

Estudos sobre a transmissão congênita do vírus da leucose linfóide aviária¹

Francisco S. Rocha², Carlos H. Romero³, Cheryl A. Rowe³, Angela G. Silva⁴, Osvaldo A. Resende⁵, Paulo G.O. Dias⁵ e Maria W. Santos⁵

ABSTRACT.- Rocha F.S., Romero C.H., Rowe C.A., Silva A.G., Resende O.A., Dias P.G.O. & Santos M.W. 1981. [Studies on the congenital transmission of avian lymphoid leukosis virus.] Estudos sobre a transmissão congênita do vírus da leucose linfóide aviária. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 1(1):37-42. Escola de Medicina Veterinária do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Bairro Tirirical, São Luís, MA 65000, Brazil.

White Leghorn hens from two commercial lines were identified as shedders or non-shedders of the lymphoid leukosis virus (LL) using the micro-complement fixation test. This test detected the group-specific antigen (gs-ag) of the leukosis/sarcoma group of viruses when used directly on the albumen of unincubated fresh eggs. It was found that 21.4% of line A hens and 17.2% of line B hens eliminated gs-ag into their eggs. Sequential studies of the elimination of the gs-ag, demonstrated that infected hens can be either intermittent or consistent shedders of this antigen in their eggs. Electron microscopy studies demonstrated the presence of type-C viral particles in the pancreas and in the magnum of the oviduct of hens that had consistently shed the gs-ag in the egg albumen. The indirect immunofluorescence test detected gs-ag in the cytoplasm of peripheral blood leucocytes and was used to detect infected roosters that were utilized as semen donors. Artificial insemination of non-shedder hens with semen obtained from infected roosters resulted in the shedding of gs-ag into the eggs of one of the hens. Moreover, there was seroconversion in 11 of the 26 hens from both lines, inseminated with semen from the infected roosters. It was concluded that LL virus infection could be introduced, through insemination, to non-infected hens using semen from infected roosters.

INDEX TERMS: Congenital transmission, virus, avian lymphoid leukosis.

RESUMO.- A microprova de fixação do complemento permitiu a identificação de galinhas Leghorn brancas das linhagens A e B infectadas com o vírus da leucose linfóide aviária (LL). Esta prova detectou o antígeno específico (ag-gs) do vírus do grupo leucose/sarcoma aviário quando foi utilizada diretamente na albumina de ovos frescos não incubados. Encontrou-se que 21,4% das galinhas da linhagem A e 17,2% das galinhas da linhagem B do plantel geral eliminavam ag-gs nos seus ovos. Foi demonstrado também que as galinhas infectadas podem eliminar ag-gs nos ovos, constantemente ou intermitentemente. Estudos realiza-

dos com o microscópio eletrônico demonstraram a presença de partículas virais do tipo C no pâncreas e na porção do magnum do oviduto de galinhas que tinham eliminado ag-gs do vírus da LL constantemente na albumina dos ovos. A técnica de imunofluorescência indireta detectou ag-gs no citoplasma de leucócitos de aves portadoras e foi utilizada para identificar galos infectados a serem usados como doadores de sêmen. A inseminação de galinhas não eliminadoras de ag-gs do vírus da LL com sêmen de galos portadores resultou na eliminação de ag-gs nos ovos de uma das galinhas inseminadas. Mais ainda, houve uma conversão sorológica, em 11 das 26 galinhas das linhagens A e B após serem inseminadas com sêmen de galos portadores, demonstrando-se assim a participação do galo como introdutor da infecção via sêmen.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Transmissão congênita, vírus, leucose linfóide aviária.

INTRODUÇÃO

A leucose linfóide (LL) é uma neoplasia do tecido linfóide das aves causada por vírus tumorais RNA, também denominados

¹ Aceito para publicação em 30 de outubro de 1980.

² Escola de Medicina Veterinária do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Bairro Tirirical, São Luís, Maranhão 65000.

³ Projeto Sanidade Animal, Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23890-000.

⁴ Departamento de Virologia, Instituto de Microbiologia, UFRJ, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, 21910.

⁵ Projeto Aves, EEI/PESAGRO, Km 47, Seropédica, RJ 23460.

oncornavírus (Temin 1974). Estes vírus são classificados no grupo leucose/sarcoma por possuírem em comum um antígeno específico de grupo (ag-gs), o qual é detectado na prova de fixação do complemento para os vírus da leucose aviária (COFAL) (Sarma et al. 1964).

