

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ACHADOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DA LEUCOSE BOVINA
ENZOÓTICA**

FABIANA MARQUES BOABAI

PORTO ALEGRE

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ACHADOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DA LEUCOSE BOVINA
ENZOÓTICA

FABIANA MARQUES BOABAI

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração em Cirurgia, Morfologia e Patologia Animal, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (RS).

Orientador: **David Driemeier**

PORTO ALEGRE
2011

CIP - Catalogação na Publicação

Boabaid, Fabiana Marques

Achados clínicos e patológicos da leucose bovina
enzoótica / Fabiana Marques Boabaid. -- 2011.
70 f.

Orientador: David Driemeier.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. Linfossarcoma bovino. 2. Vírus da Leucemia
Bovina. 3. Leucose bovina enzoótica. 4. Doença de
bovinos. I. Driemeier, David, orient. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fabiana Marques Boabaid

ACHADOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS DA LEUCOSE BOVINA ENZOÓTICA

Aprovada em 23 de Fevereiro de 2011.

APROVADO POR:

Prof. Dr David Driemeier.
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Aldo Gava.
Membro da Comissão

Prof. Dr. Edson Moleta Colodel.
Membro da Comissão

Prof. Dra. Luciana Sonne.
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Já li muitas vezes em outros agradecimentos, e realmente nesse momento tenho que concordar, é difícil resumir em tão poucas linhas o nosso sentimento de gratidão a tantas pessoas. Mas vamos lá...

Primeiramente agradeço a Deus pela vida, saúde e principalmente por ter uma família e amigos excepcionais.

Agradeço a minha mãe, Tania A. Marques Boabaid, por estar sempre tão presente, pelo amor incondicional, pelo exemplo de pessoa, por cuidar de mim, da nossa família e até dos meus amigos.

Ao meu pai, Miguelito de Almeida Boabaid, também pelo incentivo e amor incondicional, pelo exemplo de caráter e apoio. Pai e Mãe amo muito vocês.

A meu irmão, Fernando, pelo amor, companheirismo, por cuidar dos nossos pais na minha ausência. A minha sobrinha Giovanna, por nos trazer tantas alegrias e força em gestos singelos de amor. A minha cunhada Elaine pelo carinho e amizade.

Agradeço a toda minha família, em especial a Família Boabaid, da qual tenho muito orgulho, pelo nosso companheirismo, sinceridade e amor. Por sempre torcer por mim e por me receber tão bem. Vocês também sempre estão comigo.

Agradeço as minhas grandes amigas Claudiane, Liana e Michele e a suas famílias (Tiques Pereira e Moura Soares) por também estarem sempre por perto, em todos os momentos de alegrias e tristezas e por me darem outras famílias. Agradeço também aos cônjuges Claudir, Rinaldo e João, respectivamente, pelo carinho e amizade.

Aos meus amigos de faculdade, em especial Letícia, Dieneson, Maria Fernanda e Tarso, pelo carinho e amizade de sempre.

A minha família em Porto Alegre, Dani, Fran, Nadia, João e Gregory, por me aguentar no dia a dia, por cuidar de mim, pelas jantinhas e almoços, pelas compras anti-depressivas, pelas lágrimas e sorrisos compartilhados, obrigada.

Em especial gostaria de agradecer a Dj e Kiyoko, por me adotar em Porto Alegre e em Cuiabá, pela orientação na execução desse trabalho, pelo carinho que tem com minha família e pela paciência comigo, muito obrigada pela amizade.

Agradeço aos amigos da patologia em Cuiabá, Marcão, pelas longas conversas, Daniel, Paulo Ricardo, Zebu, Maya, Naiani, Raquel e Laura, pela amizade e trabalhos compartilhados. A Carol por sempre me receber tão bem em POA e em Cuiabá.

A Bárbara Krebs pelo auxílio diário e amizade no laboratório e fora dele.

Aos estagiários do SPV-UFRGS Marcelle, Paulinha, Miúriel, Verônica, Karine, Gabriel, pelo convívio durante esse tempo, por sempre auxiliar nos trabalhos e rotina. Em especial a Ana e Felipe por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Aos colegas da pós-graduação e amigos da patologia em Porto Alegre Paulinho, Danilo, Saulo, Luiz, Angélica, Flademir (e família), Juliano, Pedroso, Carol, Hugo, Eduardo, Laura e Priscila, pelo convívio diário, com todos aprendi algo que vou levar comigo para sempre. Em especial gostaria de agradecer ao Uruguaio pelo companheirismo durante o período do mestrado, por sempre dividir os momentos bons e ruins. A Tati pela amizade e confiança. A Adri e Lu, companheiras de trabalho e de vida, vocês fazem muita falta.

Ao prof. Claudio Cruz pelo exemplo de profissional e pelos bons conselhos e orientações que dá a todos do setor tanto na vida profissional como pessoal.

Aos prof. Aldo Gava e Riet-Correa, e aos amigos de Lages e Patos, por terem me recebido em seus laboratórios e pelos ensinamentos.

Em especial gostaria de agradecer ao prof. Edson Moleta pelos incentivos, por me ensinar o que era patologia, por ainda me orientar e auxiliar até hoje, pela amizade e exemplo de pessoa e profissionalismo.

Ao prof. David Driemeier por me receber, por me orientar, pela oportunidade de estar no SPV-UFRGS aprendendo, pelo exemplo de profissional e principalmente pela amizade e auxílio em Porto Alegre.

Por fim gostaria de agradecer a todos que contribuíram direta e indiretamente nessa longa jornada OBRIGADA!

RESUMO

A leucose bovina enzoótica (LBE) é uma enfermidade causada por um retrovírus que possui duas manifestações distintas em animais adultos, o linfossarcoma multicêntrico dos adultos e a linfocitose persistente (LP). O linfossarcoma multicêntrico dos adultos é caracterizado pela apresentação de tumores em diversos órgãos em bovinos com idade superior a dois anos. O presente trabalho analisou o histórico clínico e os achados patológicos de 30 casos de leucose bovina enzoótica, diagnosticados de um total de 845 bovinos necropsiados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, entre o período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011. Todos os bovinos afetados eram fêmeas de aptidão leiteira, com idade entre três e nove anos, sendo 27 da raça Holândes (90,0%), dois de raça mista (6,3%) e um Jersey (3,7%). Os principais sinais clínicos apresentados pelos bovinos foram alterações locomotoras caracterizadas por paresia progressiva dos membros, perda de peso, aumento do volume de linfonodos superficiais e exoftalmia. As lesões macroscópicas observadas eram caracterizadas por massas neoplásicas, de coloração branco-amareladas, acinzentadas ou róseas, encontradas nos linfonodos, coração, sobre a meninge da medula espinhal, abomaso, intestinos e rins. A infiltração tumoral sobre a meninge da medula espinhal foi observada em 24 animais, sendo que a região lombar (20/24) e cauda equina (11/24) foram frequentemente afetadas. Ocasionalmente as massas também foram observadas na região cervical (6/24), próximo à intumescência, e na região torácica (2/24). No exame histológico essas massas tumorais eram formadas por infiltrado difuso de linfócitos neoplásicos, sendo apresentada na maioria dos casos como células pequenas não clivadas. A ocorrência de linfossarcoma com infiltração na medula espinhal deve ser considerada no diagnóstico de enfermidades que cursam com alterações locomotoras em bovinos adultos de aptidão leiteira.

Palavras-chave: Linfossarcoma bovino, Vírus da Leucemia Bovina, leucose bovina enzoótica, doença de bovinos.

ABSTRACT

The enzootic bovine leukosis (EBL) is a disease caused by a retrovirus that has two distinct manifestations in adult animals, the multicentric lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in adults (LP). The multicentric lymphosarcoma in adults is characterized by the presentation of tumors in various organs in cattle older than two years. This study analyzed the clinical history and pathological findings in 30 cases of EBL, diagnosed a total of 845 cattle necropsied in the Setor de Patologia Veterinária of Universidade Federal do Rio Grande do Sul, between the period January 1999 to January 2011. All affected cattle were dairy females, between three and nine years old, and 27 Holstein (90,0%), two cross breed (6,3%) and Jersey (3,7%). The main clinical signs shown by the cattle were changes, locomotor characterized by progressive paralysis of the limbs, weight loss, most prominently superficial lymph nodes and exophthalmus. The gross lesions were characterized by neoplasms masses, pale yellowish-white, grayish or pinkish, found in lymph nodes, heart, on the meninges of the spinal cord, abomasum, intestines and kidneys. The tumor infiltration on the meninges of the spinal cord was observed in 24 animals, and the lumbar (20/24) and cauda equina (11/24) were commonly affected. Occasionally, the masses were also observed in the cervical region (6/24), near the swelling, and in the thoracic region (2/24). In histological examination, these tumor masses were composed of diffuse infiltration of neoplastic lymphocytes, and in most cases presented as small noncleaved cells. The occurrence of lymphosarcoma infiltrating the spinal cord should be considered in the diagnosis of diseases which lead to changes in locomotor adult dairy cattle.

