

## PESQUISA DE PARTÍCULAS VIRAIS EM SANGUE PERIFÉRICO DE ANIMAIS PORTADORES DE LEUCEMIA

Edmo Garcia de Lima\* Silko Enoki\*

---

### RESUMO

Foram constituídos dois grupos de animais, sendo que um deles foi inoculado com material proveniente de animais leucêmicos e o outro de animais "sadios" para leucemia.

Os animais inoculados com material suspeito de conter vírus apresentaram linfocitose após 11 meses da inoculação.

Foram feitas culturas dos sangues dos animais de experimentação e dos controles. Não foram encontradas partículas virais nos sangues dos controles, mas sim nos sangues dos portadores de linfocitose permanente.

O teste de OUCHTERLONY, usando antígeno preparado pelo autor, mostrou faixas de precipitação, incriminando a produção de anticorpos nos animais infectados.

---

### INTRODUÇÃO

Desde os trabalhos de BEDERKE & TOLLE, 1964, já se mostrava a preocupação de se estudar a transmissibilidade da leucemia no gado vacum. Vários meios foram estudados com essa finalidade (BEDERKE & TOLLE, 1964; BEDERKE, TOLLE & LOPPNOW, 1967; BEDERKE, TOLLE & SCHMIDT, 1968; BEDERKE, et alii, 1970; SCHMIDT, 1970 e SCHMIDT & TIEFENAU, 1972). Mostraram a infecciosidade através de culturas de leucócitos do sangue de animais

infectados, que hematologicamente apresentavam resultados positivos.

Baseados nesses trabalhos é que propusemos o nosso, procurando comprovar a transmissibilidade e a tentativa de isolamento do agente etiológico através de cultura de leucócitos do sangue periférico de animais experimentalmente infectados.

### MATERIAL E MÉTODO

Para demonstrar a transmissibilidade da leucemia usamos dois grupos de bezerros. O primeiro inocu-

---

\* Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

lado com material de cultura de leucócitos de animais com leucemia, hematologicamente comprovados. O segundo grupo inoculado com material de cultura de leucócitos de animais "sadios" para leucemia, servindo como controle.

## DESCRIÇÃO DOS GRUPOS

### Grupo I

Para constituir este grupo foram selecionados 9 bezerros. A procedência desses animais deveria ser, a nosso critério, de rebanhos "sadios" para leucemia, cujos animais fossem controlados semanalmente por exames hematológicos durante todo o tempo que durasse a pesquisa.

Os bezerros, 24 horas após o nascimento, foram retirados do rebanho a que pertenciam e separados também das mães. Recebiam, por uma única vez o colostro de sua própria mãe e depois eram tratados com um preparado de leite, o "Haemofag", sem antibiótico. Seus sangues foram colhidos para cultura de leucócitos e estes submetidos posteriormente à microscopia eletrônica para se pesquisar a possível presença de partículas virais. Esta pesquisa foi realizada para todos os animais, com resultados negativos.

Estes animais foram inoculados posteriormente com material de cultura de leucócitos de animais leucêmicos.

### Grupo II

Os animais desse grupo permaneceram sem qualquer alteração hematológica que pudesse ser detectada. Foram escolhidos como os animais do grupo I, procedentes de rebanhos com exames negativos para leucemia. Permaneceram negativos hematologicamente durante todo o tempo de duração da pesquisa. E-

ram nove bezerros. Foram inoculados com material de cultura de leucócitos de animais "sadios", logo nos primeiros dias de vida. O material inoculado nesses animais foi preparado do mesmo modo como o foi para os animais do grupo I, sendo que para aqueles os leucócitos para cultura provinham de animais doentes com leucemia. O material inoculado nos animais do grupo II foi o filtrado de cultura de leucócitos de animais "sadios". Os sangues destes animais foram examinados a cada 14 dias para contagem dos leucócitos.

### PREPARO DO MATERIAL A SER INOCULADO

Como doadores de sangue de animais adultos, apresentando alta linfocitose. Estes foram inoculados logo após o nascimento com material proveniente de um outro que, hematologicamente, foi comprovado ser leucêmico. Logo após um período de incubação de onze meses, ambos apresentaram uma elevação do número dos linfócitos e apresentaram uma linfocitose permanente. Os animais foram sangrados na veia jugular e seus sangues colhidos em heparina a 1,0%. Os sangues foram submetidos ao choque hipotônico e restabelecida a isotonicidade. Separados os leucócitos, eles foram cultivados em meio de cultura T 199, por três dias. Assim também foi procedido o preparo do material proveniente de animais "sadios" para leucemia.

