

Leucose enzoótica dos bovinos: prevalência de anticorpos séricos em bovinos criados na Bahia e comparação entre os resultados do teste de Elisa e da imunodifusão em gel de ágar

Paulo Ferreira de MATOS¹;
Eduardo Harry BIRGEL
JÚNIOR²;
Eduardo Harry BIRGEL²

1 - Departamento de Patologia e Clínicas da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (EMV / UFBA), Salvador - BA

2 - Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo - SP

Resumo

Determinou-se a prevalência de infecção pelo vírus da Leucose Enzoótica dos Bovinos (LEB) em animais criados na bacia leiteira de cinco micro-regiões do Estado da Bahia, comparando a eficiência de três provas sorológicas para detecção de anticorpos anti-Vírus da LEB: Teste ELISA, prova de Imunodifusão IDGA / gp 51 importado e a IDGA / gp 51 produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná - TECPAR. Foram utilizados bovinos de 13 propriedades, totalizando 796 animais. A infecção pelo VLB foi detectada em todos os rebanhos, com taxa de prevalência de 41,0%, com variação de 6,3% (4/64) a 65,8% (25/38). Os bovinos foram estratificados em seis grupos etários: a) de dois a seis meses; b) de 7 a 12 meses; c) de 13 a 24 meses; d) entre 25 e 48 meses; e) de 49 a 72 meses; f) com mais de 72 meses de idade, observando-se que os índices de infecção aumentaram significativamente com o desenvolvimento etário e os resultados foram, respectivamente: 8,8%; 16,9%; 17,7%; 50,8%; 54,4% e 56,5%. Em 434 amostras avaliou-se comparativamente a eficiência das três provas sorológicas, considerando-se o Teste ELISA como padrão. Na comparação entre a prova ELISA e o Teste de IDGA / gp 51 importado a sensibilidade foi de 85% e especificidade de 80%, com valor preditivo positivo (VPP) de 63% e o valor preditivo negativo (VPN) de 93%, sendo a concordância igual a 81%. O estudo comparativo do teste ELISA e IDGA / gp 51 - TECPAR apresentou sensibilidade igual a 82% e a especificidade 93%, com VPP de associação igual a 79% e o VPN de 93%, sendo a concordância igual a 85%. Os resultados dos estudos comparativos sugerem IDGA com antígeno de procedência nacional suficientemente eficiente para a sua utilização.

Palavras-chave:

Leucose Enzoótica dos Bovinos.
Anticorpos.
ELISA.
Imunodifusão.

Correspondência para:

PAULO FERREIRA DE MATOS
Departamento de Patologia e Clínicas
Escola de Medicina Veterinária
Universidade Federal da Bahia
Avenida Adhemar de Barros, 500
Ondina
40170-110 - Salvador - BA
pmatos@cpunet.com.br

Recebido para publicação: 15/08/2003
Aprovado para publicação: 15/03/2005

Introdução

Leucose enzoótica dos bovinos (LEB), linfossarcoma, leucemia, leucemia linfática, linfoblastoma, linfomatose ou linfocitose persistente são denominações aceitas para descrever os diferentes tipos de reação orgânica dos bovinos ao vírus da leucose - enfermidade infecto-contagiosa determinada por um Oncovírus tipo C, da

família Retroviridae e sub família Oncovirinae, denominado Vírus da Leucose dos Bovinos (VLB). A doença caracteriza-se por proliferação linfocitária nos órgãos hemocitopoieticos, bem como naqueles ricos em tecido retículo- histiocitário, determinando formações tumorais por infiltração de células mononucleares (linfócitos, pró-linfócitos e linfócitos atípicos), com quadro sintomático

pleomórfico e alterações hematológicas, evidenciadas por leucocitose e linfocitose persistente, com aumento das formas linfocitárias atípicas¹.

O linfossarcoma dos bovinos foi descrito pela primeira vez, no Brasil, em 1943 em exames anátomo-patológicos e a partir de 1959, um grande número de pesquisas foi realizada sobre o assunto e as citações bibliográficas inseridas na tese de Silva², com relatos da infecção pelo VLB em animais criados no: Acre, Rondônia, Amazonas, Pará, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul. Um trabalho de revisão da literatura sobre o assunto, realizada na década de 90, mostrou 110 citações de autores brasileiros publicadas em revistas ou apresentadas em congressos³. Távora e Birgel⁴, foram os primeiros pesquisadores que estudaram a prevalência da leucose enzoótica dos bovinos em rebanhos leiteiros criados na região do Pólo de Itabuna, Estado da Bahia.