Keywords: Bovine lymphosarcoma, Bovine Leukaemis Virus, bovine leukosis, disease of bovine.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequência dos sinais clínicos observados em 30 bovinos com Leucose Bovina Enzoótica diagnosticada no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011.....	36
Tabela 2 - Frequência dos órgãos afetados por infiltrações tumorais compatíveis com linfossarcoma em 30 bovinos com Leucose Bovina Enzoótica diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011.....	40
Tabela 3 - Principais órgãos e sistemas afetados e grau de infiltração pelo linfossarcoma observados durante a necropsia de 30 bovinos com Leucose Bovina Enzoótica diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011.....	41
Tabela 4 - Intensidade das alterações clínicas locomotoras e região epidural da medula espinhal com infiltração pelo linfossarcoma, observadas durante a necropsia dos bovinos com Leucose Bovina Enzoótica diagnosticada no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período entre janeiro de 1999 a janeiro de 2011.....	45
Tabela 5 - Frequência da morfologia e tamanho dos linfócitos neoplásicos observados em 28 casos de linfossarcoma bovino associados à leucose enzoótica.	54

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Distribuição do número de casos de Leucose Bovina Enzoótica diagnosticados por ano no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) no período entre janeiro de 1999 a janeiro de 2011. 34
- Figura 2** - Distribuição percentual da faixa etária dos 22 bovinos com idade informada, diagnosticados com Leucose Bovina Enzoótica no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) no período entre janeiro de 1999 a janeiro de 2011..... 35
- Figura 3** - Bovino 2, fêmea, Jersey, seis anos, com linfossarcoma multicêntrico. Nota-se aumento do volume do linfonodo pré-escapular esquerdo..... 37
- Figura 4** - Bovino 27, fêmea, Holandês, cinco anos, com linfossarcoma multicêntrico. Observa-se exoftalmia do olho direito. O olho esquerdo apresentou protrusão anteriormente e foi enucleado..... 37
- Figura 5** - Bovinos com alterações locomotoras devido à compressão da medula espinhal por linfossarcoma. **(A)** Bovino 20, demonstrando dorso arqueado, cauda erguida e membros pélvicos e torácicos afastados tentando manter-se em estação. **(B)** Bovino 14, caminhando com membros pélvicos parcialmente flexionados, apoiando-se sobre membros torácicos e arrastando as pinças no solo. **(C)** Bovino 20, com paresia do posterior e dificuldade de voltar à estação após queda com membros pélvicos abertos e apoiando-se sobre boletos. **(D)** Bovino 10, encontrado em decúbito esternal, porém sem conseguir se levantar mesmo quando auxiliado. 39
- Figura 6** – Bovino 17, linfonodo mesentérico com linfossarcoma. Superfície de corte apresentando massa rósea e protuberante sem distinção entre a cortical e medular. 42
- Figura 7** – Linfossarcoma no coração de bovino. **(A)** Bovino 20. Ventrículo esquerdo apresentando área esbranquiçada focalmente extensa no miocárdio. **(B)** Bovino 29. Observa-se massa neoplásica branco-amarelada difusa no endocárdio do átrio e ventrículo direito. 43
- Figura 8** – Bovino 27, coração com linfossarcoma. Átrio direito apresentando infiltração tumoral de coloração branco-amarelada com superfície irregular e múltiplas áreas hemorragia..... 43

Figura 9 – Medula espinhal de bovino com infiltração de linfossarcoma. (A) Bovino 14. Massa branco-amarelada no canal vertebral comprimindo a medula espinhal. (B) Bovino 14. Medula lombar e cauda equina com massas amareladas sobre a meninge. (C) Bovino 10. Massas tumorais de coloração branco-amareladas, aderidas à meninge, comprimindo a medula espinhal na região cervical. (D) Bovino 14. Superfície de corte da região lombar da medula espinhal, evidenciando a massa neoplásica rósea sobre a meninge comprimindo a medula.	46
Figura 10 – Bovino 14. Abomaso com linfossarcoma. Superfície de corte de nódulo esbranquiçado abaixo da mucosa abomasal.	47
Figura 11 – Bovino 24. Linfossarcoma no abomaso. Observam-se áreas de ulceração associadas a massas tumorais esbranquiçadas abaixo da mucosa (setas).....	47
Figura 12 - Bovino. Intestino delgado com infiltração de linfossarcoma. (A) Observam-se múltiplos nódulos branco-amarelados salientes distribuídos no omento e na serosa intestinal do Bovino 27. (B) Bovino 24. Segmento do jejuno com nódulos amarelados distribuídos aleatoriamente na serosa intestinal medindo de 1,0 a 5,0 cm de diâmetro. (C) Superfície de corte de nódulo no intestino delgado do Bovino 24, em que há infiltração tumoral delimitada a serosa intestinal. (D) Bovino 24. Em outro fragmento do intestino delgado o nódulo foi observado sobre a mucosa intestinal.	48
Figura 13 – Rim de bovino com linfossarcoma. (A) Bovino 2. O rim está difusamente pálido, aumentado de volume e com áreas deprimidas e avermelhadas (áreas de infarto). (B) Rim do Bovino 30 apresentando aumentado de volume, com múltiplos nódulos salientes e branco-amarelados distribuídos sobre a superfície capsular. (C) Bovino 13. Observa-se massa tumoral amarelada com áreas avermelhadas e dilatação leve na região da pelve renal. (D) Imagem aproximada da figura 11C, evidenciando a massa tumoral na pelve renal.....	49
Figura 14 – Bovino 24. Útero. No colo uterino há uma massa com 7,0 cm de diâmetro ocluindo o canal da cérvix. Ao corte essa massa apresenta coloração amarelo pálida com áreas centrais amareladas e esbranquiçadas.	50
Figura 15 – Bovino 14, olho. Superfície de corte evidenciando massa tumoral esbranquiçada comprimindo o globo ocular direito. Ao se comparar com o olho esquerdo com estruturas anatômicas perioculares intactas, nota-se que a massa neoplásica infiltra e obscurece tecidos oftálmicos.	51

Figura 16 – Musculatura esquelética do Bovino 20 com infiltração por linfossarcoma. Fragmento do quadríceps apresentando nodulações multifocais amareladas com 0,5 a 2,0 cm de diâmetro.	52
Figura 17 – Bovino 9, coração, linfossarcoma. Observa-se infiltrado difuso de linfócitos neoplásicos arranjados em cordão, infiltrando-se entre os cardiomiócitos, levando a atrofia e perda das células cardíacas. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 10.	53
Figura 18 – Bovino 30, rim, linfossarcoma. Infiltrado de linfócitos neoplásicos difuso no parênquima renal. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 10.....	54
Figura 19 – Bovino 28, massa tumoral aderida à serosa do intestino delgado, linfossarcoma. Infiltrado de linfócitos neoplásicos difuso de células predominantemente pequenas e núcleo não clivado. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 20.....	55
Figura 20 - Linfossarcoma, medula espinhal, Bovino 15. Imagem submacroscópica da medula espinhal com massa tumoral limitada sobre a meninge e envolvendo nervos...	56
Figura 21 - Raiz de nervo, linfossarcoma Bovino 3. Células linfocíticas neoplásicas ao redor da raiz de nervo. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 40.	56
Figura 22 - Linfossarcoma, fígado, Bovino19. Infiltrado de linfócitos neoplásicos no interior de sinusoides com necrose hepatocelular centrolobular associada. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 5.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

ELISA: Ensaio imunoenzimático

HE: Hematoxilina e eosina.

HTLV 1: Vírus da Leucemia dos Linfócitos T em Humanos 1.

HTLV 2: Vírus da Leucemia dos Linfócitos T em Humanos 2.

IDGA: Teste de imunodifusão em gel de ágar.

LBE: Leucose Bovina Enzoótica.

LP: Linfocitose persistente.

PCR: Reação em cadeia da polimerase.

RIE: Radioimunoensaio.

RNA: Ácido ribonucleico.

SPV-UFRGS: Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

VLB: Vírus da Leucemia Bovina.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. Leucose Bovina	15
2.2. Histórico	16
2.3. Agente etiológico	17
2.4. Epidemiologia	19
2.5. Patogênese	21
2.6. Manifestações da Leucose Bovina Enzoótica	22
2.7. Achados Patológicos	24
2.8. Diagnóstico	26
2.9. Diagnóstico Diferencial	28
2.10. Controle e prevenção.....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Procedimentos gerais.....	32
3.2 Necropsia e análises histológicas	32
4. RESULTADOS	34
4.1. Dados Gerais	34
4.2. Sinais clínicos	35
4.3. Resultados Macroscópicos	39
4.4. Resultados Microscópicos	53
5. DISCUSSÃO	59
6. CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1. INTRODUÇÃO

A leucose bovina enzoótica (LBE) é uma enfermidade infectocontagiosa associada à proliferação crônica de linfócitos em bovinos adultos. Ela é ocasionada pelo Vírus da Leucemia Bovina (VLB) pertencente à família *Retroviridae* e sub-família *Orthoretrovirinae* (RADOSTITS *et al.*, 2002; RAVAZZOLO; COSTA, 2007). A LBE abrange duas manifestações; a linfocitose persistente (LP), em que se observa um aumento crônico benigno do número de linfócitos circulantes, e a forma multicêntrica de linfossarcoma em bovinos adultos (MEGID *et al.* 2003; BARROS, 2007a). Porém a maioria dos bovinos, infectados pelo VLB, permanece como portadores assintomáticos atuando como fonte de infecção (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

A transmissão do VLB ocorre pela transferência de linfócitos infectados entre animais contaminados e animais não contaminados. A principal forma de propagação dentro do rebanho ocorre devido a práticas rotineiras de manejo como vacinações, coletas de sangue, palpação retal, tatuagem, colocação de brincos e qualquer outro procedimento que leve a transmissão de células sanguíneas contaminadas entre bovinos. Outras formas menos frequentes de transmissão são através de vetores hematófagos, via uterina ou através da ingestão de colostro e leite (TYLER, 1978; DIGIACOMO, 1992b e c; RADOSTITS *et al.*, 2002; BARROS, 2007a).

