

AVALIAÇÃO DO LEUCOGRAMA DE FÊMEAS DA RAÇA HOLANDESA NATURALMENTE INFECTADAS PELO VÍRUS DA LEUCOSE BOVINA¹

MAURÍCIO GARCIA, JOSÉ LUIZ D'ANGELINO, FERNANDO JOSÉ BENESI,
EDUARDO HARRY BIRGEL e WILMAR SACHETIN MARÇAL²

ABSTRACT.- Garcia M., D'Angelino J.L., Benesi F.J., Birgel E.H., & Marçal W.S. 1991. [Leucogram evaluation of bovine holstein females naturally infected by the Bovine Leukosis Virus.] Avaliação do leucograma de fêmeas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo vírus da leucose bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 11(3/4):61-64. Depto Clínica Médica, Fac. Med. Vet. e Zootec., USP, Av. Corifeu de Azevedo Marques 2720, São Paulo, SP 05508, Brazil.

Lymphocytosis caused by Enzootic Bovine Leukosis (EBL) has been known since the beginning of the century. For the clinical diagnosis of EBL "hematologic keys" have been largely used. The objective of this paper was to evaluate the hematologic condition of black and white holstein cows infected by the Bovine Leukosis Virus (BLV) giving special attention to lymphocytic morphology. Blood samples from 423 cows reacting to the Agar Gel Immunodiffusion Test (AGID) and from 374 non reacting cows were collected. No statistical differences in polymorphic nuclear leucocyte counts and monocyte counts between reacting and non reacting cows were found, but the AGID-reacting cows showed higher lymphocyte counts than the non AGID-reacting cows. When the morphology of the lymphocytes was analysed it was found that the monocytic cell counts and the double nucleus lymphocyte counts were higher in AGID-reactant animals.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Leucose bovina, hematologia, linfócitos atípicos.

SINOPSE.- Desde o início do século já era conhecido que os animais afetados pela Leucose Enzoótica dos Bovinos (LEB) apresentavam linfocitose. Esta alteração foi muito usada como recurso auxiliar no diagnóstico clínico da LEB através do emprego das chamadas "chaves leucométricas". O presente estudo procurou avaliar o perfil do quadro leucocitário de fêmeas bovinas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo Vírus da Leucose Bovina (VLB) dando-se particular atenção à morfologia dos linfócitos. Para tanto, realizou-se o leucograma de 423 bovinos reagentes e 374 não reagentes à prova de Imunodifusão em Gel para a Leucose Bovina (IDLB). Os resultados obtidos mostraram que apenas os linfócitos apresentaram aumentos estatisticamente significantes nos animais reagentes à IDLB. No tocante ao aspecto morfológico dos linfócitos, conclui-se que os linfócitos monocitoides e os linfócitos com núcleo duplo apresentaram contagens significativamente maiores nos animais reagentes.

INDEX TERMS: Bovine leukosis, hematology, atypical lymphocytes.

INTRODUÇÃO

Talvez tão antigo quanto as primeiras notificações da ocorrência da Leucose Enzoótica dos Bovinos (Siedam-

grotzky 1876) seja o conhecimento da intensa proliferação linfocitária que acompanha essa doença. No início do século foi citado, ainda, que esta alteração hematológica não era apenas quantitativa, mas também qualitativa, ou seja, nos animais acometidos pela LEB eram encontrados vários linfócitos com morfologia atípica (Knuth & Volkman 1916, Toit 1917). Outra importante averiguação foi o fato das alterações hematológicas não ocorrerem apenas em animais com tumorações, sendo também detectadas em animais aparentemente sadios (Dobberstein & Paarmann 1924).