O linfossarcoma é considerado uma enfermidade de distribuição cosmopolita, que acomete principalmente animais de rebanhos leiteiros¹, cuja epidemiologia deve-se enfatizar, em especial, sua transmissão: realizada tanto por via vertical como horizontal, havendo propagação da doença de maneira intensa e incontrolável na maioria dos bovinos adultos em diversos Estados do Brasil. Silva² demonstrou que a LEB estava amplamente disseminada no Estado do Piauí, podendo ser considerada como uma infecção viral enzoótica, uma vez que foram encontrados animais soro-reagentes em 100% dos rebanhos cruzados - holandês / zebu (MH/Z) avaliados e, em 40% (2/5), nos rebanhos de animais da raça Pé-Duro (RPD), sendo a taxa de prevalência de anticorpos séricos anti-VLB na população examinada igual a 17,7% (328/1815).

Os maiores prejuízos ou perdas econômicas causadas pela LEB estão relacionadas à comercialização, visto que muitos países adotaram medidas preventivas contra essa infecção viral, incluindo restrição

à importação de animais infectados.

Estudos sobre a relação entre prevalência da infecção pelo VLB e o tipo de produção zootécnica, demonstraram que esta enfermidade influi na ocorrência e frequência da infecção nos rebanhos, pois segundo House, House e Glover⁵; Birgel et al.⁶ e Carvalho⁷, os bovinos das raças leiteiras apresentam maior frequência de animais soro-reagentes frente aos antígenos do VLB, podendo estimar valores 4 a 10 vezes maiores do que os obtidos em animais de corte. Também no Brasil, Birgel Júnior et al.⁸ demonstraram taxa de infecção significativamente maior nas fêmeas e atribuíram essa diferença ao tipo de manejo e ao maior isolamento a que são submetidos os machos, nos rebanhos leiteiros.

Primitivamente, esta enfermidade era identificada apenas pelas lesões e manifestações clínicas, passando a ter seu diagnóstico facilitado e precoce com a adoção de exames hematológicos, que resultaram no estabelecimento das conhecidas chaves leucométricas para diagnóstico da LEB e estabelecidas por: Goetze, Ziegenhagen e Merkt (1953 apud Cunha; Teixeira; Souza, 1982)⁹; Winquist¹⁰ e Tolle¹¹. Com os conhecimentos advindos do isolamento do vírus da leucose dos bovinos¹², foi possível a idealização de provas sorológicas, com a finalidade de determinar os anticorpos específicos e, conseqüentemente, o reconhecimento precoce da infecção^{13,14,15}. Basilio, Tavera e Aluja¹⁶, realizaram estudo comparativo entre as provas de ELISA e de imunodifusão radial em gel de ágar em 10 animais com antecedentes clínicos e hematológicos de linfocitose persistente, manifestações indicativas da Leucose Enzoótica dos Bovinos, encontrando resultado positivo para ambas as técnicas, em todos animais. Tais resultados não foram confirmados, na mesma magnitude, por Brenner, Moss e Moalem¹⁷, que compararam os resultados obtidos pelas técnicas de ELISA (tanto no soro, como no leite) e da imunodifusão em gel de ágar com antígeno glicoprotéico gp 51 (IDGA); os autores constataram nos resultados obtidos, que a

relação entre as provas era: a) imunodifusão e do Teste de ELISA em soro, igual a 90,3%; b) Testes ELISA no soro e ELISA no leite, relação de 93,2%; c) imunodifusão e ELISA, no leite com relação de 89,6%.

Por tal razão, consideraram a prova de ELISA no soro, como a mais sensível. Com pesquisa semelhante Molnár et al.¹⁸, estudaram a ocorrência da Leucose Enzoótica dos Bovinos no Estado do Pará, utilizando a prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e, em paralelo, utilizaram o teste imunoenzimático (ELISA), sendo as prevalências observadas igual a 49,8% (359/721) pelo teste ELISA e 26,0% (174/668) pela prova IDGA. Os referidos pesquisadores verificaram em todos grupos de animais examinados pelo ELISA, a existência de animais infectados pelo VLB, enquanto que pelo método da IDGA verificou-se que dois grupos não apresentavam animais soro reagentes, demonstrando ser o primeiro método mais sensível e específico do que o segundo.