A LBE ocorre em todas as raças de bovinos com idade superior a dois anos, sendo que a maior incidência ocorre com o aumento da idade (DIGIACOMO, 1992a; BRAGA *et al.*, 1998). A prevalência da infecção pelo VLB também é maior em rebanhos leiteiros do que em rebanhos de corte. Esse fator provavelmente se deve a idade média mais alta dos animais e ao manejo utilizado em criações de bovino de leite (DIGIACOMO, 1992a; FLORES *et al.*, 1992; BRAGA *et al.*, 1998). As perdas econômicas ocasionadas pela infecção pelo VLB estão relacionadas à condenação de carcaças, morte de animais com linfossarcoma, barreira para exportação e queda na produção de leite (TYLER, 1978; THURMOND, 2006; RAJÃO, 2008).

As manifestações clínicas observadas na LBE estão relacionadas à localização das massas neoplásicas, podendo apresentar uma ampla variedade de sinais clínicos de acordo com o órgão afetado. Dentre os principais sinais clínicos estão o aumento do volume de linfonodos superficiais, perda de condição corpórea, anorexia, diarreia,

exoftalmia, quadro de insuficiência cardíaca, perdas reprodutivas e quadro neurológico caracterizado por incoordenação ou paresia progressiva dos membros posteriores (REED, 1981; LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Na necropsia massas tumorais branco-amareladas, de consistência macia a moderadamente firme por vezes com área central de hemorragia e/ou necrose são observadas afetando principalmente linfonodos, trato gastrointestinal, coração, rim, tecidos perioftálmicos, útero e tecidos epidurais da medula espinhal (BRAGA *et al.*, 1998; WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004).

Na histologia, essas massas tumorais, correspondem à proliferação de células linfocíticas morfológicamente atípicas infiltradas nos tecidos afetados. A variante não clivada, de células pequenas a médias com infiltrado de forma difusa e alto índice mitótico é a forma característica mais observada na LBE (VALLI *et al.*, 1981). A imunofenotipagem é realizada para apontar a etiologia dos linfócitos, e tem demonstrado que na maioria dos casos as células são linfócitos do tipo B (BARROS, 2007a).

O teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), é a prova sorológica mais utilizada no diagnóstico da infecção pelo VLB. O controle da infecção é baseado na detecção e descarte de bovinos sorologicamente positivos (MEGID *et al.*, 2003). Em bovinos com linfossarcoma multicêntrico dos adultos o diagnóstico pode ser realizado com base nos achados clínicos e pós-mortais (BARROS, 2007a).

Este trabalho tem por objetivo descrever os achados clínicos e patológicos de 30 casos de LBE diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) no período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011, com ênfase na ocorrência de quadros com alterações de locomoção associados a infiltração da medula espinhal por massas neoplásicas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Leucose Bovina

A leucose bovina, também denominada de linfoma maligno, linfossarcoma ou leucemia bovina, é a enfermidade neoplásica mais comum em bovinos de leite, caracterizada pela proliferação de linfócitos. Ela é classificada em relação a sua frequência de ocorrência, aos órgãos acometidos, a idade em que ocorre e ao agente etiológico envolvido (THURMOND, 2006; DUNCAN; SCARRATT; BUEHRING, 2005). Duas formas da leucose podem ser observadas a esporádica e a enzoótica. A leucose bovina esporádica é de ocorrência rara, dificilmente se observa mais de um caso no mesmo rebanho e acomete bovinos com idade inferior a quatro anos. Possui três apresentações distintas: a forma multicêntrica juvenil ou do bezerro, a tímica e a cutânea. Enquanto que a leucose bovina enzoótica (LBE) é uma enfermidade infecto-contagiosa de origem viral que afeta linfócitos B levando a linfocitose e/ou linfossarcomas (BRAGA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002).

A forma multicêntrica juvenil é caracterizada por linfadenopatia generalizada em bezerros, normalmente com idade entre três e seis meses, com envolvimento neoplásico de diversos órgãos (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Na forma tímica o tecido neoplásico é encontrado principalmente no timo, os sinais clínicos estão relacionados à presença da massa tumoral junto à região pré-esternal na entrada do tórax. Os bovinos afetados pela forma tímica tem usualmente entre seis a 24 meses de idade, e a raça Hereford aparenta ter uma predisposição a essa forma de apresentação (THURMOND, 2006; BARROS, 2007a).

A terceira forma da leucose bovina esporádica é a cutânea, caracterizada pelo desenvolvimento de múltiplas nodulações elevadas e ulceradas na pele e os linfonodos superficiais também estão frequentemente aumentados (RADOSTITS *et al.*, 2002; BUCZINSKI *et al.*, 2006). Essa forma não é específica em relação à idade e pode afetar bovinos de um a três anos de idade. Essas tumorações cutâneas podem regredir espontaneamente, mas acabam recidivando. Na necropsia além da pele e linfonodos

pode haver invasão tumoral de diversos órgãos e a lesão histológica na pele assemelha-se a micose fungoide do homem (THURMOND, 2006; BARROS, 2007a).

Embora a maioria dos autores relate que nas formas esporádicas não há evidências de envolvimento viral (RADOSTITS *et al.*; 2002, THURMOND, 2006; BARROS; 2007a), Duncan Jr. e colaboradores (2005) descrevem a detecção através da reação de polimerase em cadeia *in situ* do vírus da leucemia bovina em um caso de linfossarcoma tímico esporádico.

A forma enzoótica da leucose bovina é causada pelo vírus da leucemia bovina (VLB) que infecta principalmente os linfócitos B (RAVAZZOLO; COSTA, 2007). A enfermidade tem um longo período de evolução, e normalmente a maior parte dos bovinos infectados não apresentam alterações clínicas. Estes permanecem como portadores assintomáticos e atuam como transmissores do vírus. A LBE é caracterizada por duas manifestações distintas, a linfocitose persistente (LP) e a proliferação neoplásica maligna de linfócitos em diversos órgãos (linfossarcoma multicêntrico do adulto). Na LP há um aumento benigno de linfócitos B circulantes e aproximadamente 30% dos bovinos infectados desenvolvem essa forma. Apenas 2 a 5% dos animais portadores do VLB desenvolvem a forma de linfossarcomas multicêntricos e irão manifestar sinais clínicos de acordo com os órgãos afetados. Os sinais clínicos da LBE ocorrem em bovinos com idade acima de dois anos, principalmente em animais com idade entre quatro e oito anos (FERRER *et al.*, 1979; BRAGA *et al.*, 1998; LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

2.2. Histórico

A leucose bovina foi descrita pela primeira vez na Alemanha em um bovino que apresentava esplenomegalia com nódulos branco-amarelados compostos de células linfóides (LEISERING, 1871 *apud*; OLSON; MILLER, 1987). Acredita-se que a origem da LBE seja na Europa, na Prússia Oriental e que foi se expandindo em direção ao oeste (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001). Após a segunda guerra mundial, os relatos no gado bovino se tornaram comuns em diversos países da Europa Oriental (RADOSTITS *et al.*, 2002). O vírus foi introduzido na América do Norte no

final do século 19 devido à importação de bovinos da região do Mar Báltico. Por fim o vírus se disseminou por diversos países do mundo devido à importação de animais desses países (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Kenneth (1917 *apud* RAVAZZOLO; COSTA, 2007) demonstrou que a doença era causada por um agente infeccioso. Em 1976, foram observadas que as partículas virais possuíam RNA contendo a enzima transcriptase reversa, sendo possível classificar o VLB como um retrovírus (KETTMANN *et al.*, 1976 *apud* RAVAZZOLO; COSTA, 2007).

No Brasil a enfermidade foi descrita pela primeira vez por Rangel e Machado (1943 *apud* LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001) e a ocorrência da infecção pelo VLB foi comprovada em animais importados dos Estados Unidos, Canadá e Uruguai, demonstrando que a importação de animais contribuiu para introdução e difusão da LBE no país (KANTEK-NAVARRO; KRUGER; WELTE, 1982; MODENA *et al.*, 1983; FLORES *et al.*, 1992).

2.3. Agente etiológico

A LBE tem como agente etiológico o Vírus da Leucemia Bovina (VLB), que pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e é classificado no gênero *Deltaretrovirus* (RAVAZZOLO; COSTA, 2007). Outros vírus da subfamília *Orthoretrovirinae*, além do VLB, que apresentam importância na medicina veterinária, são Vírus da Leucose Aviária, Vírus da Anemia Infecciosa Equina, Vírus da Artrite Encefalite Caprina, Vírus Maedi Visna dos ovinos, Vírus da Imunodeficiência Bovina, Vírus da Imunodeficiência Felina e Vírus da Leucemia Felina (RAVAZZOLO; COSTA, 2007).

Os retrovírus possuem vírions envelopados, esféricos, de 80 a 120 nm de diâmetro com duas moléculas idênticas de RNA de fita simples como genoma, e por isso seu genoma viral é denominado diploide (WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004; RAVAZZOLO; COSTA, 2007). Os vírus dessa família são mais resistentes a raios ultravioletas e radiações-X do que outros vírus. No entanto são inativados por detergentes e solventes lipídicos, ou ainda pelo calor, a temperatura de 56° C durante 30 minutos (BRAGA *et al.*, 1998).