Os vírus da LL são transmitidos, congenitamente, de galinhas infectadas a sua progênie e desta forma garantem sua perpetuação de geração a geração (Rubin et al. 1961). Quando porções do magnum do oviduto são estudadas, com o microscópio eletrônico, podem-se observar grandes quantidades de partículas virais do tipo C livres e em gemulação nas células produtoras de albumina (DiStefano & Dougherty 1965). Estes achados culminaram com o desenvolvimento de testes laboratoriais mais exatos e sensíveis, como a prova de mistura fenotípica para detectar vírus infecciosos da LL na albumina, e a prova de fixação do complemento modificada para detectar ag-gs, também na albumina de ovos frescos não incubados (Spencer et al. 1976, Romero 1977).

O desenvolvimento destes últimos métodos práticos tem incrementado a elaboração de programas dirigidos, a controlar e eventualmente a erradicar os vírus da LL (Okazaki et al. 1979, Romero et al. 1979). As vantagens de dispor de progênies livres da infecção dos vírus da LL são múltiplas, i.e., disponibilidade de ovos embrionados isentos de vírus oncogênicos para a preparação de vacinas para uso humano e animal, e de ovos de melhor qualidade para pesquisas biológicas, e incremento potencial da produtividade de ovos e carne de aves.

O presente estudo foi dirigido para avaliar diversos parâmetros que poderiam influenciar a transmissão congênita de ag-gs dos vírus da LL, como indicador da infecção. Foram analisados diversos parâmetros relacionados com a transmissão congênita dos vírus da LL, utilizando-se como critério a presença de seu ag-gs na albumina de ovos frescos não incubados, visando a adquirir conhecimentos que permitam mais eficiente metodologia a ser utilizada na demonstração de aves infectadas em programas de erradicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Aves

As aves utilizadas eram da raça Leghom branca das linhagens A e B (Cunha Filho & Monteiro 1971) do Projeto Aves da Estação Experimental de Itaguaí, Pesagro-Rio. Estas linhagens têm sido mantidas durante, aproximadamente, 25 anos através de seleção pela progênie e posteriormente em duas fases de seleção recíproca.

Alojamentos

As aves foram criadas no chão, em galpão convencional de tipo comercial, durante as primeiras 16 semanas de idade. No início do presente trabalho, as aves selecionadas foram identificadas e colocadas em gaiolas individuais para o controle das observações feitas em cada uma delas. Todas as aves tinham sido vacinadas contra as doenças do Marek e de Newcastle e contra o epiteloma contagioso das aves, com vacinas comerciais preparadas em ovos COFAL negativos.

Culturas celulares

Culturas celulares de fibroblastos de embrião de galinha (FEG) foram preparadas segundo a técnica descrita por Solomon (1975). O

meio de cultura para a propagação, crescimento e manutenção de FEG era uma mistura de HAM'S F-10 e 199 (Microbiological Associates, Bethesda, MD, USA) contendo 4% de soro de bezerro, penicilina 100 U/ml, estreptomicina 100 µg/ml e micostatina 25 U/ml de meio de cultura (meio de crescimento). O meio de manutenção era o mesmo contendo apenas 2% de soro de bezerro. Os leucócitos para culturas foram obtidos por choque hipotônico de sangue periférico heparinizado e cultivados a 37°C durante 24 horas em seu plasma original.

Teste de fixação do complemento

Foi utilizada a prova de fixação do complemento para os vírus do grupo leucose/sarcoma aviário, originalmente descrita por Sarma et al. (1964) e modificada para ser utilizada em albumina (Spencer et al. 1976, Romero 1977). Cada albumina foi rotineiramente testada nas diluições de 1:2 a 1:4. O anti-soro de referência foi produzido em coelhos pela inoculação de vírus de mieloblastose aviária purificado (Smith 1977).

Teste de imunofluorescência

Foi utilizada a prova de imunofluorescência indireta sobre culturas de leucócitos de 24 horas (Romero et al. 1981). O anti-soro de referência foi o mesmo utilizado para a prova de fixação de complemento, enquanto que o anti-soro marcado com FITC contra IgG de coelho foi obtido comercialmente (Miles-Yeda Ltda, Rehovet, Israel).

