

DETECÇÃO DE ANTICORPOS HETERÓLOGOS CONTRA O VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM CAPRINOS

(DETECTION OF HETEROLOGOUS ANTI BOVINE LEUKEMIA VIRUS ANTIBODIES IN GOATS)

(DETECCIÓN DE ANTICUERPOS HETERÓLOGOS CONTRA EL VÍRUS DE LA LEUCOSIS ENZOÓTICA BOVINA EN CAPRINOS)

S. L. S. LAGES¹, J. L. VESCHI², R. S. CASTRO³, M. G. BUZINARO⁴
B. ALEXANDRINO⁵, I. S. DUTRA⁶, S. I. SAMARA^{7*}

RESUMO

O presente estudo foi idealizado com o intuito de investigar a possibilidade da transmissão do vírus da leucose enzoótica bovina (VLB) para cabritos recém-nascidos amamentados com colostro de vacas soropositivas para leucose enzoótica bovina (LEB). Para tanto, foram utilizados 31 caprinos que foram separados das mães logo após o nascimento, para em seguida receber colostro proveniente de 11 vacas testadas sorologicamente para LEB. Amostras de soro sanguíneo dos caprinos foram colhidas ao 3, 45, 80, 120 e 160 dias de idade e, depois, quando tinham aproximadamente 4 anos. Então, foram feitas as análises laboratoriais por meio do teste da imunodifusão em gel de ágar (IDGA) utilizando o antígeno gp51 para diagnóstico da LEB. Desse modo, constatou-se que uma parte dos cabritos que receberam colostro de vacas soropositivas para LEB estavam reagentes aos 3 dias de idade e negativos nas outras idades. Entretanto, todos os outros que receberam colostro de vacas soronegativas não reagiram nos testes sorológicos. Esses resultados permitiriam supor então que os anticorpos detectados eram de origem colostrálica. Após o declínio da imunidade passiva e na vida adulta, nenhum caprino soroconverteu. Portanto, pôde-se concluir que o colostro de vacas soropositivas para LEB não foi considerado um meio eficiente para a transmissão do VLB.

PALAVRAS-CHAVE: Vírus da leucose enzoótica bovina. Leucose enzoótica bovina. Anticorpos heterólogos. Caprinos.

SUMMARY

In this study, we investigated the possibility of the transmission of bovine leukemia virus (BLV) to newborn goat kids fed with colostrum obtained from enzootic bovine leukosis (EBL) seropositive cows. Thirty-one kids were separated from their dams at birth and they were fed with colostrum obtained from 11 cows serologically tested for EBL. Serum samples were collected from kids at 3, 45, 80, 120 and 160 days of age and, afterwards, at approximately 4 years of age to detect anti-BLV antibodies by agar gel immunodiffusion test (AGID). The BLV glycoprotein gp51 was used as antigen in the AGID test. It was found that serum antibodies were detected in most of kids fed with colostrum from seropositive cows

1 Aluna do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista – *Campus* de Jaboticabal

2 Pesquisadora EMBRAPA Semi-árido

3 Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

4 Professor Assistente Doutor do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista - *Campus* de Jaboticabal

5 Aluna do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista – *Campus* de Jaboticabal.

6 Professor Adjunto do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – Universidade Estadual Paulista – *Campus* de Araçatuba.

7 Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista – *Campus* de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n - Jaboticabal - SP - 14884-900 - E-mail: samara@fcav.unesp.br



and they were detected only at the age of 3 days. However, all kids that were fed with colostrum from EBL seronegative cows, were seronegative for all evaluated ages. Results indicated that the detected anti-BLV antibodies were antibodies from colostrum. Even after the decline of passive immunity until adult life, no goat seroconverted. Therefore, colostrum from EBL seropositive cows was not considered an efficient transmission route for BLV to newborn goat kids.

KEY WORDS: Bovine leukemia virus. Enzootic bovine leukosis. Heterologous antibodies. Goats.