Face a algumas dúvidas observadas na literatura, o presente estudo teve como objetivos: determinar a prevalência da infecção pelo vírus da Leucose dos Bovinos, em 13 propriedades de rebanhos leiteiros pertencentes a cinco micro-regiões do Recôncavo Baiano, e comparar a eficiência de três provas sorológicas para detecção de bovinos portadores de anticorpos antivírus da Leucose dos Bovinos (VLB), a saber: teste de ELISA e duas provas de IDGA com antígenos diferentes: a de imunodifusão radial dupla de Ouchterlony em gel de ágar utilizando o antígeno glicoproteico gp 51 de procedência estrangeira e a de imunodifusão em gel de ágar realizada com antígeno de procedência nacional, produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná - TECPAR.

Materiais e Métodos

As amostras de soro sangüíneo para o estudo da prevalência da infecção pelo Vírus da Leucose dos Bovinos foram obtidas de 796 bovinos leiteiros das raças Jersey, Holandesa, Girolando, Pardo Suíço, Simental

e mestiços ou cruzadas, procedentes de 13 propriedades de cinco micro-regiões da Bahia: Salvador; Feira de Santana; Catú; Santo Antônio de Jesus e Entre Rios. Do total, utilizaram-se 434 amostras para avaliar a eficiência de provas sorológicas - teste de ELISA e as duas provas de imunodifusão em gel de ágar, utilizando antígenos importado e nacional.

As propriedades foram escolhidas ao acaso e os animais selecionados aleatoriamente. Os bovinos incluídos nessa pesquisa eram criados em sistemas de manejo semi-intensivo ou intensivo e suas idades variavam de dois meses a 11 anos; sendo a maioria fêmeas, incluindo-se nessa população apenas seis machos reprodutores.

Para avaliar a influência dos fatores etários sobre a freqüência de animais soro-reagentes ao antígeno do vírus da Leucose dos Bovinos (VLB), a população foi estratificada em seis faixas etárias, assim discriminadas: 34 bezerras de dois a seis meses de idade; 71 animais com idade variando de 7 a 12 meses; 158 bovinos de 13 a 24 meses de idade; 256 animais com idade variando entre 25 a 48 meses; 169 animais com idade entre 49 e 72 meses e 108 bovinos com mais de 72 meses de idade.

As amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular com agulhas calibre 40x16 ou aspiração a vácuo (Sistema Vacutainer) e recolhidas em tubos individuais com capacidade para 10ml, esterilizados e isentos de aditivos, rotulados com o número ou nome do animal. Inicialmente, as alíquotas foram mantidas à temperatura ambiente para adequada retração do coágulo e posterior obtenção do soro por centrifugação. O soro assim obtido foi conservado à temperatura de -20° C, até a realização das provas sorológicas.

Para a pesquisa de anticorpos séricos anti-Vírus da Leucose dos Bovinos foram utilizadas as seguintes provas sorológicas: a) Teste de ELISA, utilizando o conjunto comercial de reativos (Chekit Leucotest Serum Confirmatory Enzyme Immunoassay) provido de antígenos controles negativo e positivo, específico para detectar anticorpos

contra VLB em soro ou plasma de bovino; b) prova de imunodifusão radial dupla de Ouchterlony em gel de ágar utilizando-se antígeno glicoprotéico gp 51 da cápsula do VLB (importado), de acordo com a metodologia padronizada por Birgel¹ e modificada por D'Angelino¹⁹; c) e a prova de imunodifusão realizada, utilizando o conjunto de reativos elaborado pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR).

A análise estatística foi realizada utilizando o teste de duas proporções e nível de significância igual a 5% (valor crítico de $Z=1,96$), conforme Berquó, Souza e Gotlieb²⁰. Para o teste comparativo entre os resultados das provas sorológicas empregou-se a análise estatística pelo Teste Qui-Quadrado, determinando-se os valores correspondentes à sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo (VPN) e valor preditivo positivo (VPP) para cada um dos métodos sorológicos utilizados - Teste de ELISA versus IDGA com antígeno gp 51 importado e Teste de ELISA versus IDGA com antígeno nacional gp 51 produzido pela TECPAR.

Resultados

Os resultados obtidos nas 796 amostras de soro sanguíneo, submetidos ao teste de ELISA indicam uma prevalência de Leucose Enzoótica em 41,0% dos bovinos soro-reagentes ao antígeno do VLB, criados em cinco micro-regiões do Estado da Bahia. Os resultados estão apresentados na tabela 1.