Retrovírus são capazes de sintetizar moléculas de DNA através da transcrição do seu genoma e esta reação é possível devido à enzima transcriptase reversa encontrada no interior dos vírions. O prefixo “retro” utilizado para denominar os membros dessa família originou-se devido à presença dessa enzima (BRAGA *et al.*, 1998). Outro mecanismo fundamental da replicação dos retrovírus é a capacidade de integrar a cópia de DNA do seu ácido nucleico no genoma da célula hospedeira. Esse mecanismo é responsável pela infecção persistente observada no ciclo de replicação dos retrovírus (RAVAZZOLO; COSTA, 2007).

A estrutura dos vírions é composta de três camadas. A mais interna denominada núcleo ou *core* é um complexo de genoma e proteínas como a protease, transcriptase reversa e a integrase que irão desempenhar a função catalítica. Esta estrutura por sua vez é envolvida por um capsídeo, formado por proteínas, e apresenta forma esférica ou cônica. Após o capsídeo há um revestimento de proteínas da matriz que serão então envolvidas pelo envelope glicoproteico (BRAGA *et al.*, 1998; WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004; RAVAZZOLO; COSTA, 2007).

O genoma do VLB possui três genes principais *gag* (antígeno grupo específico), *pol* (polimerase) e *env* (envelope) que codificam as proteínas estruturais, enzimas e proteínas de envelope, respectivamente (BRAGA *et al.*, 1998). Esses genes estão presentes no genoma do RNA dos membros da família *Retroviridae* (RAVAZZOLO; COSTA, 2007). O genoma do VLB possui ainda genes acessórios, e por isso é denominado como um retrovírus complexo. Entre eles estão reconhecidos os genes Tax e Rex que estão envolvidos na regulação da expressão gênica (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001). Esses genes acessórios também são observados no Vírus da Leucemia dos Linfócitos T em Humanos 1 e 2 (HTLV-1 e 2) e devido essa homologia genética os VLB também tem sido usado como modelo de estudo dessa doença (WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004; RAVAZZOLO; COSTA, 2007).

2.4. Epidemiologia

O VLB está distribuído mundialmente e possui caráter endêmico em diversos países, embora já existam regiões e países, como Alemanha, Dinamarca, Finlândia e a região da baixa Silesia, na Polônia, que erradicaram a infecção (NUOTIO, 2003; RADOSTITS *et al.*, 2002; OTACHEL-HAWRANEK, 2007). A prevalência varia amplamente entre rebanhos, no entanto, existem rebanhos bovinos infectados que apresentam soroprevalência entre 60 a 90% (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001; RADOSTITS *et al.*, 2002). A infecção natural pelo VLB além dos bovinos, também foi demonstrada em ovinos, búfalos e capivaras (*Hydrochoerus hydrochoerus*) (MOLNÁR *et al.*, 2000; WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004). Experimentalmente ovinos, caprinos e coelhos já apresentaram soroconversão após a inoculação com VLB, sendo que os ovinos são utilizados para teste de bioensaio para detecção do vírus em bovinos (WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004).

O VLB pode ser detectado no leite de vacas infectadas, e a ingestão de leite sem pasteurização representa um risco, no entanto não há evidências de que o VLB tenha potencial zoonótico (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Todas as raças de bovinos são susceptíveis a infecção pelo VLB e normalmente os animais acometidos pelas duas formas clínicas apresentam mais de dois anos de idade, sendo que a prevalência aumenta com a idade e há uma maior incidência de desenvolvimento de tumores em bovinos com idade entre quatro e oito anos (DIGIACOMO, 1992a; BRAGA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002). Após a infecção natural pelo VLB os bovinos permanecem portadores, assim como em outras infecções por retrovírus, e irão atuar como fonte de disseminação do vírus por toda vida (FLORES; WEIBLEIN; REBELATTO, 1990). A prevalência também é mais alta em rebanhos de produção leiteira do que em rebanhos de corte (BRAGA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002). Estudos sorológicos na América do Norte revelaram que 9,3% dos bovinos de leite testados foram positivos, enquanto que no rebanho de corte o índice de animais positivos foi de 0,5% (DIGIACOMO, 1992a). Flores *et al.* (1992) em um estudo sorológico, de soros de bovinos provenientes da República Oriental do Uruguai, encontrou um maior índice de positividade para o VLB em raças leiteiras

(12,13%) do que em raças de corte (1,43%). Essa diferença é atribuída à forma intensiva de criação do gado leiteiro, e também a permanência dos animais até idades mais avançadas nas propriedades, o que favorece a difusão do agente e aumenta a probabilidade de contágio (DIGIACOMO, 1992a; FLORES *et al.*, 1992).

Como o VLB está presente no interior de células linfoides, e este não produz normalmente partículas víricas livres, a sua transmissão está ligada à transferência de linfócitos infectados entre os animais (FLORES; WEIBLEIN; REBELATTO, 1990). Logo a principal forma de transmissão do vírus é através de fluidos biológicos que contenham linfócitos infectados.

O VLB pode ser transmitido tanto de forma horizontal como de forma vertical (BRAGA *et al.*, 1998). Em condições naturais, o modo mais comum de disseminação é através da transmissão horizontal, sendo o sangue contaminado o principal meio de transmissão do vírus (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001). Em estudos experimentais, já se induziu a infecção em bovinos pela inoculação intradermal de até 25.000 linfócitos de bovino infectado com VLB, que eram equivalentes a 0,5 μ L de sangue total, e também em bezerros através da inoculação subcutânea, intramuscular e intravenosa de 1 ou 10 μ L de sangue de um bovino infectado pelo VLB sem linfocitose (EVERMANN *et al.*, 1986; DIGIACOMO, 1992b). Portanto a transmissão horizontal da VLB pode ocorrer através de qualquer procedimento que leve a transferência de sangue entre bovinos. Sendo assim a transmissão iatrogênica é apontada como a principal forma de disseminação da doença dentro do rebanho. Procedimentos de manejo como vacinações, descorna, colocação de brinco, palpação retal, intervenções cirúrgicas, transfusões sanguíneas, tatuagem, injeções sem os devidos cuidados de profilaxia podem levar a infecção pelo VLB (REED, 1981; DIGIACOMO; DARLINGTON; EVERMANN, 1985; HOPKINS *et al.*, 1988; DIGIACOMO, 1992b; LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001). A transmissão por picadas de insetos também é relatada, e tem maior importância nas regiões onde há grande incidência de insetos hematófagos (DIGIACOMO, 1992b; FLORES *et al.*, 1992). O sêmen, embriões ou óvulos de bovinos infectados dificilmente se apresentam contaminados pelo VLB e parecem ter pouca importância epidemiológica na transmissão. Mesmo em estudos experimentais utilizando sêmen contaminado pelo vírus não se obteve transmissão (DIGIACOMO, 1992c; BRAGA *et al.*, 1998). Porém como pode conter linfócitos

contaminados no sêmen, preconiza-se que animais de centros de inseminação artificial sejam soronegativos para o VLB (RADOSTITS *et al.*, 2002).

A transmissão vertical do VLB pode ocorrer pela via uterina ou através da ingestão de colostro e leite contendo linfócitos contaminados, no entanto menos de 10% de animais nascidos de fêmeas soropositivas são infectados (DIGIACOMO, 1992c; LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

A aquisição de animais infectados, sem testes prévios, tem sido um dos principais fatores de risco para introdução de VLB em rebanhos suscetíveis. No Brasil, a ausência de legislação e fiscalização efetiva em relação ao comércio de animais infectados contribuiu para disseminação do vírus nos rebanhos (FLORES *et al.*, 1992).

Diversos estudos sorológicos tem demonstrado a infecção pelo VLB no mundo, e as taxas de prevalência tem ampla variação (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001). No Brasil já foram feitos estudos sorológicos em todas as regiões e os índices de soroprevalência também tem variado consideravelmente: 9,7% no Acre e 23% em Rondônia (ABREU *et al.*, 1990), 49,8% no Pará (MOLNÁR *et al.*, 1999), 37% na região Norte de Tocantins (FERNANDES *et al.*, 2009), 7,5% em bovinos de um a quatro anos de propriedades na Bahia (SARDI *et al.*, 2002), 35,9% na bacia leiteira de Goiânia em Goiás (ANDRADE; ALMEIDA, 1991), 49,2% e 54% em São Paulo (D'ANGELINO; GARCIA; BIRGEL, 1998; BIRGEL JÚNIOR *et al.*, 1995), 52% na Serra de Botucatu em São Paulo (MEGID *et al.*, 2003), 56,34% em Curitiba no Paraná (BARROS FILHO *et al.*, 2009), 20,7% no Paraná (KANTEK; KRUGER; WELTE, 1983) e de 9,2% no Rio Grande do Sul (MORAES *et al.*, 1996).

2.5. Patogênese

Após entrar no organismo do hospedeiro o VLB se estabelece em linfócitos B, embora também possa infectar linfócitos T (FLORES *et al.*, 1992; WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004; RAVAZZOLO; COSTA, 2007). A infecção inicia pelo reconhecimento e ligação do vírion a superfície da célula hospedeira. Esta etapa é mediada pelas glicoproteínas gp51 e gp30 presentes na superfície do envelope viral que irá interagir com a membrana da célula-alvo através de receptores específicos,

propiciando a fusão do envelope viral com a membrana plasmática da célula. Após se estabelecer dentro da célula, o vírus irá integrar a cópia do seu DNA (provírus) ao DNA da célula hospedeira. O DNA pró-viral na célula irá produzir novos vírions que podem escapar da célula hospedeira e infectar novas células (RAVAZZOLO; COSTA, 2007).