RESUMEN

Este estudio fue idealizado con el propósito de investigar la posibilidad de transmisión del virus de la leucosis enzoótica bovina (VLB) para cabritos recién nacidos amamantados con el calostro de vacas seropositivas para la leucosis enzoótica bovina (LEB). Fueron utilizados 31 caprinos, que eran separados de las madres luego después del nacimiento, y en seguida recibían calostro proveniente de 11 vacas positivas para LEB. Muestras de suero sanguíneo de los caprinos fueron colectadas a los 3, 45, 80, 120 y 160 días de edad y después cuando estaban con aproximadamente 4 años. Fueron realizados análisis laboratoriales por medio del "test" de inmunodifusión en gel de agar (IDGA) utilizando antígeno gp51 para el diagnóstico de la LEB. De este modo, se constató que una parte de los cabritos que recibieron calostro de vacas positivas para LEB estaban reactivos a los 3 días de edad y negativos en las otras edades. Sin embargo, todos los otros animales que recibieron calostro de vacas seronegativas no tuvieron reacción en los "tests" serológicos. Esos resultados nos permiten creer que los anticuerpos detectados eran de origen calostroal. Después de la disminución de la inmunidad pasiva y en la vida adulta, ningún caprino tuvo conversión serológica. Por tanto, se puede concluir que el calostro de vacas positivas para LEB no puede ser considerado un medio eficiente para la transmisión viral.

PALABRAS-CLAVE: Virus de la leucosis enzoótica bovina. Leucosis enzoótica bovina. Anticuerpos heterólogos. Caprino.

INTRODUÇÃO

O vírus da leucose enzoótica bovina (VLB), pertencente à família *Retroviridae* e ao gênero *Deltaretrovirus* (AMORIL, 2005), é o agente etiológico da leucose enzoótica bovina (LEB), enfermidade infectocontagiosa caracterizada pela leucemia linfática crônica (BURNY et al., 1985) e linfossarcoma. Apesar dos bovinos serem os hospedeiros primários e a espécie mais suscetível, é conhecido que o VLB possui a capacidade de infectar, *in vitro*, células de muitas outras espécies animais, inclusive as do homem (DAHLBERG, 1988). Pela infecção experimental, o VLB produz efeito patogênico também em várias espécies animais, como, por exemplo, ovinos, caprinos e algumas espécies não-ruminantes (BURNY et al., 1985, LEITE et al., 2001), tanto é que Olson et al. (1981) detectaram em caprinos inoculados experimentalmente com o VLB anticorpos persistentes e linfócitos, que, quando cultivados, produziam partículas virais. Também foi relatado o desenvolvimento de linfossarcoma nos caprinos desse mesmo trabalho.

Por outro lado, é comum na caprinocultura mais tecnificada administrar colostro e leite de vacas, não pasteurizados, para recém-nascidos como medida de prevenção da Artrite-Encefalite Caprina (CAE), haja vista que é por meio da amamentação que normalmente a cabra transmite essa temida enfermidade para a sua cria (ROWE & EAST, 1997). Porém, como o colostro e o leite

de vacas infectadas com o VLB são formas conhecidas de transmissão direta da LEB (JOHNSON et al., 1985), decidiu-se, desse modo, investigar no presente estudo, a possibilidade da transmissão do VLB para cabritos recém-nascidos através do colostro de vacas soropositivas para LEB.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais – Foram utilizadas 31 caprinos jovens das raças Saanen e Alpina, oriundos de propriedade rural leiteira tecnificada, situada no município de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo. Todos foram separados das mães, imediatamente após o nascimento, garantindo-se assim a não ingestão do colostro materno.

Para a obtenção do colostro heterólogo, foram utilizadas 11 vacas da raça holandesa, pluríparas de 3ª ou 4ª lactação, oriundas de propriedade rural situada no município de Araçatuba, Estado de São Paulo. As vacas foram mantidas em sistema de criação semi-intensivo, recebendo tratamento com antiparasitários e vacinações contra a febre aftosa, conforme o calendário oficial.