Os leucócitos foram triturados em Eppendorf e o homogenizado foi filtrado em filtro cuja porosidade retinha somente bactérias e não partículas menores. Os materiais assim livres de restos celulares e de bactérias foram inoculados endovenosa e subcutaneamente nos ani-

mais de grupos I e II, respectivamente.

As culturas dos leucócitos, tanto dos animais do grupo I como do grupo II, foram submetidas a microscopia eletrônica. Os sangues dos animais foram colhidos para serem examinados com um antígeno preparado conforme GARCIA DE LIMA, 1980.

## RESULTADOS

Os animais de cada grupo foram mantidos juntos e presos em um estábulo, estabelecendo contato entre si. Logo nos três primeiros meses, três deles apresentaram linfocitose e permaneceram na faixa de "positivos". Ao fim de 11 meses todos os animais do grupo I apresentaram linfocitose permanente. Os animais do grupo II permaneceram sem apresentar qualquer elevação do número dos linfócitos.

À necrópsia, tanto os animais do grupo I como os do grupo II não

apresentaram nenhuma alteração macroscópica.

Os soros dos animais positivos apresentaram no teste de OUCHTERLONY uma faixa de precipitação característica. (foto 1).

À microscopia eletrônica, os leucócitos dos animais do grupo I apresentaram partículas virais (foto 2) semelhantes aos oncornavirus do tipo C.

## DISCUSSÃO

A inoculação do material proveniente de animais "sadios" para leucemia veio afastar também a possibilidade de se incriminar o material de meio de cultura como possível portador de material que possa transmitir a leucemia, pois os animais permaneceram "sadios" durante o tempo da pesquisa.

Os animais foram observados, além dos exames hematológicos, também por exames clínicos semanais, oferecendo subsídios para o diagnóstico final.

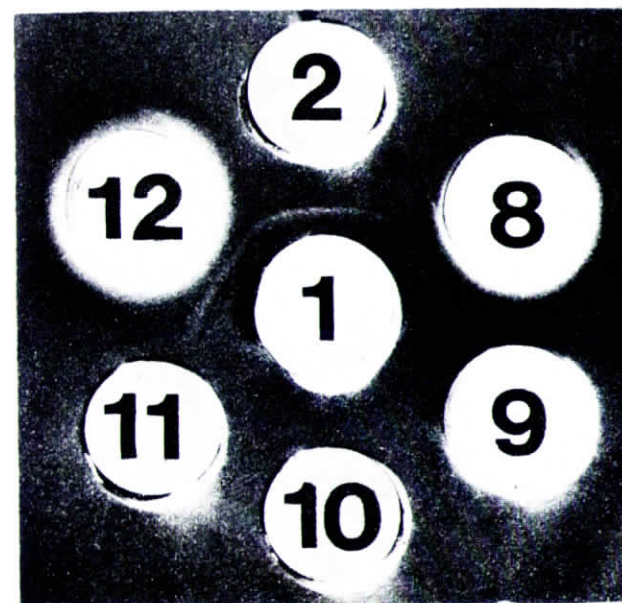


Foto 1. - Teste de OUCHTERLONY mostrando nítida faixa de precipitação com três soros de animais leucêmicos (animais 12, 2 e 8) e ausência de faixas de precipitação com os soros dos animais 11, 10 e 9.