O resultado do teste ELISA, revelou prevalência de 41,0% (326/796), nos bovinos criados na bacia leiteira do Recôncavo Baiano infectados pelo VLB oriundos de 13 rebanhos, variando a frequência entre 6,3% (4/64) e 65,8% (25/38).

Na tabela 2 são apresentados os resultados obtidos nos seis grupos etários, formados e avaliados pelo teste "ELISA" para detecção de anticorpos anti-VLB. Os resultados demonstraram maior prevalência de bovinos soro reagentes nos grupos com mais de 24 meses de idade. Pelo Teste de Duas Proporções comprovou serem significativas as diferenças entre os resultados

dos diferentes grupos etários.

Na tabela 3 estão registrados os resultados obtidos nas três diferentes técnicas imunológicas que permitiram uma avaliação comparativa em 434 amostras de soro sanguíneo de bovinos criados na Bacia Leiteira de Salvador. Nesta avaliação considerou-se o resultado do teste ELISA como padrão pela sua maior sensibilidade. A comparação permitiu afirmar que a sensibilidade do método da prova de ELISA em relação ao teste de Imunodifusão com antígeno gp 51, a qual foi de 85% e a especificidade de 80%. O valor preditivo positivo (VPP) de associação entre os resultados do teste ELISA e a IDGA com antígeno importado foi de 63% e o valor preditivo negativo (VPN) foi de 93%, sendo a concordância igual a 81%. O estudo comparativo da sensibilidade do método da prova de ELISA e IDGA com antígeno gp 51 de origem nacional foi de 82% e a especificidade 93%. O VPP da associação foi 79%, enquanto o VPN foi de 93%, sendo a concordância igual a 85%.

Discussão

No Brasil, a condição enzoótica da Leucose dos bovinos, causada pelo VLB é uma realidade que não pode ser desconsiderada, pois essa infecção está disseminada e comprovadamente em inúmeros rebanhos de bovinos criados em quase todos estados brasileiros. Esta afirmação pode ser comprovada pela bibliografia especializada compulsada ocorrendo nas regiões: Norte - Acre e Rondônia, no Amazonas e no Pará; Nordeste - Piauí, no Ceará, no Rio Grande do Norte, na Paraíba, em Pernambuco, em Alagoas, em Sergipe e na Bahia; Centro Oeste - em Goiás; Sudeste - Minas Gerais, no Rio de Janeiro, em São Paulo; Sul - Paraná e no Rio Grande do Sul.

No estudo da prevalência de anticorpos séricos anti-VLB em animais leiteiros criados em propriedades de cinco micro-regiões do Estado da Bahia (Salvador,

Feira de Santana, Catú, Santo Antônio de Jesus e Entre Rios), comprovou-se que 326 animais dentre os 796 examinados eram soro-reagentes (positivos), demonstrando-se assim a ocorrência da Leucose Enzoótica dos Bovinos nos rebanhos das referidas micro-regiões com uma prevalência de 41,0%, a qual variou entre 6,3% a 65,8%.

A análise comparativa dos resultados obtidos com aqueles referidos na literatura especializada brasileira² indicou que os rebanhos leiteiros criados nas cinco micro-regiões da Bahia tiveram índice de infecção pelo VLB maior do que a encontrada no Paraná 20,7%. No Rio Grande do Sul foram detectados valores entre 32,6% e 9,2%, índices de prevalência significativamente menores do que os obtidos no presente estudo, e, que foram significativamente maiores do que os encontrados em Rondônia e no Acre (23% e 9,7%), respectivamente. Ressalta-se que os presentes valores foram maiores do que outros obtidos no Nordeste brasileiro, pois Távora e Birgel⁴ obtiveram 16,1% em bovinos leiteiros criados no Pólo de Itabuna - Bahia; enquanto em Pernambuco a taxa de prevalência foi de 15,1%, e no Ceará de 9,1%.

Os resultados obtidos nos animais leiteiros da Bahia foram equivalentes aos de algumas pesquisas realizadas em São Paulo e em Goiás. Todavia os índices foram menores do que os resultados mencionados na tese de Silva², no Estado do Rio de Janeiro (54,2%), em São Paulo (54,0%) e no Pará (49,8%).