Administração de colostro aos caprinos – Nas primeiras horas após o nascimento, administraram-se para cada animal até 280 mL de colostro heterólogo, previamente descongelado em temperatura ambiente e

aquecido em banho-maria à temperatura de 36°C. No total, os animais receberam quatro mamadeiras de colostro, com cinco a seis horas de intervalo entre elas. As duas primeiras mamadeiras foram do colostro armazenado da primeira ordenha da vaca logo após o parto, e as duas que se seguiram, do colostro da segunda ordenha, sempre das mesmas doadoras.

Durante o experimento, os caprinos foram mantidos em sistema de criação intensivo, nas condições usuais de manejo da propriedade. Após o período de alimentação com colostro, as crias receberam do terceiro até o 60º dia, um sucedâneo lácteo comercial para bezerros e ração comercial concentrada também para bezerros. Todos os animais foram desmamados aos 60 dias de vida.

Amostras de sangue - As colheitas de sangue dos caprinos do experimento foram realizadas por punção da veia jugular nos dias 3, 45, 80, 120 e 160 após o nascimento e, por fim, com aproximadamente 4 anos de idade. A colheita de sangue das vacas foi realizada logo após o parto. Todas as amostras de sangue obtidas permaneceram em repouso à temperatura ambiente até a retração do coágulo. Após esse período, as amostras foram centrifugadas para a completa separação do soro sangüíneo. Depois, o soro foi acondicionado em frascos tipo eppendorf, identificados e armazenados em freezer à temperatura de aproximadamente -20°C até o momento de sua utilização. No total, foram colhidas 156 amostras de soro de caprinos e 11 de soro de vacas.

Teste sorológico - Todas as amostras de soro sangüíneo foram analisadas pelo teste da imunodifusão em gel de ágar (IDGA) utilizando o kit comercial para diagnóstico da leucose enzoótica bovina, tendo como antígeno a fração gp51 do vírus. Os procedimentos laboratoriais e interpretação dos resultados foram feitos de acordo com o protocolo do fabricante.

RESULTADOS

Todos os caprinos que foram amamentados com colostro de vacas soronegativas para LEB, que foram os animais de número 1 ao 9, apresentaram, no teste da IDGA, resultados negativos em todas as pesquisas até os 4 anos de idade aproximadamente (Tabela 1). Entretanto, parte daqueles que receberam colostro de vacas soropositivas, quais sejam, os animais de números 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 e 31 estavam soropositivos aos 3 dias de idade (18/22 ou 81,8%), e negativos aos 45, 80, 120, 160 dias e aos 4 anos de idade aproximadamente (Tabela 2). Já os caprinos de números 10, 17, 18 e 30 foram soronegativos em todas as idades avaliadas, mesmo tendo recebido colostro de doadoras soropositivas.

O vírus da leucose enzoótica bovina é o agente etiológico responsável por causar leucemia linfática crônica (BURNY et al., 1985). Apesar de acometer principalmente os bovinos (DAHLBERG, 1988), pode acometer caprinos e ovinos, pois a transmissão do VLB de bovinos para essas duas espécies animais já foi relatada em pesquisa realizada anteriormente (RESSANG, 1976). Em um extenso trabalho de revisão, Leite et al. (2001) relataram que o leite e o colostro são meios de transmissão para o VLB, só que com eficiência relativa em bovinos. Conforme observações de Van Der Maaten et al. (1981), tal fato pode ocorrer devido à proteção conferida aos bezerros por anticorpos de origem colostrálica, até mesmo naqueles animais submetidos à infecção experimental por via oral com colostro contendo grandes quantidades de linfócitos infectados com o vírus. Mas, segundo os mesmos autores, bezerros que receberam colostro desprovido de anticorpos contra o VLB se infectaram.