Teste de imunodifusão

Anticorpos contra o vírus da LL foram detectados utilizando-se a microprova de imunodifusão previamente descrita (Romero et al. 1979). Os antígenos referências constituíam-se de fluidos obtidos de FEG infectados congenitamente com vírus da LL e concentrados 100 vezes por diálise em polietilenoglicol 6.000 (Sigma Chemical Co., St Louis, Mo, USA). O anti-soro de referência foi um soro de galinha que dava reação de identidade com anti-soros específicos contra RAV-1 e BH-RSV (RAV-1), ambos pertencentes ao subgrupo A do complexo leucose/sarcoma, e uma linha de precipitação com o antígeno padrão.

Microscopia eletrônica

Fragmentos de, aproximadamente, 1 mm³ de pâncreas e de magnum do oviduto de 2 galinhas portadoras da linhagem A (A +), de 1 galinha portadora da linhagem B (B +), de 1 galinha não portadora da linhagem A (A -) e de 1 galinha não portadora da linhagem B (B -) foram coletados, diretamente, em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,2 M pH 7,4. As amostras foram fixadas em tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato e incluídas em Epon 812. Os cortes foram realizados em ultramicrotomo Porte Blum M T2-B (Sorvall Inc. Newton, Conn., USA) e contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo (Reynolds 1963). As observações foram feitas em microscópio eletrônico Philips 301, com voltagem de 80 quilovolts.

Papel da galinha na transmissão de ag-gs da LL

Um ovo de cada uma de 42 galinhas da linhagem A e de 58 galinhas da linhagem B foi testado para a presença de ag-gs do vírus da LL, na prova de fixação do complemento. Após a identificação das galinhas positivas e negativas para o ag-gs, 9 galinhas A +, 10 galinhas B + e 10 galinhas de cada linhagem A- e B- foram sangradas para determinar a presença de anticorpos no soro pelo teste de imunodifusão. Os ovos de todas estas galinhas foram coletados, duas vezes por dia, durante oito semanas e imediatamente resfriados a 4°C. Aproximadamente 2 ml de albumina de cada ovo eram aspirados com uma pipeta de Pasteur, colocados em frasquinhos individuais e congelados até uma semana antes de serem testados para presença

de ag-gs do vírus da LL. Ao final das oito semanas de postura, as aves foram sangradas novamente para determinar a presença de anticorpos no soro.

Papel do galo na transmissão congênita de ag-gs do vírus da LL

Galos portadores e não portadores dos vírus da LL foram identificados utilizando-se a prova indireta de imunofluorescência nas culturas de seus leucócitos. Foram utilizados 6 galos da linhagem A descendentes de galinhas eliminadoras constantes de ag-gs, 6 galos da mesma linhagem descendentes de galinhas não eliminadoras de ag-gs e 40 galos da linhagem B sem conhecimento do estado virológico das matrizes. Após a identificação dos galos portadores e não portadores, 3 galos portadores e 3 galos não portadores, de cada linhagem A e B, foram preparados e treinados para a coleta de sêmen. 22 galinhas da linhagem A- e 30 galinhas da linhagem B- foram selecionadas com base na negatividade de um ovo ao ag-gs e sangradas para determinar a presença de anticorpos contra o vírus da LL no soro. Onze galinhas A- e 15 galinhas B- foram inseminadas artificialmente, três vezes por semana, durante quatro semanas, com um "pool" de sêmen dos 3 galos portadores das mesmas linhagens. Concomitantemente, 11 galinhas A- e 15 galinhas B- foram, também, inseminadas artificialmente três vezes por semana, durante quatro semanas, com um "pool" de sêmen dos galos não portadores das mesmas linhagens. A partir da segunda inseminação, todos os ovos das galinhas em experimentação foram coletados, duas vezes por dia, durante quatro semanas, e testados para a presença de ag-gs do vírus da LL. Após a quarta semana, as galinhas foram sangradas novamente e os soros testados para a presença de anticorpos contra o vírus da LL.

