2013). Já o teste de ELISA pode detectar anticorpos no leite em rebanhos com baixa prevalência, possuindo uma maior sensibilidade quando comparado ao IDGA (EVERMANN, 1992; SHINAGAWA et al., 1994). Das 65 amostras testadas pelo ELISA, 20 (30,77%) resultaram positivas.

Na forma clínica ocorre o aparecimento de linfossarcoma em animais adultos, podendo evoluir para a morte do animal (PEREIRA, 2013). Na forma pré-clínica podem ocorrer perda de peso, inapetência, palidez, fraqueza e baixa produção leiteira. Os demais sinais incluem: enfartamento linfonodos, exoftalmia, ulceração abomasal, insuficiência cardíaca congestiva, paresia e paralisia dos membros e placas cutâneas. Durante a fase de infecção e linfocitose persistente não há sinais clínicos característicos (HIRSH; LEITE, 2016; RADOSTITS et al., 2002).

Dentre os hemogramas realizados dos animais soropositivos para o teste, quatro demonstraram variações em relação ao nível de leucócitos, neutrófilos e linfócitos. Em um bovino foi identificada a presença de leucocitose por linfocitose. Em outro somente a presença de neutropenia. A leucocitose associada à neutrofilia foi identificada em um bovino e em outro animal foi identificada somente a presença de neutrofilia.

A presença de leucocitose associada a neutrofilia, ou apenas a neutrofilia é um indicativo de um processo inflamatório, podendo também ser observada em alguns casos, como uma resposta à excitação, quando não associada a alterações a nível de bastonetes, o que pode ter ocorrido no bovino em questão no momento da coleta, ou estar associada à algum processo inflamatório subclínico. A presença de neutropenia de forma isolada pode ser um indicativo de uma infecção viral aguda, e neste caso não foi avaliada especificamente a presença de uma alteração clínica aguda concomitante (WEISER, 2006).

A linfocitose pode estar associada à uma resposta a excitação e a presença de uma leucemia linfocítica. Em bovinos infectados pelo VLB, a presença de linfocitose persistente é um achado comum, sendo considerada quando há presença de dois ou mais hemogramas com a contagem de linfócitos superior a 7.500 células/ μ L (WEISER, 2006). Foi encontrado linfocitose em apenas uma amostra, porém este foi o único animal identificado com tal alteração hematológica, diferindo da descrição de literatura que é comumente encontrado em animais soropositivos. Uma das características dos animais soropositivos é a persistente produção de anticorpos contra os antígenos virais, sugerindo uma constante estimulação do sistema imune pelo vírus (BIRGEL JUNIOR et al., 2006).

A linfocitose persistente associada a um elevado número de linfócitos imaturos em três hemogramas com um intervalo de uma semana caracteriza o quadro, ocorrendo um incremento de linfócitos B (HIRSH; LEITE, 2016), porém isso não foi observado, sendo que seria necessário a realização de mais de um hemograma.

Um animal infectado pode ser fonte de transmissão do vírus em um rebanho, de forma horizontal por linfócitos infectados no sangue ou outros fluidos, instrumentos cirúrgicos contaminados, transfusão sanguínea, palpação retal, imunização, colocação de brincos e insetos hematófagos

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

(RADOSTITS et al., 2002; SILVA et al., 2008). Já na forma vertical que é a mais incomum, ocorre em apenas 10% das fêmeas infectadas, podendo transmitir o vírus a prole pela via transplacentária ou ingestão do colostro/leite (SILVA et al., 2008),

Pode-se realizar o controle e erradicação da enfermidade com base na identificação, isolamento e eliminação dos animais reagentes (SILVA et al, 2008). Não há vacina que produza uma proteção efetiva contra a VLB (BIRGEL JUNIOR et al., 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação hematológica é importante para diagnóstico, acompanhamento de tratamento e/ou prognóstico de inúmeras enfermidades. No caso da LEB o hemograma quando resultar em linfocitose, pode ser usado como indicativo de leucose, devendo ser confirmado pelos testes sorológicos de ELISA ou IDGA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIRGEL JUNIOR, E. H.; DIAS, W. M. C.; SOUZA, R. M.; et al. Prevalência da Infecção Pelo Vírus da Leucose dos Bovinos em Animais da Raça Simental, Criados No Estado de São Paulo. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, SP, Vol. 22, nº2, 122-129, 2006.

BRAGA, F. M. et al. Infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV). *Ciência Rural*. v.28, n.1, p.163-172, 1998.

CAMERA, L.; HOFFMANN, M. L.; SCHMITT, C. I.; et al. Leucose Enzoótica Bovina: Revisão de Literatura. XVII Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão; XV Mostra de Iniciação Científica, X Mostra de Extensão, Unicruz, Cruz Alta/RS, 2012.

EVERMANN, J. A look at how Bovine Leukemia Virus infection is diagnosed. *Vet. Medic.* 87: 272-278, 1992.

HIRSH, C. . LEITE, R.C., Leucose enzoótica bovina. in: MAGID, J., RIBEIRO, M.G., PAES, A.C., *Doenças Infecciosas em animais de Produção e de companhia*. 1 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

MORAES, M.P., Levantamento sorológico da infecção pelo vírus da leucose bovina nos rebanhos leiteiros do estado do Rio Grande do Sul. Brasil, *Ciência Rural*, v.26, n.2, 1996.

NUOTIO, L. et al. Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. *Preventive Veterinary Medicine*. V. 59, p.43-49, 2003.

OTACHEL-HAWRANEK, J. Eradication of enzootic bovine leucosis in dairy cattle from the lower Silesia Region. *Bull Veterinary Institute pulawyn*. v. 51, p. 465-469 2007.

PEREIRA, A. L. M. Soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina Revisão de Literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 2013.

RADOSTITS, et al. *Clínica Veterinária*. 9ª ed., Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 2002, p.940-951.

SHINAGAWA, T; ISHIGURO, N; HORIUCHI, M. et al. Characterization of monoclonal antibodies against Sporadic Bovines Leukosis cell lines. *J. Vet. Med. Sci.* 56: 827-833, 1994.

SILVA, R. C. et al.; Ocorrência De Leucose Enzoótica Bovina Na Forma De Linfossarcomas. No Distrito Federal: *Relato De Caso; Arq. Inst. Biol., São Paulo*, v.75, n.4, p.507-512, out./dez., 2008.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

TOSTES, R. A. Situação da Leucose Bovina no Brasil: Uma Revisão. *Colloquium Agrariae*, v.1, n. 1, set. p. 42-50, 2005.

WEISER, G. Interpretação da resposta leucocitária nas doenças. In: THRALL, M. A. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. 1 ed. São Paulo: Roca, 2006. cap.12, p. 136-140.