A colheita aleatória de amostras de sangue de bovinos de 13 rebanhos das cinco micro-regiões da bacia leiteira de Salvador demonstrou que a frequência de infecção pela VLB variou entre 6,3% a 65,8%, permitindo-se afirmar que o índice de prevalência IP (IP= número de bovinos reagentes na população avaliada / número de indivíduos da população examinada) referido por Lorenz e Straub (apud Távora; Birgel, 1987)²¹ foi igual a 0,4095 (IP = 326/796).

Na amostragem estudada nas cinco micro-regiões da Bahia, demonstrou-se que entre os 13 rebanhos avaliados, havia animais soro-reagentes positivos, apesar de nesses rebanhos aplicarem-se modernos conceitos de manejo: com criação semi-intensiva ou intensiva, em pequenas áreas e com rebanhos constituídos por espécimes taurinos ou resultantes de cruzamento desses animais com zebrúinos; o sistema de reprodução era na maioria das vezes, por inseminação artificial e um pequeno número dos rebanhos utilizando monta natural. Nesses criatórios eram freqüentes a introdução de animais de outras regiões e no manejo de criação eram usuais a marcação das espécimes por tatuagem, a descorna e, a palpação retal para o diagnóstico precoce de gestação. Inúmeras dessas normas de manejo e técnicas de criação e/ou melhoramento animal, quando não controladas por buiatria experiente, constituem, segundo especialistas, fatores que poderiam favorecer a disseminação da Leucose Enzoótica dos Bovinos^{4,8,22}.

Na presente pesquisa houve possibilidade de se avaliar a influência dos fatores etários sobre os índices de infecção pelo VLB, observando-se um aumento significativo com o avançar da idade. Entretanto, não houve preocupação em agrupar os resultados segundo o sexo dos animais, pois 99,2% das amostras (790), eram de fêmeas e apenas 0,8% (6) de machos. Os resultados obtidos concordaram com os mencionados por D'Angelino¹⁹ demonstrando maior freqüência de infecção pelo vírus da Leucose dos Bovinos, em animais com mais de 24 meses de idade. Essa ocorrência não deveria ser atribuída à maior susceptibilidade deste animais, e sim, a maior permanência dos bovinos mais velhos nos rebanhos infectados e, por isso, submetidos à uma exposição prolongadas ao agente infectante, sendo sujeitos à infecção.

A maior prevalência da infecção pelo VLB em bovinos leiteiros tem sido atribuída às normas de manejo, principalmente quando intensiva, pois a maior concentração de animais, favorecendo o contato das espécimes, facilita a transmissão horizontal

do vírus por contato, como foi citado por Baumgartener et al.²³ e Távora e Birgel⁴. Por tais razões a prevalência da Leucose Enzoótica dos Bovinos em vacas leiteiras é maior do que no gado de corte.

A avaliação comparativa realizada entre as técnicas para determinação de anticorpos anti-VLB, ou seja, pela utilização da técnica de ELISA e IDGA, com antígeno gp 51 de origem nacional ou importada, verificou-se que os resultados obtidos pelo teste ELISA e IDGA, com antígeno produzido pela Tecpar, foram considerados os mais eficientes, porém tal observação não concordou com afirmações de Basílio, Tavera e Aluja¹⁶ que atribuíram 100% de concordância entre as técnicas ELISA e IDGA. Entretanto, esses autores examinaram pequeno número de amostras, realizando três exames por animal, com intervalo de um mês, utilizando bovinos com antecedentes clínicos e hematológicos de linfocitose persistente indicativos de Leucose Enzoótica dos Bovinos. Brenner, Mosse e Moalem¹⁷ avaliaram comparativamente as provas de IDGA e ELISA no soro

sanguíneo, ELISA no soro sanguíneo e ELISA no leite e IDGA e ELISA no leite, obtendo concordância, respectivamente, 90,3%, 93,2% e 89,6%, afirmando ser a prova de ELISA no soro sanguíneo a mais sensível. Nas amostras de soro sanguíneo de animais criados na Bahia as concordâncias foram de 86,2% , 82,7% e 81,8%, respectivamente, para prova ELISA e IDGA com antígeno preparado pela Tecpar; IDGA com antígeno Tecpar e IDGA com antígeno importado e entre ELISA soro e IDGA com antígeno importado. Esses valores foram relativamente menores do que os referidos por Brenner, Moss e Moalem¹⁷. Molnár et al.¹⁸ ao observarem as diferenças entre os resultados obtidos através ELISA e IDGA, muito evidentes em alguns rebanhos e, em outros os resultados se assemelhavam, porém em todos os casos o teste ELISA demonstrava-se mais sensível. Tais afirmações coincidiram com os resultados referidos na presente pesquisa para o contraste ELISA - IDGA com o antígeno importado e o de origem nacional, permitindo afirmar-se ser o teste ELISA a