Baseado nestes fatos o primeiro programa de controle da doença foi estabelecido considerando-se os valores do leucograma como parâmetro de diagnóstico da infecção pelo Vírus da Leucose Bovina (VLB) (Götze et al. 1954) dando-se o nome de "chave leucométrica" ao conjunto destes parâmetros (Bendixen 1961, Tolle 1965, Chevrier 1975). Desde que o VLB foi isolado (Miller et al. 1969) foi possível estabelecer-se uma nova metodologia de diagnóstico baseada na detecção de anticorpos séricos desenvolvidos durante a infecção, através da prova de imunodifusão em gel (IDLB) (Miller & Van der Maaten 1977). Desde então, o diagnóstico hematológico vem sendo desconsiderado face às suas limitações de sensibilidade e praticidade (Ferrer et al. 1978). No Brasil, entretanto, ainda não existe a produção do antígeno para a realização da IDLB e face à carência de trabalhos sobre o comportamento hematológico dos animais com LEB (Alencar Filho 1970, Birgel et al. 1982c, Modena & Figuei-

¹ Aceito para publicação em 20 de novembro de 1990.

Assunto da tese-MSc em Patologia Bovina, do primeiro autor, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 1989.

Trabalho apresentado no XVI Congresso Mundial de Buiatria, Salvador, Bahia, 13-17 de agosto de 1990.

² Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Av. Corifeu de Azevedo Marques 2720, São Paulo, SP 05508.

redo 1981) decidiu-se apresentar estudos das variações do quadro leucométrico de bovinos naturalmente infectados pelo VLB.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram divididas em dois grandes lotes 797 fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta criadas na região da bacia leiteira de Campinas, SP, em regime semi-intensivo, em função de sua condição reagente ou não reagente à prova de IDLB. Em cada lote os animais foram distribuídos em grupos segundo as faixas etárias detalhadas no Quadro 1.

Após a colheita das amostras de sangue, por punção da veia

Quadro 1. Grupos experimentais, caracterizando-se o número de animais examinados, distribuídos segundo a faixa etária e a reação frente à imunodifusão em ágar gel. São Paulo, 1990

Faixa etária (anos)	Nº de amostras reagentes	Nº de amostras não reagentes	Total
< 1	59	108	167
1-2	77	88	165
2-3	94	63	157
3-4	60	38	98
4-5	47	28	75
5-6	36	20	56
> 6	50	29	79
Total	423	374	797

CONTAGEM LEUCOCITÁRIA

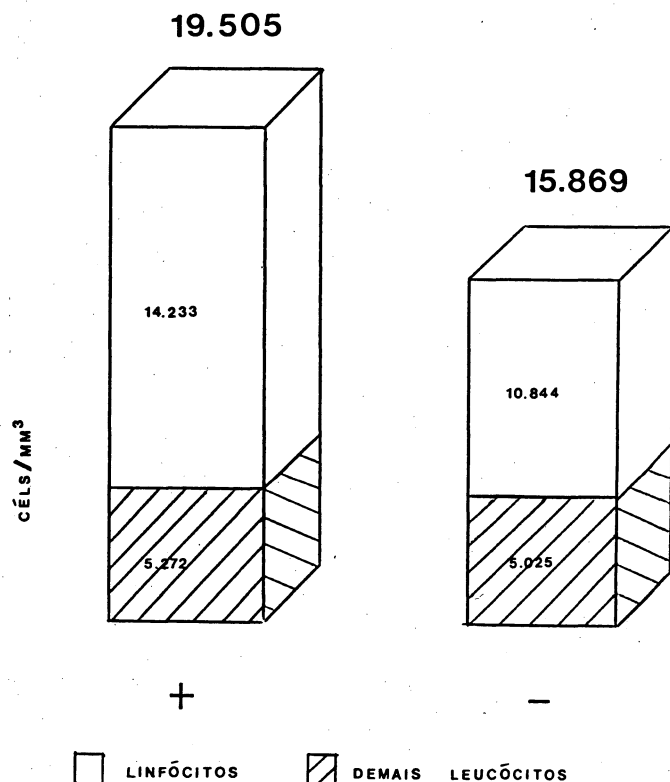


Fig. 1. Valores leucocitários de animais reagentes (+) e não reagentes (-) à sorologia para leucose bovina. Valores em cél./mm^3 . São Paulo, 1990.