RESULTADOS

Papel da galinha na transmissão congênita de ag-gs do vírus da LL

Novo (21,4%) das 42 galinhas da linhagem A e 10 (17,2%) das 58 galinhas da linhagem B foram identificadas como portadoras do vírus da LL por produzir ovos cujas albuminas continham ag-gs. As 9 galinhas A + produziram 110 ovos dos quais 102 (92,7%) continham ag-gs. Das 9 galinhas, 8 eram eliminadoras constantes de ag-gs enquanto que 1 galinha produzia tanto ovos infectados como não infectados. As 10 galinhas A- produziram 178 ovos no mesmo período. Nenhum destes ovos continha ag-gs (Quadro 1). As 10 galinhas B + produziram 174 ovos, dos

quais 141 (81,0%) continham ag-gs. Das 10 galinhas, 8 eram eliminadoras constantes de ag-gs, 1 era eliminadora intermitente enquanto que a outra não demonstrou ag-gs nos ovos produzidos durante as oito semanas de experimentação. As 10 galinhas B- produziram 132 ovos no mesmo período. Nenhum destes ovos continha ag-gs (Quadro 1).

Detecção de anticorpos

A situação sorológica individual das 39 galinhas avaliadas, nesta fase experimental, foi a mesma, tanto no início como no final das oito semanas de experimentação. Anticorpos contra o vírus da LL do subgrupo A foram detectados, em 2 das 8 galinhas A + e em 1 das 8 galinhas B + que eliminaram ag-gs constantemente na albumina de seus ovos. Estes anticorpos foram também evidenciados em 7 das 10 galinhas A- e em 8 das 10 galinhas B-, que não eliminaram ag-gs (Quadro 2). Os mesmos anticorpos foram demonstrados em 1 galinha B + eliminadora intermitente e em 1 galinha B + não eliminadora de ag-gs.

Microscopia eletrônica

Amostras de pâncreas e da porção do magnum do oviduto de 2 galinhas A + e de 1 galinha B +, ambas eliminadoras constantes de ag-gs do vírus da LL na albumina de seus ovos, continham grande número de partículas virais do tipo C. Estas partículas virais eram visualizadas na porção apical das células acinares do pâncreas (Fig. 1 e 2) e entre as células epiteliais do magnum do oviduto (Fig. 3 e 4). Por outro lado, em amostras de pâncreas e de oviduto de 1 galinha A- e de galinha B-, ambas não eliminadoras de ag-gs, não foram observadas partículas virais do tipo C.

Papel do galo na transmissão congênita de ag-gs do vírus da LL

Cinco de 6 galos da linhagem A, progênie de galinhas infectadas, foram identificados como portadores na prova de imunofluorescência indireta realizada nos próprios leucócitos. Os 6 galos da mesma linhagem, progênie de galinhas não infectadas, foram todos negativos. Dos 40 galos da linhagem B examinados, 3 foram identificados como portadores, enquanto que 37 foram identificados como não portadores. Com exceção das galinhas A- inseminadas com o "pool" de sêmen de galos

Quadro 1. Frequência da transmissão congênita do antígeno específico de grupo (ag-gs) do vírus da leucose linfóide (LL) aviária

Linhagem ^a	Transmissão congênita de ag-gs ^b			Total eliminadoras
	Eliminadoras	Eliminadoras constantes	Não intermitentes	
A+	98/98(8) ^c	4/12(1)	0/0(0)	102/110(9)
A-	0/0(0)	0/0(0)	0/178(10)	0/178(10)
B+	140/140(8)	1/10(1)	0/24(1)	141/174(10)
B-	0/0(0)	0/0(0)	0/132(10)	0/132(10)

^a Galinhas identificadas como portadoras (A +, B +), ou não portadoras (A-, B-) com base na presença de ag-gs do vírus da LL no primeiro ovo testado.

^b Galinhas e sua produção de ovos classificadas com base na eliminação constante, intermitente ou não eliminação de ag-gs do vírus da LL na albumina.

^c N^o de ovos positivos ao ag-gs/N^o de ovos testados (N^o de galinhas).