Depois de infectado pelo VLB, o sistema imunológico do bovino apresentará uma resposta imune humoral com a produção de anticorpos contra proteínas estruturais dos vírions, como a glicoproteína do envelope gp51 e a nucleoproteína p24 (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001). Assim a infecção se estabelece sem sinais clínicos, porém há o desenvolvimento de níveis detectáveis de anticorpos. Posteriormente o bovino infectado pode manifestar LP ou linfossarcoma multicêntrico. O desenvolvimento de qualquer uma das formas parece ser determinado geneticamente (FLORES; WEIBLEN; REBELATTO, 1990; MORAES *et al.*, 1996; BRAGA *et al.*, 1998).

2.6. Manifestações da Leucose Bovina Enzoótica

A maioria dos bovinos infectados pelo VLB permanece assintomático por longo período ou mesmo por toda a vida, no entanto cerca de 30% dos animais desenvolverão quadro de LP, enquanto que menos de 5% podem desenvolver os linfossarcomas. Os animais com linfossarcoma podem ou não ter passado por um estágio de linfocitose persistente (EVERMANN, 1992; MORAES *et al.*, 1996; AZEVEDO *et al.*, 2008).

A LP é uma manifestação hematológica da doença, caracterizada pelo aumento crônico benigno do número de linfócitos circulantes, ou seja, a contagem absoluta linfocitária estará de três ou mais desvios padrões acima da média normal estabelecida para a raça e faixa etária dos animais, mantendo esse aumento por pelo menos três meses. A maioria das células observadas na LP é constituída de linfócitos normais, porém pode haver um aumento das formas linfocitárias atípicas (BIRGEL JÚNIOR *et al.*, 2001; RADOSTITS *et al.*, 2002; RAJÃO, 2008). Essas alterações hematológicas ocorrem pelo desequilíbrio entre a proliferação e a morte das células e podem ser devido à capacidade do vírus em estimular a proliferação celular ou reduzir a apoptose. As proteínas virais do VLB levam a um aumento dos níveis de interleucina 2 que por sua

vez estimula a proliferação de linfócitos, enquanto a expressão do VLB por um linfócito infectado aumenta a sobrevivência desta célula, por estacionar o ciclo celular, retardando a apoptose fisiológica (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001; RAJÃO, 2008).

As manifestações clínicas da LBE são resultantes da forma do linfossarcoma multicêntrico do adulto. Há uma grande variação de sinais e síndromes clínicas que irão depender da localização das massas tumorais. O curso da doença também vai depender do sítio das lesões e da velocidade de crescimento dos tumores (BRAGA *et al.*, 1998).

Nos casos superagudos, os bovinos, que normalmente tem boa condição corporal, morrem subitamente sem sinais anteriores da doença. Esses quadros estão relacionados ao envolvimento de úlcera abomasal ou ruptura do baço com infiltrado tumoral seguido de hemorragia interna aguda (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Entretanto a maioria dos casos tem curso clínico subagudo ou crônico podendo durar até vários meses. Os bovinos acometidos podem apresentar queda na produção de leite e perda de peso, normalmente ocasionada por perda de apetite e quadros de diarreia (BRAGA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002; BARROS, 2007a). Alguns bovinos apresentam quadros de diarreia persistente ou melena devido ao comprometimento da parede abomasal (BRAGA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002, VALLI, 2007).

Um dos principais achados clínicos é o aumento de volume dos linfonodos superficiais, principalmente dos pré-escapulares e subilíacos, que normalmente são firmes, indolores e não aderidos ao tecido subcutâneo. O aumento de linfonodos viscerais também é comum e pode ser detectado durante a palpação retal. Se houver lesões tumorais no peritônio e nos órgãos pélvicos estes também serão detectáveis através da palpação retal (GRIMSHAW *et al.*, 1979; RADOSTITS *et al.*, 2002, BARROS, 2007a).

No coração, pode haver lesões principalmente no átrio direito levando a quadros de insuficiência cardíaca congestiva direita, com edema subcutâneo na região ventral, e ingurgitamento e pulso das veias jugulares evidentes. Devido ao envolvimento cardíaco pode haver alterações da frequência cardíaca ou abafamento dos sons cardíacos em casos de hidropericárdio. A infiltração neoplásica nos tecidos retrobulbares ocasiona exoftalmia unilateral ou bilateral (BRAGA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002, VALLI, 2007). Quadro clínico de disfunção medular, caracterizados por incoordenação,

paresia ou paralisia motora dos membros posteriores, ocorre devido a compressão da medula espinhal por massas neoplásicas na região epidural (RIET-CORREA; SCHILD; FERNANDES, 1998; BARROS, 2007a).

São observados ainda quadros de febre, anemia devido à perda de sangue no trato gastrointestinal, dispneia ou constipação devido à compressão por massas neoplásicas de vias aéreas ou tubo gastrointestinal, respectivamente. Sinais clínicos menos comuns envolvem hidronefrose e aumento de volume renal devido a tumores no tecido renal ou nos ureteres, e quadros de infertilidade relacionados a massas na parede do útero, e complicações no parto devido à compressão das vias do parto (RADOSTITS *et al.*, 2002, VALLI, 2007).

2.7. Achados Patológicos

Durante a necropsia de bovinos com linfossarcoma multicêntrico observa-se tecido tumoral de coloração amarelo-esbranquiçada, formando nódulos ou se infiltrando difusamente no tecido, em diversos órgãos. Dentre os principais locais de ocorrência estão os linfonodos, coração, abomaso, intestino, rins, tecidos epidurais da medula espinhal, entre outros (BRAGA *et al.*, 1998; BARROS, 2007a).

Os linfonodos superficiais e internos podem apresentar aumento de volume, e ao corte se tornam protuberantes, com superfície de coloração branco-amarelada e por vezes sem distinção entre as zonas cortical e medular. Algumas vezes linfonodos afetados podem se coalescer e formar grandes massas (FRY; MCGAVIN, 2007).

Na lesão cardíaca, as massas tumorais podem apresentar-se pálidas difusas ou formando nódulos. Normalmente aparecem no subepicárdio do átrio direito, mas pode se estender para o miocárdio e até mesmo no tecido pericárdico. Se ocorrer infiltração cardíaca no lado direito, observar-se insuficiência cardíaca congestiva e em consequência quadros de edema. Também pode ser notado fígado aumentado de tamanho com aspecto de noz-moscada (BARROS, 2007a; VALLI, 2007).

Na forma entérica da doença o abomaso está com a parede espessa e por vezes com ulcerações profundas no local da lesão. Na parede intestinal também há infiltração

tumoral podendo em alguns casos ocasionar obstruções (RADOSTITS *et al.*, 2002, VALLI, 2007).

No sistema nervoso central, o linfoma se manifesta no interior do canal vertebral envolvendo nervos periféricos e causando compressão da medula. Geralmente surgem do segmento da medula na última lombar ou primeira sacral e mais raramente da cervical cranial. Esses tumores tem coloração levemente rósea e podem ser confundidos com o tecido adiposo presente no canal medular (RADOSTITS *et al.*, 2002, FRY; MCGAVIN, 2007; VALLI, 2007). Linfossarcomas no encéfalo são raramente relatados, mas podem ser encontrados comprimindo ou infiltrando áreas do tecido nervoso (SWEENEY *et al.*, 1986; FIGHERA; BARROS, 2004).

A infiltração de linfócitos no baço e no fígado ocasiona aumento difuso ou formações nodulares no órgão. O baço muitas vezes se torna friável, podendo romper e ocasionar hemoperitônio e morte por choque hipovolêmico (VALLI, 2007). Na região retrobulbar podem ocorrer massas esbranquiçadas e firmes que ocupam o espaço retro-orbital e levam a exoftalmia unilateral ou bilateral. Nos rins e ureteres, geralmente próximos à pelve renal, ovários e útero, também podem ser visualizadas massas nodulares ou infiltração difusa. Em grandes massas tumorais as áreas centrais podem apresentar necrose tecidual e infecções secundárias. (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Na histologia, essas massas tumorais correspondem à proliferação de células linfocíticas morfológicamente atípicas com estroma escasso e infiltradas nos tecidos afetados. Essas células podem estar arrançadas em dois padrões histológicos, difuso no tecido ou formando estruturas foliculares, sendo denominados de padrão difuso ou folicular, respectivamente. Os linfossarcomas são classificados ainda em relação ao tamanho da célula neoplásica, as características nucleares, a taxa de mitose e ao comportamento biológico (FRY; MCGAVIN, 2007). Com relação ao tamanho dos linfócitos podem ser classificados em linfomas de células pequenas ou grandes. Já em relação às características nucleares quando o núcleo apresenta a cromatina dispersa com nucléolos evidentes é denominado de células clivadas e quando apresenta a cromatina condensada é denominado de células não clivadas (VALLI *et al.*, 1981; FRY; MCGAVIN, 2007). A variante não clivada, de células pequenas a médias, com infiltrado de forma difusa e alto índice mitótico parece ser a forma característica mais

observada na LBE, estando também associada à maioria dos bovinos com idade mais avançada (VALLI *et al.*, 1981).

A imunofenotipagem de linfócitos, é uma técnica que utiliza anticorpos que reconhecem moléculas específicas nas células, através dela é possível diferenciar linfócitos B e T (FRY; MCGAVIN, 2007). A utilização dessa técnica em linfossarcomas na LBE tem demonstrado que na maioria dos casos as células são linfócitos do tipo B (BARROS, 2007a).