NÚMERO ABSOLUTO DE LINFÓCITOS

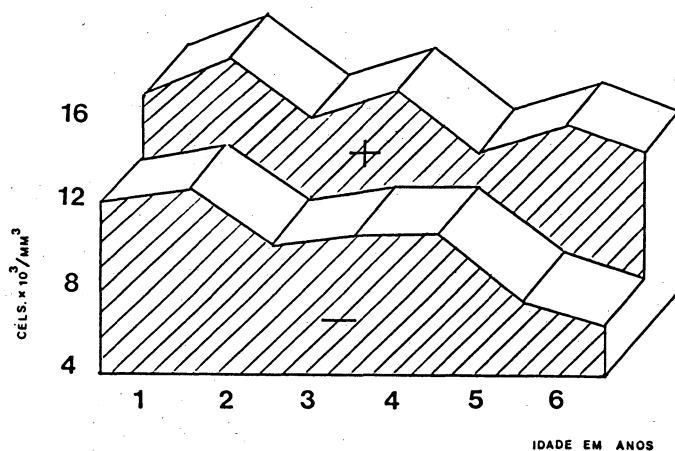


Fig. 2. Número absoluto de linfócitos de animais reagentes (+) e não reagentes (-) à sorologia para leucose bovina. Valores em milhares de cél./mm^3 . São Paulo, 1990.

ATÍPIAS LINFOCITÁRIAS

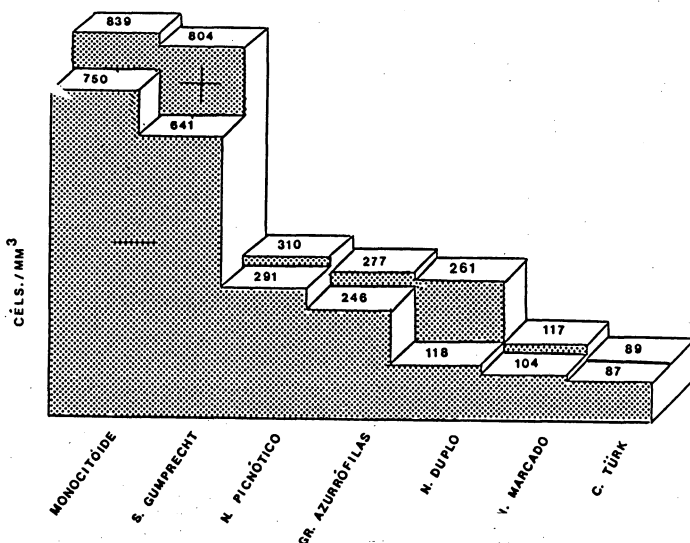


Fig. 3. Número absoluto das formas atípicas de linfócitos em animais reagentes (+) e não reagentes (-) à sorologia para leucose bovina. Valores em cél./mm^3 . São Paulo, 1990.

jugular, utilizando-se EDTA como anticoagulante, foram realizadas a contagem global de leucócitos em câmara hematimétrica (Birgel 1982a), a contagem diferencial de leucócitos em esfregaços sanguíneos corados (Birgel 1982a) e a pesquisa de anticorpos séricos anti-VLB através da IDLB com antígeno gp 51 (Rinderleukose-Antigen da Behring-RFA) (Birgel 1982b).

RESULTADOS

A Fig. 1 mostra que os animais reagentes à prova de IDLB apresentaram uma contagem total de leucócitos superior aos não reagentes (19.505 cél./mm^3 contra 15.869 cél./mm^3 , respectivamente). A mesma figura ilustra, ainda, o fato desta diferença ter sido causada pelos linfócitos

Quadro 2. Valores médios e desvios padrões dos elementos constituintes do leucograma (em células por mm³ de sangue) de fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta distribuídas segundo a faixa etária dos animais e a reação frente ao antígeno capsular (gp 51) do vírus da leucose bovina. São Paulo, 1990