Prevalência de animais soro-reagentes para anticorpos anti-VLB detectados pelo teste de ELISA em 13 propriedades do recôncavo baiano, Bahia, 2003

Propriedades	Número de amostras	Amostras não reagentes			
		Amostras soro reagentes		Nº	%
		Nº	%		
1	67	23	34,3	44	65,7
2	39	14	35,9	25	64,1
3	93	44	47,5	49	52,7
4	38	25	65,8	13	34,2
5	74	45	60,8	29	39,2
6	12	06	50,0	06	50,0
7	50	16	32,0	34	68,0
8	92	26	28,3	66	71,7
9	64	04	6,3	60	93,7
10	66	30	45,5	36	54,5
11	97	35	36,1	62	63,9
12	77	43	55,8	34	44,2
13	27	15	55,6	12	44,4
Total	796	326	41,0	470	59,0

Tabela 2 - Influência dos fatores etários sobre a prevalência de anticorpos séricos anti-VLB detectados pelo teste ELISA, em 13 propriedades do recôncavo baiano. Bahia; 2003

Idade (meses)	Nº de amostras avaliadas	Amostras soro reagentes		Amostras não reagentes	
		Nº	%	Nº	%
2 a 6	34	3	8,8	31	91,2
7 a 12	71	12	16,9	59	83,1
13 a 24	158	28	17,7	130	82,3
25 a 48	256	130	50,8	126	49,2
49 a 72	169	92	54,4	77	45,6
> 72	108	61	56,5	47	43,5
	796	326	41,0	470	59,0

Tabela 3 - Avaliação dos resultados soro-imunológicos de Leucose Enzoótica Bovina obtidos nos testes ELISA, Imunodifusão em Gel de Ágar com antígeno importado e Imunodifusão em Gel de Ágar com antígeno nacional*, em 13 propriedades do recôncavo baiano. Bahia; 2003

Propriedades	Nº de Amostras	Amostras soro-reagentes						Amostras não soro-reagentes					
		ELISA		IDGA importado		IDGA nacional*		ELISA		IDGA importado		IDGA nacional*	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	32	9	28,1	5	15,6	10	31,3	23	71,9	27	84,4	22	68,7
2	28	12	42,9	8	28,6	11	39,3	16	57,1	20	71,4	17	60,7
3	46	17	37,0	14	30,4	14	30,4	29	63,0	32	69,6	32	69,6
4	10	8	80,0	9	90,0	9	90,0	2	20,0	1	10,0	1	10,0
5	33	21	63,6	15	45,5	21	63,6	12	36,4	18	54,5	12	36,4
6	12	6	50,0	4	33,3	6	50,0	6	50,0	8	66,7	6	50,0
8	45	19	42,2	9	20,0	15	33,3	26	57,8	36	80,0	30	66,7
9	60	3	5,0	4	6,7	11	18,3	57	95,0	56	93,3	49	81,7
10	50	21	42,0	19	38,0	21	42,0	29	58,0	31	62,0	29	58,0
11	52	12	23,1	9	17,3	12	23,1	40	76,9	43	82,7	40	76,9
12	56	34	60,7	24	42,9	38	67,9	22	39,3	32	57,1	18	32,1
13	10	4	40,0	5	50,0	6	60,0	6	60,0	5	50,0	4	40,0
	434	166	38,2	125	28,8	174	40,1	268	61,8	309	71,2	260	59,9

* Antígeno gp 51 do VLB produzido pela TECPAR

prova mais sensível para detecção de anticorpos anti-VLB. Realmente, na literatura internacional acumularam-se nos últimos anos dados comprovando a maior sensibilidade da prova de ELISA sobre IDGA - Noda Gomes et al.(1992 apud MOLNÁR et al., 1999), Moreno et al.(1992 apud MOLNÁR et al., 1989)¹⁸ e Klintevall et al.²⁴, o que vai de encontro com os da presente pesquisa, na avaliação comparativa do teste de ELISA com os testes de IDGA

com antígenos importado e nacional.