2.8. Diagnóstico

O diagnóstico da LBE é fundamentado em dois aspectos principais: o diagnóstico da infecção pelo VLB e o da ocorrência de LP ou linfossarcomas. Portanto o diagnóstico da infecção viral é obtido por técnicas sorológicas, isolamento viral e/ou detecção de antígenos virais, enquanto que o diagnóstico da LP e linfossarcomas são obtidos através dos achados hematológicos e clinico-patológicos, respectivamente (RADOSTITS *et al.*, 2002; RAVAZZOLO; COSTA, 2007).

O histórico, sinais clínicos e achados patológicos em animais com linfossarcomas são suficientes para permitir o diagnóstico de leucose bovina (BARROS, 2007a). Entretanto, para comprovação de envolvimento do VLB é necessário à detecção do agente ou a demonstração de resposta imune ao vírus, considerando-se os dados epidemiológicos e a cronologia de soroconversão (EVERMANN, 1992; RADOSTITS *et al.*, 2002).

O diagnóstico da LP baseia-se em alterações hematológicas, ou seja, há um aumento crônico de linfócitos circulantes em relação ao valor de referência estabelecido. Além do aumento do número de linfócitos também podem ser visualizados linfócitos com formatos atípicos. Antes do estabelecimento dos testes de sorologia para VLB, o critério de diagnóstico utilizado nos programas de controle e erradicação foi baseado na contagem de linfócitos circulantes (TYLER, 1978; BIRGEL JÚNIOR *et al.*, 2001; RADOSTITS *et al.*, 2002). Com o surgimento de novos estudos, estabeleceu-se que apenas 30% dos bovinos infectados pelo vírus apresentam LP e que o aumento dos linfócitos circulantes pode ocorrer apenas em um período transitório ou

ainda em outras enfermidades. (TYLER, 1978; BARROS, 2007a). Esses fatores e o advento dos testes sorológicos levaram ao desuso da técnica de leucometria nos programas de controle da LBE (EVERMANN, 1992).

O linfossarcoma é diagnosticado através da observação do quadro clínico-patológico dos animais doentes e do exame histológico de amostras tumorais coletadas durante a necropsia, ou ainda retiradas por biópsia, em que se observa a proliferação de linfócitos atípicos infiltrados nos tecidos afetados. O diagnóstico citológico por aspirado de linfonodos periféricos com aumento de volume pode ser realizado, porém a quantidade limitada de células e a baixa anaplasia dos linfócitos tumorais pode impedir uma avaliação definitiva (RADOSTITS *et al.*, 2002; BARROS, 2007a).

As provas sorológicas são recomendadas para detecção de animais portadores e fundamentais nos programas de controle e erradicação da LBE (EVERMANN, 1992). A maioria dos testes detectam anticorpos contra as glicoproteínas gp51 e gp30 do envelope, ou a proteína p24 presente no capsídeo viral do VLB (TYLER, 1978; REED, 1981). Os testes sorológicos mais utilizados são o teste de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), radioimunoensaio (RIE) e de ensaio imunoenzimático (ELISA) (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

O teste de IDGA é o método que se baseia na detecção de anticorpos contra proteínas e glicoproteínas virais presentes no soro. O princípio do teste está na atração entre antígeno e anticorpo que migram através do ágar e ao se encontrarem forma uma linha de precipitação (REED, 1981). Devido ao seu baixo custo, praticidade e especificidade, essa técnica tem sido utilizada pela maioria dos governos como teste oficial para certificação e controle do trânsito internacional de bovinos (RADOSTITS *et al.*, 2002; OIE, 2008). Resultados falsos negativos ao teste de IDGA podem ocorrer em animais recém-infectados que ainda não produziram níveis detectáveis de anticorpos ou ainda em fêmeas nos períodos próximo ao parto ou colostrado, em que há mobilização de anticorpos para o colostro. Já resultados falso-positivos ocorrem em bovinos com menos de sete meses devido à imunidade passiva adquirida pela ingestão do colostro de fêmeas infectadas. Para evitar resultados falsos, o teste de IDGA não é utilizado em bovinos com menos de três meses e em fêmeas no período de periparto e se preconiza que bovinos com resultados negativos sejam testados novamente após três meses (TYLER, 1978; BRAGA *et al.*, 1998).

O teste de RIE e ELISA apresenta maior sensibilidade que o teste de IDGA e podem ser utilizados em amostras de soro e leite. O teste do leite é um método utilizado em programas iniciais de erradicação, pois é prático em estudos epidemiológicos em grande escala. O único agrave é que os demais animais que não estiverem em lactação devem ser testados individualmente para atestar a propriedade como livre do VLB (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Entre os testes de diagnóstico de detecção do antígeno está o isolamento viral e a microscopia eletrônica, que pode ser realizada em partículas do VLB obtidas por cultivos celulares (WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004). O VLB tem demonstrado induzir a formação de sincício em algumas linhagens celulares, devido à habilidade da glicoproteína gp51, encontrada no envelope viral, em induzir a fusão celular. Esta técnica por ser laboriosa e demorada é mais utilizada para estudos do vírus e tem maior importância na identificação de animais jovens que se infectam pela transmissão vertical, já que ao contrário dos testes sorológicos, não sofre interferência dos anticorpos colostrais (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) e a reação em cadeia da polimerase in situ são técnicas sensíveis e específicas utilizadas para diagnóstico direto do VLB (RADOSTITS *et al.*, 2002; DUNCAN; SCARRATT; BUEHRING, 2005). A técnica de PCR identifica o DNA pró-viral do VLB e pode ser útil para o diagnóstico em animais jovens, já que não sofre interferência de anticorpos colostrais (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

2.9. Diagnóstico Diferencial

As manifestações clínicas do linfossarcoma multicêntrico dos adultos variam conforme o órgão envolvido. Devido às diversas apresentações clínicas, várias doenças são citadas como diagnóstico diferencial da leucose bovina (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Bovinos adultos que apresentam perda de peso e aumento dos linfonodos periféricos podem também ser observados em doenças como a tuberculose e actinobacilose (WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004). Quando não há o envolvimento de linfonodos superficiais, a forma entérica da doença pode ser

confundida com outras enfermidades que ocasionam diarreia como a paratuberculose (RADOSTITS *et al.*, 2002).

No caso de animais com comprometimento cardíaco, pela infiltração tumoral, pode ser observado quadro de insuficiência cardíaca congestiva, que também ocorre em casos de retículo-pericardite traumática, endocardite, intoxicação crônica por antibióticos ionóforos e plantas cardiotoxícas como *Atlelia glazioviana* e *Tetrapteryx* spp. Nos casos de inflamação cardíaca há quadro de toxemia, febre e neutrofilia e as intoxicações devem ser diferenciadas com base nos achados epidemiológicos (RADOSTITS *et al.*, 2002; BARROS, 2007a).

O diagnóstico diferencial da forma neurológica da LBE, caracterizada por incoordenação e paresia progressiva dos membros locomotores, incluem a forma paralítica da raiva, botulismo, intoxicação por antibióticos ionóforos, intoxicação subaguda e crônica por organofosforados, intoxicação pela ingestão de *Senna occidentalis* e abscessos e tumores que possam levar a compressão da medula espinhal (RIET-CORREA; SCHILD; FERNANDES, 1998; BARROS, 2007b; BARROS; DRIEMEIER, 2007; RIET-CORREA; MÉNDEZ, 2007).

Para diferenciar a LBE dos quadros de leucose bovina esporádica deve-se levar em consideração a idade do animal, a frequência de ocorrência dentro do rebanho, os órgãos acometidos e se o VLB está ou não envolvido (THURMOND, 2006; DUNCAN; SCARRATT; BUEHRING, 2005).

2.10. Controle e prevenção

Não há tratamento ou métodos de imunização eficazes disponíveis comercialmente para controle da LBE (BRAGA *et al.* 1998). Estudos continuam sendo realizados com intuito de produzir uma vacina eficaz para proteger bovinos de se infectarem pelo VLB ou ainda de desenvolverem LP ou linfossarcoma. O ideal é que essa vacina não seja infecciosa e que não interfira nos testes sorológicos (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001; RADOSTITS *et al.*, 2002).

Como não há uma vacina ou método de tratamento efetivo, as principais medidas em relação à infecção pelo VLB estão voltadas para métodos de prevenção,

controle e erradicação. A escolha de programas de controle ou mesmo de erradicação da doença em um rebanho ou país irá depender da prevalência da infecção e do valor dos animais infectados. Os procedimentos para controle da infecção em um rebanho devem ser economicamente viáveis e adequados para a realidade do rebanho (BRAGA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002).

A primeira medida para um programa de controle é identificação dos animais positivos através de testes diagnósticos adequados. Os testes mais comumente utilizados por programas de erradicação são os sorológicos, principalmente o IDGA e o ELISA, e deve ser levado em consideração as limitações desses testes, principalmente em relação a animais falso-negativos (BRAGA *et al.*, 1998; LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Após a identificação dos animais positivos, para programas de erradicação, a única medida efetiva é o abate dos bovinos infectados pelo VLB. Se realizada com base em teste sorológicos, estes deverão ser repetidos no rebanho com intuito de identificar animais que estão soroconvertendo. O teste de PCR deverá ser realizado em bovinos jovens e em casos de resultados duvidosos na sorologia. Os testes são repetidos até que o rebanho tenha resultado negativo. O rebanho só é considerado livre quando houver resultado negativo em dois testes diagnósticos para detecção da LBV, durante dois anos consecutivos, levando em consideração ainda as recomendações a respeito da introdução de novos animais e em relação à aquisição de sêmens, óvulos e embriões (BRAGA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002; OIE, 2010).