Faixa etária em anos	Leucócitos		Neutrófilos		Eosinófilos		Basófilos		Monócitos		Linfócitos	
	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr
<1	19.731 8.229	16.066* 6.635	4.155 2.278	3.655 2.523	513 646	475 587	103 157	67 118	171 161	190 190	14.786 7.871	11.683* 5.828
1-2	21.932 7.225	17.669* 6.152	4.069 1.885	3.667 1.822	1.081 873	1.195 914	84 140	79 136	224 238	219 212	16.530 6.834	12.473* 5.298
2-3	19.257 7.055	15.533* 4.846	3.965 1.761	3.797 1.497	1.235 826	1.320 1.061	83 135	89 112	292 414	275 260	13.702 6.834	10.086* 4.316
3-4	20.622 7.607	16.113* 5.571	3.765 1.445	4.145 3.421	1.278 1.043	1.079 659	91 168	75 105	239 251	243 193	15.203 7.414	10.578* 5.094
4-5	17.383 7.542	16.004 7.517	3.817 2.125	3.443 1.287	1.213 684	1.656 1.284	64 116	107 130	162 162	252 251	12.138 6.922	10.580 6.813
5-6	19.247 15.138	12.050* 3.151	3.766 1.842	3.033 1.374	1.367 1.069	1.145 564	83 182	64 106	322 390	262 172	13.659 14.780	7.557* 2.759
>6	16.806 11.434	12.586* 5.051	3.205 1.638	3.609 1.933	1.080 752	1.406 1.042	72 167	101 161	188 168	187 141	12.259 11.058	7.300 4.414
Total	19.505 8.998	15.869* 6.113	3.859 1.868	3.679 2.164	1.103 879	1.044 944	84 150	80 124	231 286	225 210	14.233 8.639	10.844* 5.447

* Diferença estatisticamente significativa para alfa = 5%; r = reagentes; nr = não reagentes.

posto que não se encontrou diferenças significantes nas demais células. A Fig. 2 mostra que essa linfocitose foi encontrada em todos os grupos etários dos animais reagentes. As formas atípicas de linfócitos que apresentaram-se significativamente em maior número foram os linfócitos monocitóides e os linfócitos com núcleo duplo, conforme demonstra-se na Fig. 3. Todos os resultados estão detalhadamente descritos nos Quadros 2, 3 e 4.

DISCUSSÃO

O maior número de leucócitos (leucocitose) encontrado no sangue dos animais reagentes à IDLB deveu-se exclusivamente ao aumento do número absoluto de linfócitos, posto que não se encontrou qualquer diferença entre as médias do número absoluto dos polimorfonucleares granulócitos (neutrófilo, eosinófilo e basófilo) ou dos monó-

Quadro 3. Valores médios e desvios padrões do número total de linfócitos, de linfócitos atípicos e de linfócitos típicos (grandes e pequenos) por mm³ de sangue de fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta distribuídas segundo a faixa etária dos animais e a reação frente ao antígeno capsular (gp 51) do vírus da leucose bovina. São Paulo, 1990

Faixa etária em anos	Nº total de linfócitos		Nº total de linfócitos atípicos		Nº total de linfócitos típicos		Linfócitos grandes		Linfócitos pequenos	
	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr
< 1	14.786 7.871	11.683 5.828	3.211 2.632	2.597 1.834	11.575 5.998	9.085* 4.775	3.230 3.105	2.460 2.245	8.345 5.496	6.679* 4.634
1-2	16.530 6.834	12.473* 5.298	3.590 2.458	2.450 1.308	12.941 5.575	10.024* 4.490	4.264 4.114	2.818* 2.842	8.676 4.977	7.205* 4.269
2-3	13.702 6.834	10.086* 4.316	2.335 1.341	2.119 1.194	11.367 6.267	7.967* 3.787	2.194 1.906	2.073 1.687	9.172 6.094	5.893 3.460
3-4	15.203 7.414	10.578* 5.094	2.875 1.889	2.207* 1.192	12.328 6.217	8.370* 4.492	2.827 2.438	1.964* 1.312	9.501 5.258	6.407* 4.536
4-5	12.138 6.922	10.580 6.813	2.070 1.244	2.055 1.390	10.068 6.221	8.525 5.865	1.627 1.269	2.025 1.601	8.441 5.912	6.501 5.972
5-6	13.659 14.780	7.557* 2.759	2.117 1.640	1.436* 608	11.542 13.799	6.121* 2.652	2.594 2.953	1.557 1.267	8.948 13.027	4.564 2.593
> 6	12.259 11.058	7.300* 4.414	2.199 2.196	1.263* 487	10.059 9.128	6.037* 4.241	2.389 3.180	1.746 1.303	7.670 6.794	4.291* 3.262
Total	14.233 8.639	10.844* 5.447	2.698 2.049	2.236* 1.442	11.535 7.432	8.608* 4.614	2.799 2.958	2.277* 2.124	8.735 6.649	6.331* 4.348