Conclusões

A avaliação dos resultados na presente pesquisa sobre a Leucose Enzoótica dos Bovinos em animais criados no Estado da Bahia, permitiu as seguintes conclusões:

1 - demonstrou-se a ocorrência de infecção pelo vírus da Leucose dos Bovinos em animais leiteiros de 13 rebanhos criados

em cinco micro-regiões da bacia leiteira de Salvador;

2 - a taxa de prevalência foi considerada alta nos rebanhos estudados, atribuindo a disseminação da infecção ao sistema de criação;

3 - as maiores taxas de prevalência de anticorpos anti-VLB foram obtidas nos animais mais velhos, devido a uma exposição prolongada desses animais ao

agente infectante.

4 - O teste de ELISA mostrou-se mais sensível que os testes de IDGA com antígenos importado ou nacional.

5 - a avaliação comparativa entre as três provas estudadas, ELISA e IDGA com antígeno importado, ELISA e IDGA produzido pela Tecpar e, das duas provas de IDGA, os valores de concordância foram superiores entre ELISA e IDGA nacional.

Enzootic bovine leukosis: prevalence of seric antibodies on dairy cows breed at Bahia and comparison between results of ELISA tests and ágar gel immunodiffusion tests

Abstract

The prevalence of infection by the Enzootic Bovine Leukosis virus was determined in dairy cows breed in five micro-regions of Bahia State, comparing the efficiency of three serodiagnostic tests for the detection of antibodies anti Enzootic Bovine Leukosis virus: ELISA test, AGID Immunodiffusion test / gp 51 from foreign origin and AGID Immunodiffusion test / gp 51 produced by the Institute of Technology of Paraná - TECPAR. Seven hundred and ninety-six dairy cattle, from 13 bovine flocks were used. The infection for VLB was detected in every flock, with an prevalence of 41,0%, showing an individual flock value variation between 6,3% (4/64) and 65,8% (25/38). The animals were stratified in six age groups: a) 2 - 6 months; b) 7 - 12 months; c) 13 - 24 months; d) 25 - 48 months; e) 49 - 72 months; f) more than 72 months of age, observing that the indexes of infection in the mentioned groups were 8,8%; 16,9%; 17,7%; 50,8%; 54,4% and 56,5% respectively, showing these indexes increased significantly with age. Were used 434 serum samples were used to evaluate the comparative efficiency of the three serodiagnostic tests, considering ELISA as the standard test. In the comparison between ELISA and IDGA test with antigen of foreign origin, were found a sensibility of 85% and specificity of 80%; a positive predictive value (PPV) of 63% and a negative predictive value (NPV) of 93%, with an agreement index of 81%. Comparatively to the ELISA results, IDGA test with antigen of national origin presented a sensibility of 82%, specificity of 93%, PPV of 79% and NPV of 93%, with an agreement index of 85%. The overall results of these studies suggest that IDGA test with antigen of national origin is sufficiently efficient to its use.

Key-words:

Enzootic Bovine Leukosis.
Antibodies.
ELISA.
Immunodiffusion.

Referências

1 BIRGEL, E. H. Leucose enzoótica dos bovinos adultos: aspectos clínicos e diagnósticos. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. *Patologia clínica veterinária* São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982, p. 249-60.

2 SILVA, S. V. *Leucose enzoótica dos bovinos: prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da leucose*

dos bovinos em rebanhos cruzados - holandês / zebu e em animais da raça Pé-duro, criados no Estado do Piauí. 2001. p. 176. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

3 GARCIA, M.; D'ANGELINO, J. L.; BIRGEL, E. H. Leucose bovina no Brasil. *Comum. Cient. Fac. Med. Vet. Zoot.*, v. 15, n. 1, p. 31-42, 1991.