Em rebanhos em que a prevalência for alta e o descarte de animais economicamente inviável, o controle da LBE pode ser feito através da segregação do rebanho em dois lotes: soropositivos e soronegativos. Esses animais seriam mantidos e manejados separadamente. Bezerros nascidos de fêmeas positivas seriam removidos imediatamente após o nascimento, mantidos isolados e receberiam colostro de fêmeas sabidamente negativas para VLB. Após seis meses de idade, esses animais seriam testados e descartados caso fossem positivos. Com o tempo seria realizada a eliminação dos animais infectados e a reposição por bovinos soronegativos (BRAGA *et al.*, 1998; LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

Medidas de controle que impeça a veiculação de linfócitos contaminados, ocasionada por transmissão iatrogênica, por fômites ou vetores, devem ser adotadas

para reduzir a infecção dentro do rebanho. A aquisição de animais sabidamente negativos para o VLB é outra medida fundamental para prevenção e controle da doença (DIGIACOMO, 1992a; FLORES *et al.*, 1992).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Procedimentos gerais

Estudaram-se os casos de necropsias em bovinos realizadas pelo Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) com diagnóstico de leucose bovina enzoótica (LBE) entre o período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011. O estudo foi dividido em duas partes, um estudo retrospectivo com levantamento de dados de arquivo do SPV-UFRGS de janeiro de 1999 a dezembro de 2008 e um estudo prospectivo com acompanhamento de novos casos de necropsia de bovinos com linfossarcoma. O estudo retrospectivo foi realizado através da análise de dados epidemiológicos, histórico, sinais clínicos e achados de necropsia e histologia contidos nos livros de registro e nos laudos de necropsia do período. O estudo prospectivo ocorreu entre janeiro de 2009 a janeiro de 2011 e foram acompanhados os casos de necropsias de bovinos realizados pelo SPV-UFRGS, obtendo-se os dados epidemiológicos, sinais clínicos e lesões de necropsia e histologia.

Os bovinos, pertencentes a diferentes municípios do Estado do Rio Grande do Sul, morreram de forma natural ou foram eutanasiados. As necropsias foram realizadas em bovinos enfermos ou mortos em visitas às propriedades ou quando estes eram encaminhados para necropsia no SPV-UFRGS. Tanto no estudo retrospectivo como no prospectivo, os dados referentes à epidemiologia, histórico e sinais clínicos apresentados pelos bovinos foram obtidos junto a proprietários e veterinários responsáveis pelos animais necropsiados. Sempre que possível o quadro clínico foi acompanhado por membros da equipe do SPV-UFRGS durante visitas às propriedades ou quando estes eram encaminhados ainda vivos para o setor.

3.2 Necropsia e análises histológicas

Durante a necropsia, os achados macroscópicos foram identificados e anotados, e após os fragmentos de diversos órgãos foram coletados em solução de formalina a

10%. Depois de fixadas, as amostras coletadas foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina para confecção de lâminas histológicas que foram coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) e posteriormente analisadas em microscópio óptico. A classificação das células neoplásicas foram realizadas com base na descrição de Valli *et al.* (1981) com modificações. Os linfócitos neoplásicos foram avaliados subjetivamente de acordo com padrão histológico em difuso ou folicular e a morfologia da célula em relação ao tamanho e características nucleares. Com relação ao tamanho, os linfócitos foram classificados em linfomas de células pequenas ou grandes e em função das características nucleares foram divididas em clivadas, quando apresentavam núcleo evidente, com cromatina dispersa e nucléolos proeminentes, e não clivada, quando o núcleo apresentava cromatina condensada.

4. RESULTADOS

4.1. Dados Gerais

No período entre janeiro de 1999 a janeiro de 2011, foi realizado um total de 845 necropsias de bovinos no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS (SPV-UFRGS). Deste total em 30 casos (3,55%) estabeleceu-se o diagnóstico de leucose bovina enzoótica com base no histórico e nos achados clínicos e patológicos. Sendo que 23 casos compuseram o estudo retrospectivo e sete foram acompanhados nos anos de 2009 a 2011, as distribuições dos casos de leucose enzoótica bovina em relação aos anos de ocorrência estão representadas na Figura 1.

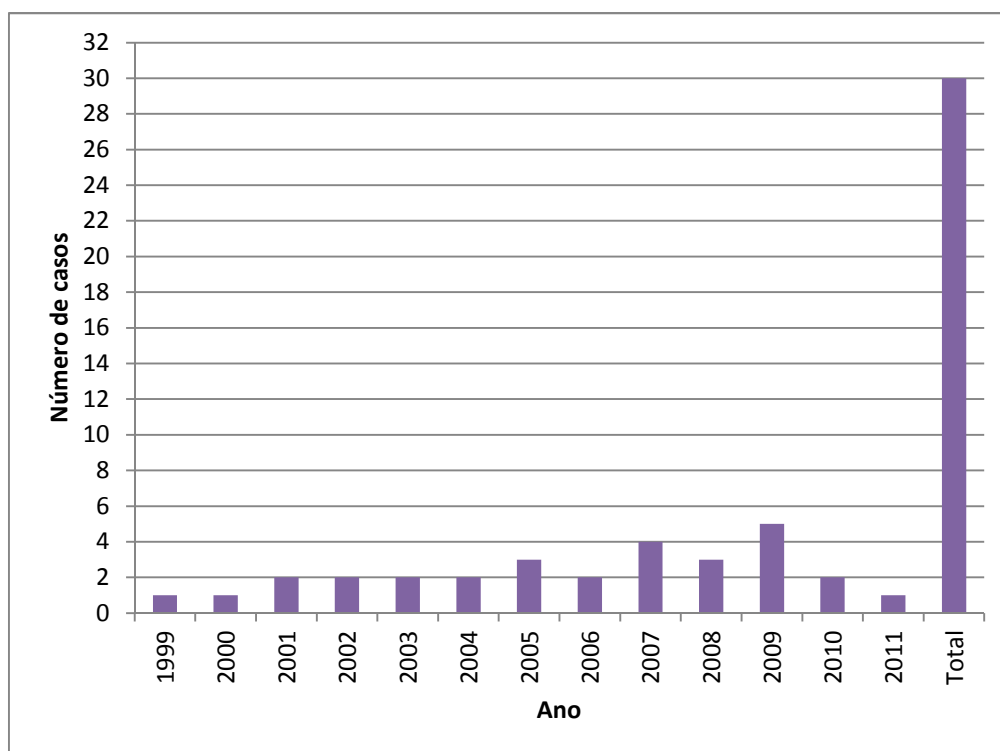


Figura 1 - Distribuição do número de casos de Leucose Bovina Enzoótica diagnosticados por ano no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) no período entre janeiro de 1999 a janeiro de 2011.

Todos os bovinos necropsiados eram fêmeas de aptidão leiteira, com idade entre três e nove anos. Dos bovinos necropsiados, 22 tiveram a idade informada e oito

bovinos não tiveram as idades apuradas sendo consideradas vacas adultas. Dos bovinos com idade informada, 36,4% tinham cinco anos (8/22) e 18,2% apresentavam seis ou sete anos (4/22), todas as idades dos animais afetados estão detalhadas na Figura 2. Em relação à raça, 27 animais eram da raça Holândes (90,0%), dois eram cruzamentos entre raças e foram consideradas mistas (6,7%) e uma era da raça Jersey (3,3%).

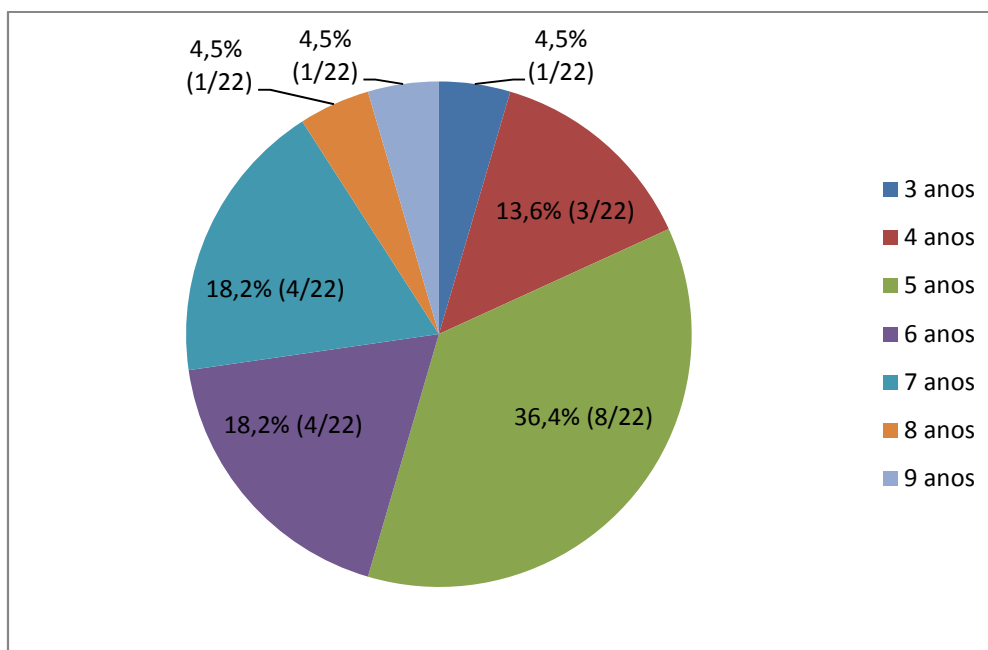


Figura 2 - Distribuição percentual da faixa etária dos 22 bovinos com idade informada, diagnosticados com Leucose Bovina Enzoótica no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS) no período entre janeiro de 1999 a janeiro de 2011.