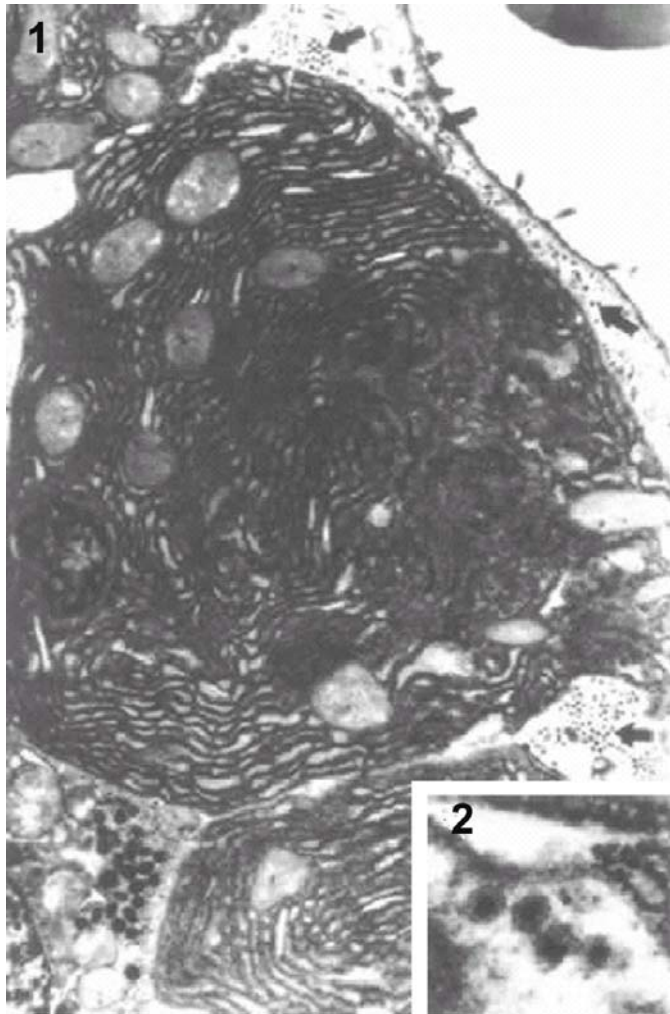


Fig.1. Micrografia eletrônica de um corte ultrafino de pâncreas de uma galinha eliminadora constante de antígeno específico de grupo do vírus da leucose linfóide. As setas indicam áreas de maior concentração de partículas virais localizadas nos espaços intercelulares das células pancreáticas. Aumento 7500x.

Fig.2. Partículas virais da Figura 1, com maior aumento, evidenciadas como do tipo C. Aumento 45000x.

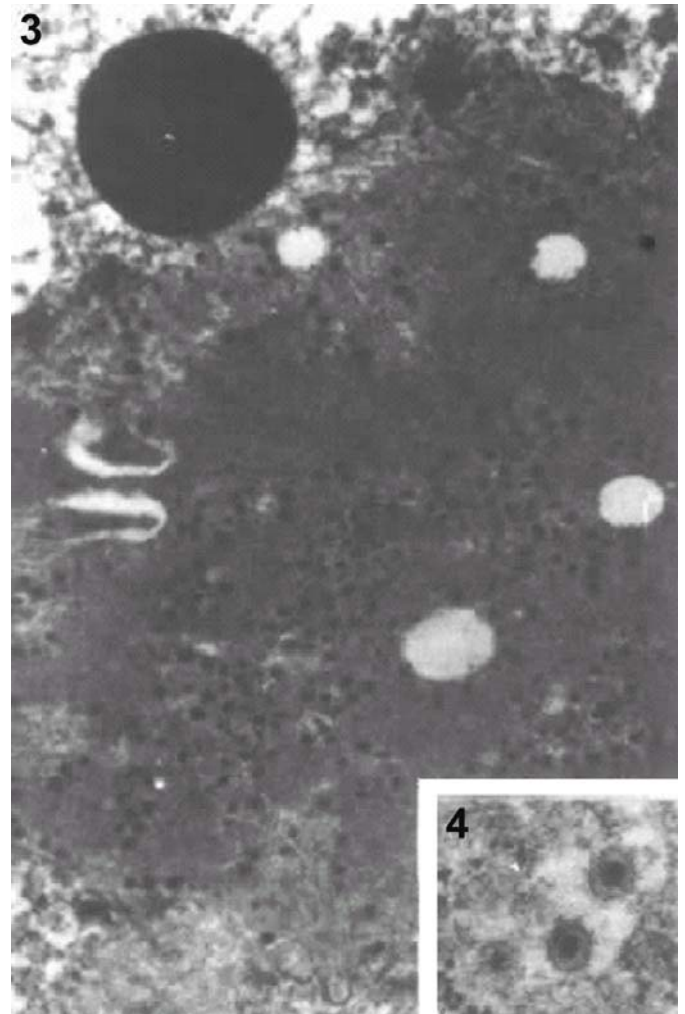


Fig.3. Micrografia eletrônica de um corte ultrafino da porção do magnum do oviduto de uma galinha eliminadora constante de antígeno específico de grupo do vírus da leucose linfóide. Observa-se um grande número de partículas virais nas glândulas produtoras de albumina. Aumento 17500x.