Como existem os anticorpos contra o VLB que são neutralizantes, e sendo o colostro de vacas infectadas rico nessas imunoglobulinas, acredita-se que esses anticorpos previnam a infecção em bezerros recém-nascidos (VAN DER MAATEN, 1981, FERRER & PIPER, 1981). Com esse enfoque, também há relatos sobre cordeiros recém-nascidos que não se infectaram com o VLB após exposição por via oral de cultura de linfócitos infectados (HOSS & OLSON, 1974). Possivelmente, as explicações de tal proteção contra essa forma de transmissão para diferentes espécies animais já estudadas sejam válidas também para os caprinos recém-nascidos que receberam colostro de vacas infectadas rico em anticorpos, induzindo, conseqüentemente, resultados soronegativos nas idades mais avançadas dos animais desta pesquisa.

Outro fator observado no presente trabalho foram os caprinos soropositivos nos testes de IDGA aos três dias que se tornaram soronegativos nas demais idades, o que possibilita supor que esses anticorpos detectados foram de origem colostrálica. Em estudo sobre a duração de anticorpos colostrálicos anti-BLV em bezerros nascidos de vacas infectadas, constatou-se que a média de duração desses anticorpos, quando medidos pela IDGA, foi de 3,8 meses, sendo a mínima de dois meses e a máxima de seis (BURRIDGE et al., 1982). No presente estudo, os anticorpos colostrálicos não mais foram detectados nas amostras colhidas aos 45 dias de vida, duração bem menor de que os achados mencionados para bezerros, o que se pode cogitar por ser anticorpos heterólogos. Nas demais idades, todos os caprinos foram soronegativos no teste, indicando que o VLB não conseguiu infectá-los. Tudo porque, em caso de infecção viral, pelo menos alguns caprinos teriam produzido anticorpos contra o VLB (OLSON et al., 1981), assim como ocorre também em bovino infectado (FER-

RER, 1979). Quanto aos caprinos que receberam colostro de vacas soropositivas, mas que foram soronegativos aos 3 dias de idade, supõe-se que a quantidade de anticorpos transferidos de forma passiva não tenha sido suficiente para atingir o limiar de detecção da prova de IDGA ou já tinham reagido com eliminação de antígenos virais, evi-

tando inclusive a infecção dos recém-nascidos. Portanto, os resultados obtidos no presente estudo, mostraram que o colostro de vacas soropositivas para LEB não pôde ser considerado um meio eficiente para a transmissão do vírus por via oral em caprinos.

TABELA 1 - Resultados do teste sorológico de imunodifusão em gel de ágar para a detecção de anticorpos contra o vírus da leucose enzoótica bovina em caprinos amamentados com colostro heterólogo de vacas soronegativas no exame.

<i>Identificação dos animais</i>		Idade dos caprinos receptores					
Vacas doadoras	Caprinos receptores	3 dias	45 dias	80 dias	120 dias	160 dias	4 anos
		A	1	-	-	-	-
A	2	-	-	-	-	-	nt
A	3	-	-	-	-	-	-
B	4	-	-	-	-	nt	-
C	5	-	-	-	-	nt	-
C	6	-	-	-	-	-	-
C	7	-	-	-	-	-	nt
D	8	-	-	-	-	-	-
D	9	-	-	-	-	-	nt
Reagentes / Examinados		0/9	0/9	0/9	0/9	0/6	0/5

(-) - negativo nt - não testado

Tabela 2 - Resultados do teste sorológico de imunodifusão em gel de ágar para a detecção de anticorpos contra o vírus da leucose enzoótica bovina em caprinos amamentados com colostro heterólogo de vacas soropositivas no exame.

Identificação dos animais		Idade dos caprinos receptores					
Vacas doadoras	Caprinos receptores	3 dias	45 dias	80 dias	120 dias	160 dias	4 anos
E	10	-	-	-	-	-	-
E	11	+	-	-	-	-	nt
E	12	+	-	-	-	-	-
E	13	+	-	-	-	-	nt
F	14	+	-	-	-	-	nt
F	15	+	-	-	-	nt	-
F	16	+	-	-	-	nt	-
G	17	-	-	-	-	-	nt
G	18	-	-	-	-	-	-
H	19	+	-	-	-	nt	nt
H	20	+	-	-	-	nt	-
H	21	+	-	-	-	nt	nt
H	22	+	-	-	-	nt	nt
H	23	+	-	-	-	nt	-
I	24	+	-	-	-	-	-
I	25	+	-	-	-	nt	nt
I	26	+	-	-	-	-	nt
J	27	+	-	-	-	nt	-
J	28	+	-	-	-	-	nt
J	29	+	-	-	-	nt	-
J	30	-	-	-	-	nt	nt
K	31	+	-	-	-	-	nt
Reagentes / Examinados		18/22	0/22	0/22	0/22	0/11	0/10