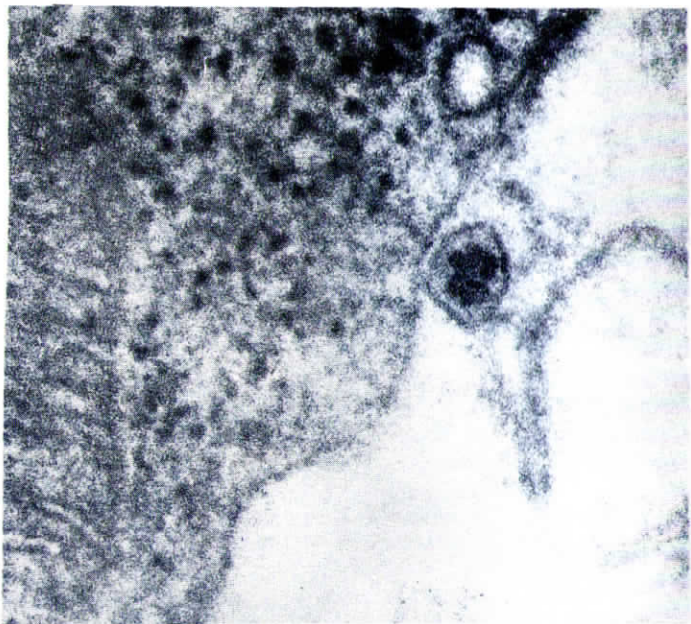
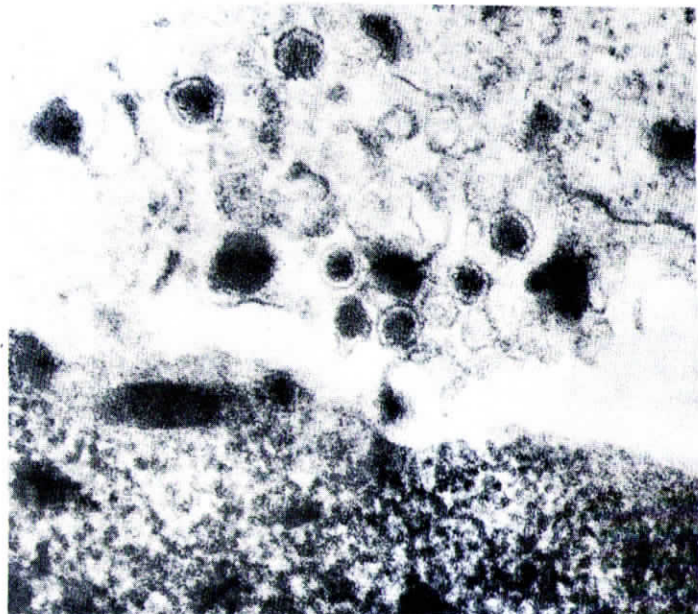


Foto 2. - Partículas virais em espaço intercelular.

## CONCLUSÕES

As inoculações dos animais com material filtrado das células provenientes dos animais "sadios" vieram provar que o material constituinte do meio para cultura dos leucócitos não é portador de contaminação que pudesse transmitir a leucemia.

As inoculações dos animais do grupo I com material filtrado de cultura de leucócitos de animais portadores de leucemia provaram que há um agente etiológico para a leucemia bovina, filtrável, que é altamente infectante e que necessita de um período de incubação de 11 meses para manifestar a doença.

A microscopia eletrônica mostra partículas virais visíveis, semelhantes aos oncornavirus do tipo C.

O teste de OUCHTERLONY, usando o antígeno preparado pelo autor, mostrou a possibilidade de se poder fazer um diagnóstico fácil da leucemia bovina.

## SUMMARY

In this work we had two groups of animals, one inoculated with material from leukemic and the other with health ones.

The animals inoculated with sick material showed lymphocytosis after 11 months of inoculation.

In the cultures made from bloods, no viral particles were found in the controls, otherwise they were present in the other group.

Using the OUCHTERLONY test, with antigen prepared by the

author, bands of precipitation related to the production of antibodies in infected animals, were shown.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEDERKE, G. & TOLLE, A. - Zur Uebertragbarkeit der Rinderleukose durch das Blut und den Kontakt mit experimentell behandelten Tieren. *Zbl. Vet. Med.*, B, 11: 433-445, 1964.
- BEDERKE, G.; TOLLE, A. & LOPPNOW, H. - Uebertragungsversuche mit leukotischen Tumormaterial auf das Rind. *Zbl. Vet. Med.*, B, 14: 32 - 48, 1967.
- BEDERKE, G.; TOLLE, A. & SCHMIDT, F.W. - Zur placentaren Uebertragbarkeit der Rinderleukose. *Zbl. Vet. Med.*, B, 15: 782-793, 1968.
- BEDERKE, G.; TOLLE, A.; SCHMIDT, F.W. & ÜBERSCHAER. - Versuche zur Uebertragung der Rinderleukose mit Rohmilch und pasteurisierter Milch. *Zbl. Vet. Med.*, B, 17: 701 - 717, 1970.
- GARCIA DE LIMA, E. - Contribuição para o estudo do diagnóstico da leucemia bovina. *Rev. de Path. Trop.*, 9 (1-2): 1 - 12, 1980.
- SCHMIDT, F.W. - Untersuchungen ueber die Epidemiologie und Aetiologie der enzootischen Rinderleukose. *Habl. Schrift, Goettingen*, 1970.
- SCHMIDT, F.W. & TIEFENAU, M. - Versuche zur Zuechtung eines Agens der Rinderleukose in Leukozytenkulturen von Rind. I und II. - *Mitteilung. Zbl. Vet. Med.*, B, 19: 445 - 472, 1972.