Fig.4. Partículas virais da Figura 3, com maior aumento, evidenciadas como do tipo C. Aumento 60000x.

Quadro 2. Anticorpos precipitantes no soro de galinhas portadoras e não portadoras do vírus da leucose linfóide (LL) aviária

Linhagem ^a	Transmissão congênita de ag-gs ^b		
	Eliminadoras constantes	Eliminadoras intermitentes	Não eliminadoras
A+	2/8 ^c	0/1	0/0
A-	0/0	0/0	7/10
B+	1/8	1/1	1/1
B-	0/0	0/0	8/10

^a Galinhas identificadas como portadoras (A +, B +) ou não portadoras (A -, B -) com base na presença de ag-gs do vírus da LL no primeiro ovo testado.

^b Galinhas e sua produção de ovos classificadas com base na eliminação constante, intermitente ou não eliminação de ag-gs do vírus da LL na albumina.

^c Nº de galinhas com anticorpos no soro durante as oito semanas de experimentação/Nº de galinhas em experimentação.

portadores, todas as galinhas inseminadas produziram ovos negativos ao ag-gs (Quadro 3). Essas galinhas produziram, no total, 100 ovos, durante um período de quatro semanas; 92 ovos corresponderam a 10 galinhas, sendo todos eles negativos ao ag-gs, e 8 corresponderam a 1 galinha, sendo todos eles positivos.

Detecção de anticorpos

Nove das 11 galinhas A - possuíam anticorpos contra vírus da LL, antes de serem inseminadas com o "pool" de sêmen de galos portadores. Depois de quatro semanas de inseminações, todas as 11 galinhas possuíam anticorpos no soro. As 11 galinhas da mesma linhagem inseminadas com o "pool" de sêmen de galos não portadores possuíam anticorpos antes e depois das quatro semanas de inseminações (Quadro 3). Das 15 galinhas B-, 6 possuíam anticorpos antes de serem inseminadas com o "pool" de sêmen de galos portadores. Ao final da quarta semana de inseminações, todas as 15 galinhas possuíam anticorpos no soro. Das 15 galinhas da mesma linhagem, inseminadas com o "pool" de sêmen de galos não portadores, 8 possuíam anticorpos antes de serem inseminadas. Ao final da quarta semana de inseminações, somente as mesmas galinhas possuíam anticorpos contra o vírus da LL (Quadro 3).

DISCUSSÃO

A presença da infecção congênita em percentagem relativamente alta nas galinhas da linhagem A (21,4%) e nas galinhas da linhagem B (17,2%) confirma a disseminação extensiva dos vírus da LL. Porém, as mortes por tumores, nestas duas linhagens, são de pouca importância. Uma vez que estas duas linhagens têm sido mantidas em condições fechadas e de cruzamentos consanguíneos, é possível que, durante a manutenção, as linhagens, tenham adquirido aumento da resistência genética à formação de tumores, em presença de elevadas taxas de infecção.

É importante salientar que das 10 galinhas da linhagem A-, 7 possuíam anticorpos contra o vírus da LL, tanto no início quanto no final do trabalho. Isto significa que estas galinhas tinham sido infectadas, provavelmente, por contato direto com aves portadoras, porém, permaneceram livres da infecção, como foi de-

monstrado com a negatividade dos ovos ao ag-gs. Analogamente, 7 das 10 galinhas da linhagem B- possuíam anticorpos, tanto no início quanto no final do experimento. Todavia, estas aves permaneceram livres da infecção como foi demonstrado através da negatividade de seus ovos ao ag-gs.