* Diferença estatisticamente significativa para alfa = 5%; r = reagentes; nr = não reagentes.

Quadro 4. Valores médios e desvios padrões dos números (por mm³ de sangue) dos diferentes tipos de linfócitos atípicos de fêmeas bovinas da raça holandesa branca e preta distribuídas segundo a faixa etária dos animais e a reação frente ao antígeno capsular (gp 51) do vírus da leucose bovina. São Paulo, 1990

Faixa etária em anos	Linfócitos monocitóides		Sombras de Gumprecht		Linfócitos com núcleo marcado		Linfócitos com núcleo duplo		Linfócitos picnóticos		Linfócitos com granulações azurófilas		Células de Türk	
	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr	r	nr
< 1	1.066 892	905 650	1.142 2.011	792 1.468	102 168	113 177	233 461	112 293	288 389	329 392	238 304	214 250	142 217	132 164
1-2	1.048 647	796* 614	1.341 2.134	695* 719	111 184	151 212	377 508	124* 325	284 343	362 458	328 358	237 245	99 154	84 132
2-3	752 530	747 602	590 807	628 981	72 139	75 169	218 332	87* 148	377 450	252* 300	228 293	256 243	100 179	75 116
3-4	815 597	697 510	917 1.454	617 702	133 363	63 99	332 679	138* 267	359 401	266 269	258 299	334 328	60 112	91 123
4-5	601 410	684 539	462 643	445 653	144 206	107 172	172 227	182 442	332 339	265 331	298 260	336 271	61 104	36 64
5-6	697 755	474 292	338 633	400 348	235 817	67 170	147 244	119 241	237 286	205 237	352 281	122* 125	61 147	48 82
> 6	771 886	358* 240	469 917	333 385	103 179	64 122	275 627	93 157	227 144	141 166	284 245	246 171	71 122	27* 56
Total	839 692	692* 591	804 1.454	641 1.008	117 313	104 176	261 476	118* 282	310 372	291 364	277 300	246 251	89 158	87 133

* Diferença estatisticamente significativa para $\alpha = 5\%$; r = reagente; nr = não reagente.