(-) - negativo (+) - positivo nt - não testado

CONCLUSÃO

Alguns caprinos que receberam colostro de vacas soropositivas para LEB, foram soropositivos, no teste da IDGA, aos 3 dias de idade e negativos nas maiores idades. Essa soropositividade só pôde ser explicada pela imunidade transferida pelo colostro heterólogo. Nas idades mais avançadas e após o declínio da imunidade passiva, nenhum caprino se infectou mesmo tendo mamado colostro de vacas soropositivas. Devido à escassez de estudos sobre a LEB em caprinos, outros estudos a respeito devem ser feitos para esclarecer melhor os riscos sanitários antes da implementação de qualquer modificação no manejo do rebanho.

ARTIGO RECEBIDO: Agosto/2006
APROVADO: Novembro/2007

REFERÊNCIAS

- AMORIL, J. G. **Leucose enzoótica bovina: epidemiologia e diagnóstico em animais abatidos no Estado de Goiás**. Jaboticabal, SP. 2005. 161f. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.
- BURRIDGE, M. J., THURMOND, M. C., MILLER, J. M., SCHMERR, M. J. F., VAN DER MAATEN, M. J. Duration of colostrum antibodies to bovine leukemia virus by two serologic tests. **American Journal of Veterinary Research**, v.43, p.1866-7, 1982.
- BURNY, A., BRUCK, C., CLEUTER, Y., COUEZ, D., DESCHAMPS, J., GHYSDAEL, J., GRÉGOIRE, D., KETTMANN, R., MAMMERICKX, M., MARBAIX, G., PORTETELLE, D., WILLEMS, L. Bovine leukemia virus, a versatile agent with various pathogenic effects in various animal species. **Cancer Research Supplement**, v.45, p.4578s-82s, 1985.

DAHLBERG, J. E. An overview of retrovirus replication. **Advances Veterinary Science Compedium Medical**, v.32, p.1-35, 1988.

FERRER, J. F. Bovine leukosis: natural transmission and principles of control. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.175, p.1281-6, 1979.

FERRER, J. F., PIPER, C. E. Role of colostrum and milk in the natural transmission of the bovine leukemia virus. **Cancer Research**, v.41, p.4906-9, 1981.

HOSS, H. E., OLSON, C. Infectivity of bovine C-type (leukemia) virus for sheep and goats. **American Journal of Veterinary Research**, v.35, p.633-7, 1974.

JOHNSON, R., GIBSON, C. D., KANEENE, J. B. Bovine leukemia virus: a herd-based control strategy. **Preventive Veterinary Medicine**, v.3, p.339-49, 1985.

LEITE, R. C., LOBATO, Z. I. P., CAMARGOS, M. F. Leucose enzoótica bovina. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v.24, p.20-8, 2001.

OLSON, C., KETTMANN, R., BURNY, A., KAJA, R. Goat lymphosarcoma from bovine leukemia virus. **Journal of National Cancer Institute**, v.67, p.671-5, 1981.

RESSANG, A. A. Transmission experiments with EBL virus in sheep and goats. **Veterinary Microbiology**, v.1, p.359, 1976.

ROWE, J. D., EAST, N. E. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.13, p.35-51, 1997.

VAN DER MAATEN, M. J., MILLER, J. M., SCHMERR, M. J. F. Effect of colostral antibody on bovine leukemia virus infection of neonatal calves. **American Journal of Veterinary Research**, v.42, p.1498-1500, 1981.