No caso das galinhas da linhagem A + , somente 2 das 9 testadas possuíam anticorpos no início e no término do experimento. Estas aves infectaram todos os seus ovos com ag-gs. Das 7 sem anticorpos no soro, 6 foram eliminadoras constantes de ag-gs, enquanto que 1 foi eliminadora intermitente. Experimentos semelhantes realizados nas galinhas da linhagem B + indicaram que 3 das 10 galinhas testadas possuíam anticorpos no início e no final do período de experimentação. Destas aves, 1 contaminou 1 de seus 10 ovos, a segunda galinha produziu 24 ovos negativos consecutivos e a terceira galinha contaminou, sistematicamente, todos os seus ovos. Por outro lado, as 7 galinhas desta linhagem sem anticorpos, provavelmente tolerantes imunológicas, contaminaram, sistematicamente, todos os seus ovos produzidos. Como pode ser apreciado, a eliminação de ag-gs pode ser errática em certas aves, fato biológico que complica a identificação de galinhas infectadas em programas de controle e erradicação, quando somente um ou poucos ovos são testados. Estas observações coincidem com os achados de Romero (1977), Spencer et al. (1977) e Okazaki et al. (1979) em trabalhos similares destinados a identificar galinhas portadoras do vírus da LL.

Os estudos realizados com o microscópio eletrônico, em um número limitado de aves, demonstraram a presença de partículas virais do tipo C no pâncreas e na porção do magnum do oviduto de galinhas que tinham eliminado constantemente ag-gs do vírus de LL na albumina de seus ovos. Reciprocamente, não foram observadas partículas virais em tecidos similares de galinhas que não eliminaram ag-gs. Estes resultados confirmam o trabalho de DiStefano e Dougherty (1965), que demonstraram partículas virais do tipo C maduras e imaturas nos mesmos tecidos examinados. Porém, no presente trabalho, não foram encontradas as partículas virais em gemulação observadas por aqueles pesquisadores. Enquanto DiStefano e Dougherty (1965) trabalharam com frangas jovens, com o oviduto ainda em de-

Quadro 3. Efeito da inseminação artificial com sêmen de galos portadores e não portadores do vírus da leucose linfóide (LL) aviária na transmissão congênita do seu antígeno específico de grupo (ag-gs)

Galinhas ^a	Origem do "pool" de sêmen ^b	Relação Ovos positivos: Ovos testados	Anticorpos	
			Início	Final
A -	Galos A +	8/100(11) ^c	9/11 ^(d)	11/11 ^d
A-	Galos A -	0/104(11)	11/11	11/11
B-	Galos B +	0/221(15)	6/15	15/15
B-	Galos B -	0/185(15)	8/15	8/15

^a Galinhas não portadoras (A - , B -) do vírus da LL com base na negatividade do primeiro ovo testado para o ag-gs.

^b Galos portadores (A + , B +) e não portadores (A - , B -) do vírus da LL com base na presença de ag-gs detectado por imunofluorescência de leucócitos em cultura.

^c N° de ovos positivos ao ag-gs/N° de ovos testados (N° de galinhas).

^d N° de galinhas com anticorpos precipitantes no soro antes e depois de quatro semanas de inseminação/N° de galinhas testadas.

envolvimento, o presente estudo foi realizado em galinhas adultas, com o oviduto completamente desenvolvido e em plena produção de ovos.

A prova de imunofluorescência indireta foi utilizada para identificar galos portadores do vírus da LL, a ser empregados como doadores de sêmen. A prova, como foi realizada no presente estudo, demonstrou ag-gs do vírus da LL no citoplasma de leucócitos mantidos em cultura durante 24 horas. Quando aplicada em culturas de leucócitos dos galos da progênie de galinhas infectadas da linhagem A, a prova permitiu identificar 5 de 6 galos testados como infectados. Quando aplicada em culturas de leucócitos/os galos da progênie de galinhas não infectadas da mesma linhagem, os resultados foram negativos. Quando a prova foi aplicada em 40 galos da linhagem B da progênie de galinhas sem histórico sorológico, 3 foram identificados como portadores do vírus da LL. Maior evidência da especificidade da prova de imunofluorescência foi fornecida pela soroconversão, observada nas galinhas inseminadas com sêmen obtido de galos identificados como portadores, enquanto que as galinhas inseminadas com sêmen de galos identificados como livres da infecção, não experimentaram soroconversão. Apesar de existirem provas de imunofluorescência para os vírus do grupo leucose/sarcoma (Rubin & Vogt 1962, Payne et al. 1966), nenhuma delas é utilizada correntemente na identificação de aves portadoras, em programas destinados a controlar ou erradicar os vírus da LL.