cit. Essa observação coincide com as afirmações apresentadas por numerosos autores (Götze et al. 1954, Bendixen 1961, Ferrer et al. 1978, Birgel 1982c). Com relação aos aspectos morfológicos dos linfócitos notou-se que sombras de Gumprecht, linfócitos com núcleos marcados, linfócitos com núcleo picnótico, linfócitos com granulações azurófilas e células de Türk não possuem importância decisiva no diagnóstico hematológico da Leucose Bovina. Todavia, devem ser ressaltados os resultados encontrados para as duas atipias que demonstraram significância no diagnóstico hematológico desta infecção, ou seja, os linfócitos com núcleo duplo (células tetraplóides) e os linfócitos monocitóides (células de Riedel). Os resultados obtidos na presente pesquisa demonstram que a avaliação hematológica adequada continua sendo um recurso que contribui ao diagnóstico da LEB desde que sejam observados os parâmetros nacionais do leucograma, uma vez que a usual ocorrência de plasmoses nos animais brasileiros altera substancialmente o seu hemograma (Birgel et al. 1974). Desta forma, se forem usadas as chaves leucométricas européias, muitos animais serão considerados positivos, posto que seus parâmetros são muito inferiores daqueles encontrados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Alencar Filho R.A. 1970. Leucograma de bovinos nacionais e estrangeiros com vistas ao estudo da leucose. *Biológico*, S. Paulo, 36:181-184.
- Bendixen H.J. 1961. Methoden und Ergebnisse der systematischen Bekaempfung der Rinderleukose in Daenemark. *Dtsch. Tieraerztl. Wochenschr.* 68:100-104.
- Birgel E.H., Araújo L.M., Reichmann C.E., Araújo W.P., D'Angelino J.L., Santos C.D.M. 1974. Influência da pré-munição no quadro leucocitário de bovinos da raça holandesa importados do Canadá. In: *Anais XIV Congr. Bras. Med. Vet.*, São Paulo, p. 161-162.
- Birgel E.H. 1982a. Técnicas hematológicas de uso corrente em patologia clínica veterinária, p. 7-23. In: Birgel E.H. & Benesi F.J. (ed.) *Patologia Clínica Veterinária*, Soc. Paulista Vet., São Paulo.
- Birgel E.H. 1982b. Leucose enzoótica dos bovinos adultos. Aspectos clínicos e diagnóstico, p. 249-260. In: Birgel E. H. & Benesi F.J. (ed.) *Patologia Clínica Veterinária*. Soc. Paulista Med. Vet., São Paulo.
- Birgel E.H., Benesi F.J., D'Angelino J.L., Hagiwara M.K., Prado M.S.S. 1982c. Características leucométricas do sangue de bovinos de rebanhos acometidos por leucose enzoótica dos bovinos. In: *Anais I Semana Vet. Fac. Med. Vet. Zootec.*, USP, São Paulo, p. 73.
- Chevrier L. 1975. Aspect hématologique de la leucose bovine: application au dépistage hématologique. *Réc. Méd. Vét.* 151:145-152.
- Dobberstein J. & Paarmann P. 1934. Die sogenannte Lymphadenose des Rindes (Rinderleukose). *Z. Infektionskrankh. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere* 46:65-109.
- Ferrer J.F., Marshak R.R., Abt D.A. & Kenyon S.J. 1978. Persistent lymphocytosis in cattle: its cause, nature and relation to Lymphosarcoma. *Ann. Réch. Vét.* 9:851-857.
- Götze R., Rosenberger G., Ziegenhagen G. 1954. Die Leukose des Rindes: Ihre haematologische und klinische Diagnose. *Monatsh. Veterinaarmed.* 9:517-526.
- Knuth P. & Volkmann O. 1916. Untersuchungen ueber die Lymphozytomatose des Rindes. *Z. Infektionskrankh. parasit. Krankh. Hyg. Haustiere* 17:393-467.
- Miller J.M., Miller L.D., Olson C., Gillette K.G. 1969. Virus like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine Lymphosarcoma. *J. Nat. Cancer Inst.* 43:1297-1305.
- Miller J.M. & Van der Maaten M.J. 1977. Use of glycoprotein antigen in the immunodiffusion test for bovine leukemia virus antibodies. *Eur. J. Cancer* 13:1369-1375.
- Moderna C.M. & Figueiredo J.B. 1981. Leucose enzoótica bovina. I. Comparação entre métodos de diagnóstico. II. Evolução sorológica em bezerros. III. Interferência com a vacina anti-febre-aftosa. *Arqs. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais* 33:624-625.
- Siedamgrotzky 1876 apud Rosenberg G. 1983. *Enfermedades de los Bovinos*. Hemisferio Sur, Buenos Aires, p.48-52.
- Toit P.J. 1917. Beitrag zur Morphologie des normalen und leukaemischen Rinderblutes. *Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilkde* 43:145-203.
- Tolle A. 1965. Zur Beurteilung quantitativer hämatologischer Befunde im Rahmen der Leukose-Diagnostik beim Rind. *Zentralbl. Veterinaarmed.* 128:281-290.