4 TÁVORA, J. P. F.; BIRGEL, E. H. Prevalência da

- infecção pelo vírus da leucose bovina em rebanhos leiteiros criados na região do pólo de Itabuna, Estado da Bahia. *Arq. Esc. Med. Vet. UFBA.*, Salvador, v. 14, n. 1, p. 164-183, 1991.
- 5 HOUSE, C.; HOUSE, J. A. ; GLOVER, F. L. Antibodies to the glycoprotein antigen of bovine leukemia virus in the cattle population of five states. *Cornell Vet.*, v. 67, n. 4, p. 510-522, 1977.
- 6 BIRGEL, E. H. et al. Considerações sobre a leucose enzoótica dos bovinos adultos em rebanho leiteiro criados no Estado de São Paulo . I Prevalência de soros reagentes. In: SEMANA DE VETERINÁRIA DA FMVZ/ USP. 2., 1983, São Paulo. *Anais...* p. 71.
- 7 CARVALHO, L. **Leucose enzoótica dos bovinos. Prevalência de anticorpos Séricos Anti-Vírus da Leucose Bovina em bovinos da raça Holandesa Preto e Branca e zebuínos da raça Nelore, criados no Polo Regional de Londrina, Estado do Paraná. 1994. 79 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica)**- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.
- 8 BIRGEL JÚNIOR, E. H. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. *Pesquisa Vet. Bras.*, v. 15, n. 4, p. 93-99, 1995.
- 9 CUNHA, R. G.; TEIXEIRA, A .C.; SOUZA, D. M. Antígenos do vírus da Leucose Bovina e anticorpos precipitantes em soros de bovinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 17, n. 9, p. 1363-1370, 1982.
- 10 WINQUIST, G. Die Hämatologie der Tierleukosen. *Monsthefte für Veterinärmedizin*. v. 13, n. 6, p. 161-164, 1958.
- 11 TOLLE, A. Zur Beurteilung quantitativer hämatologischer Befunde im Rahmen der Leukose - Diagnostik beim Rind. *Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B*, v. 12, n. 4, p. 281-290, 1965.
- 12 MILLER, J. M. et al. Vírus like particles in phytohemmagglutinin-stimulated lymphocyte culturas with reference to bovine lymphosarcoma. *J. Nat. Cancer Inst.*, v. 43, n. 6, p. 1297-1305, 1969.
- 13 MALMQUIST, W. A .; MAATEN, M. J. van der ; BOOTHE, A . D. Isolation, immunodifusion, immunofluorescence and electron microscopy of a syncytial virus of lymphosarcomatous and apparently normal cattle. *Cancer Res.*, v. 29, n. 2, p. 188-200, 1969.
- 14 MILLER, J. M.; OLSON, C. Precipitating antibody to na internal antigen of the C type virus associated with bovine lymphosarcoma. *J. Nath. Cancer Inst.*, v. 49, n. 5, p. 1459-1462, 1972.
- 15 ONUMA, M. et al. An ethersensitive antigen associated with bovine leukemia virus infection. *J. Nath Cancer Inst.*, v. 53, n. 3, p. 1155-1158, 1975.
- 16 BASILIO, J. I. M.; TAVERA, F. J. T.; ALUJA, A .S. de. Estudio comparativo entre las pruebas de Elisa e imunodifusión en el diagnóstico de la leucosis enzoótica bovina. *Vet. Méx.*, v. 24, n. 1, p. 21-25, 1993.
- 17 BRENNER, J.; MOSS, S.; MOALEM, U. A comparative study of the Elisa and AGID techniques for the detection of bovine leucosis virus antibodies in bovine serum and milk. *Israel J. Vet. Med.*, v. 49, n. 4, p.165-167, 1994.
- 18 MOLNÁR, E. et al. Ocorrência da leucose enzoótica dos bovinos no Estado do Para, Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 19, n. 1, p. 7-11, 1999.
- 19 D'ANGELINO, J. L. **Leucose enzoótica dos bovinos: estudo retrospectivo da performance produtiva e reprodutiva de animais infectados e não infectados. 1991. 85 p. Tese (Livre Docência)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unversidade de São Paulo, São Paulo, 1991.
- 20 BERQUÓ, E. S.; SOUZA, J. M. P.; GOTLIEB, S. L. **Bioestatística**. São Paulo: Ed. Pedagógica e Universitária, 1981.
- 21 BIRGEL, E.H. In: BURNY, A.; MAMMERICKS, M. **Enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus**. He Hague: Martins Nijhoff, 1987. p. 50-68.
- 22 BIRGEL, E. H. et al. Prevalência da leucose enzoótica dos bovinos em zebuínos da raça nelore, criados no estado de São Paulo. *Arq. Esc. Med. Vet. UFBA.*, Salvador, v. 17, n. 1, p. 55-66, 1994.
- 23 BAUMGARTENER, L. R. et al. Survey for antibodies (C type) virus in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 166, n. 3, p. 249-251, 1975.
- 24 KLINTEVALL, K. et al. Differentiation between enzootic and sporadic bovine leukosis by use of serological and virological methods. *Vet. Rec.*, v. 133, n. 4, p. 272, 1993.