A soroconversão demonstrada somente em galinhas inseminadas com sêmen de galos portadores, assim como a demonstração de transmissão congênita de ag-gs em uma destas galinhas, evidenciam o papel do galo na introdução da infecção via sêmen. Porém, a transmissão congênita pelos galos infectados não é tão séria e constante como no caso das fêmeas infectadas. Estes resultados contrastam os de DiStefano & Dougherty (1968), que apesar de demonstrarem, com o microscópio eletrônico, a multiplicação de partículas virais do tipo C nos elementos do tecido conectivo, no músculo liso dentro das paredes das estruturas tubulares e nas células epiteliais não germinativas dos testículos de embriões e galos adultos, não lograram evidenciar multiplicação viral nas células germinativas dos mesmos tecidos. Nossos resultados indicam que é preciso reanalisar o papel do galo na transmissão congênita dos vírus da LL, pois que este é considerado atualmente sem importância na transmissão congênita.

Agradecimentos. Agradecemos cordialmente pela doação do anti-soro específico contra o vírus da mieloblastose aviária, fornecido gentilmente pelo Dr. Eugene J. Smith, do Regional Poultry Research Laboratory, East Lansing, Mi., USA. O presente trabalho contou com o auxílio financeiro

(Nº 78.07.040) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- Cunha Filho L.A. & Monteiro J.L.M. 1971. Capacidade geral e específica de combinação e efeitos recíprocos para vários caracteres de diferentes linhagens de Leghorn branca. *Pesq. Agropec. Bras.* 6:119-130.
- DiStefano H.S. & Dougherty R.M. 1975. Virus multiplication in the oviduct of hens infected with an avian leukosis virus. *Virology* 26:156-159.
- DiStefano H.S. & Dougherty R.M. 1968. Multiplication of avian leukosis virus in the reproductive system of the rooster. *J. Natl Cancer Inst.* 41:451-464.
- Okazaki W., Burmester B.R., Fadly A. & Chase W.B. 1979. An evaluation of methods for eradication of avian leukosis viruses from a commercial breeder flock. *Avian Dis.* 23:688-697.
- Payne F.E., Solomon J.J. & Purchase H.G. 1966. Immunofluorescent studies of group-specific antigen of the avian sarcoma leukosis viruses. *Proc. Natl Acad. Sci., USA*, 55:341-349.
- Reynolds E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17:208-212.
- Romero C.H. 1977. The prevention of avian lymphoid leukosis tumors with the androgen analog mibolerone: pathological, virological and immunological studies. Ph.D. thesis, Michigan State University, USA.
- Romero C.H., Rowe C.A., Resende O.A., Dias P.G.O., Santos M.W. & Souza A.M. 1979. New simplified procedures for eradicating avian lymphoid leukosis viruses. *Adv. Comp. Leukemia Research 1979. Proc. IXth Int. Symp. Com. Res. Leukemia and Related Diseases, Pitsunda, URSS*, p.339-340.
- Romero C.H., Rocha F.S. & Rowe C.A. 1981. An immunofluorescence assay to identify carriers of avian lymphoid leukosis viruses. (Em preparação)
- Rubin H., Cornelius A. & Fanshier L. 1961. The pattern of congenital transmission of an avian leukosis virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 47:1058-1069.
- Rubin H. & Vogt P.K. 1962. An avian leukosis virus associated with stocks of Rous sarcoma virus. *Virology* 17:184-194.
- Sarma P.S., Turner H.C. & Huebner R.J. 1964. An avian leukosis group-specific complement fixation reaction. Application for the detection and assay of non-cytopathogenic leukosis viruses. *Virology* 23:313-321.
- Smith E.J. 1977. Preparation of antisera to group-specific antigens of avian leukosis-sarcoma viruses: An alternate approach. *Avian Dis.* 21: 290-299.
- Solomon J.J. 1975. Preparation of avian cell cultures. *Tiss. Cult. Assoc. Manual* 1:7-11.
- Spencer J.L., Crittenden L.B., Burmester B.R., Romero C.H. & Witter R.L. 1976. Lymphoid leukosis viruses and gs antigen in unincubated chicken eggs. *Avian Pathol.* 5:221-226.
- Spencer J.L., Crittenden L.B., Burmester B.R., Okazaki W. & Witter R.L. 1977. Lymphoid leukosis: Interrelations among virus infections in hens eggs, embryos, and chickens. *Avian Dis.* 21:331-345.
- Temin H.M. 1974. The cellular and molecular biology of RNA tumor viruses, especially avian leukosis-sarcoma viruses and their relatives. *Adv. Cancer Res.* 19:47-104.