4.2. Sinais clínicos

Dentre os sinais clínicos relatados pelos veterinários e proprietários ou ainda observados pela equipe do SPV-UFRGS os de maior ocorrência foram as alterações locomotoras em 60,0% (18/30), perda de peso em 56,7% (17/30), aumento dos linfonodos superficiais em 53,3% (16/30) e exoftalmia unilateral ou bilateral em 26,7% (8/30). Outros sinais ocasionais como dispneia (Bovino 1 e 16), múltiplas pequenas nodulações na pele (Bovinos 1 e 20) e incontinência urinária (Bovino 6) também foram observados. Dos bovinos necropsiados no período, cinco (16,7%) foram encontrados

mortos sem apresentar alterações clínicas prévias. A frequência de sinais clínicos apresentados pelos animais é descrita detalhadamente na Tabela 1.

Tabela 1 – Frequência dos sinais clínicos observados em 30 bovinos com Leucose Bovina Enzoótica diagnosticada no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011.

Sinais Clínicos	Porcentagem (%)
Alterações locomotoras	60,0
Perda de condição corporal	56,7
Aumento de linfonodos superficiais	53,3
Exoftalmia	26,7
Sem sinais prévios	16,7
Dificuldade respiratória	6,7
Nódulos de pele	6,7
Incontinência urinária	3,3

A perda da condição corpórea se iniciavam duas semanas a quatro meses antes da morte dos bovinos e era uma das primeiras manifestações observadas. Em apenas um bovino o proprietário relatou anorexia (Bovino 29). Em 53,3% dos casos um ou mais linfonodos superficiais apresentavam-se aumentados de volume como nódulos firmes e indolores, por vezes flutuantes no tecido subcutâneo (Figura 3). Protrusão do globo ocular (Figura 4) foi visualizada em oito animais, sendo que destes dois apresentaram exoftalmia bilateral. Esses animais ocasionalmente tinham perda da visão e em consequência disso, laceração da córnea por traumas.



Figura 3 - Bovino 2, fêmea, Jersey, seis anos, com linfossarcoma multicêntrico. Nota-se aumento do volume do linfonodo pré-escapular esquerdo.

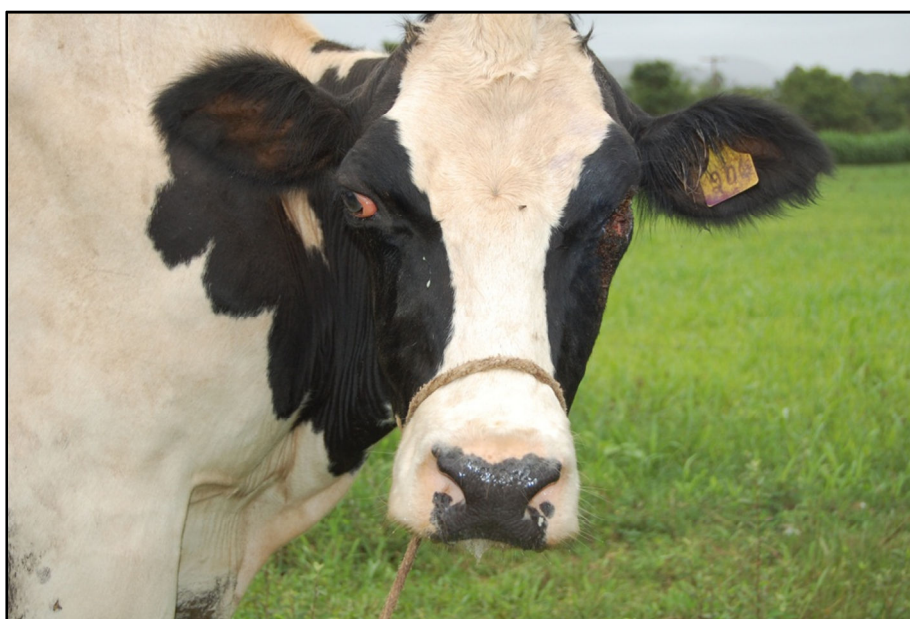


Figura 4 - Bovino 27, fêmea, Holandês, cinco anos, com linfossarcoma multicêntrico. Observa-se exoftalmia do olho direito. O olho esquerdo apresentou protrusão anteriormente e foi enucleado.

Durante as avaliações clínicas as alterações locomotoras foram os sinais clínicos mais frequentemente observados nos bovinos. Estas alterações foram classificadas em

alterações locomotoras leves quando os animais apresentavam alteração na marcha e/ou relutância em se locomover (3/18). Alterações locomotoras moderadas quando os animais permaneciam longos períodos em decúbito, mas quando auxiliados ainda conseguiam permanecer em estação por curtos períodos e/ou se locomover por curtas distâncias (10/18), e alterações locomotoras graves quando os animais apresentavam-se em decúbito esternal ou decúbito lateral permanente (5/18). A maioria dos bovinos (16/18) apresentava dificuldade locomotora envolvendo os membros pélvicos, e dois bovinos manifestaram dificuldade locomotora envolvendo apenas os membros torácicos.

Naqueles bovinos que se acompanhou a evolução clínica ou em que o histórico clínico foi mais bem detalhado, os sinais clínicos locomotores apresentaram-se de forma progressiva e semelhante. Inicialmente os bovinos permaneciam em estação ou em decúbito esternal por longos períodos e ao serem estimulados relutavam em movimentar. Durante a locomoção observava-se ataxia, postura anômala com dorso arqueado (Figura 5A) e algumas vezes com arrastar das pontas do casco. Posteriormente permanecia a maior parte do tempo em decúbito esternal, e somente quando auxiliados conseguiam se levantar, (Figura 5B) caminhando apoiando-se principalmente sobre os membros torácicos e arrastando os membros pélvicos, frequentemente com apoio sobre os boletos (Figura 5C), por vezes com quedas frequentes e dificuldade de voltar à estação. Com a evolução do quadro clínico, o decúbito esternal tornava-se permanente (Figura 5D), porém os animais permaneciam alerta até próximo à morte, e somente na fase terminal entravam em decúbito lateral. Nos bovinos testados, a sensibilidade cutânea estava diminuída ou ausente nas porções posteriores principalmente na região lombar e sacral. Nos animais com alterações locomotoras dos membros torácicos o quadro clínico também foi caracterizado por paresia motora progressiva dos membros torácicos.

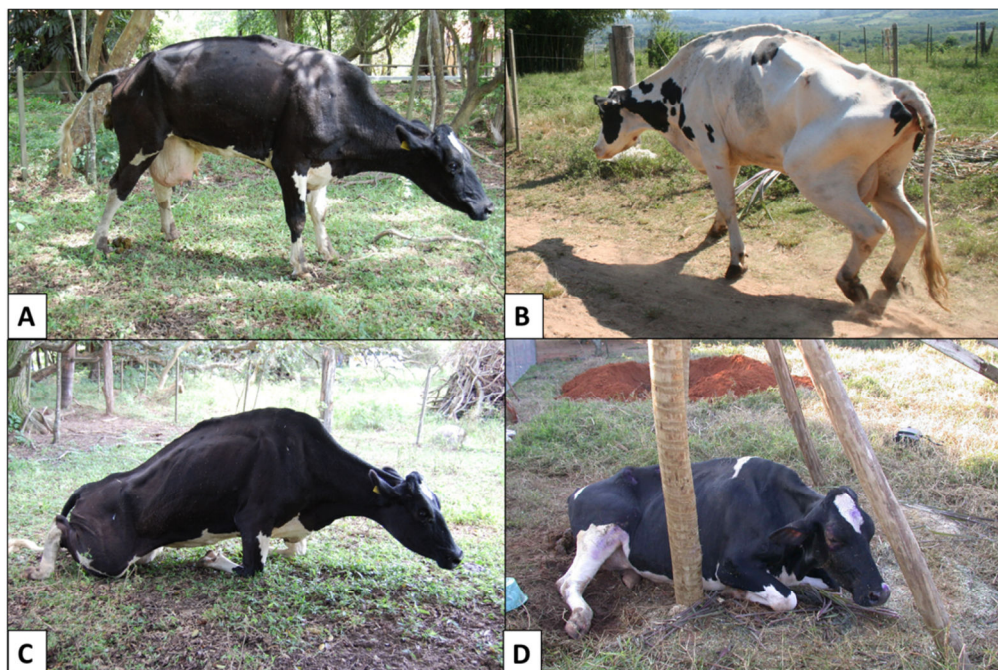


Figura 5 - Bovinos com alterações locomotoras devido à compressão da medula espinhal por linfossarcoma. **(A)** Bovino 20, demonstrando dorso arqueado, cauda erguida e membros pélvicos e torácicos afastados tentando manter-se em estação. **(B)** Bovino 14, caminhando com membros pélvicos parcialmente flexionados, apoiando-se sobre membros torácicos e arrastando as pinças no solo. **(C)** Bovino 20, com paresia do posterior e dificuldade de voltar à estação após queda com membros pélvicos abertos e apoiando-se sobre boletos. **(D)** Bovino 10, encontrado em decúbito esternal, porém sem conseguir se levantar mesmo quando auxiliado.

Segundo o histórico clínico, quatro bovinos iniciaram os sinais clínicos durante a gestação (Bovino 13, 15, 21 e 27), três levaram a gestação a termo há menos de dois meses antes da necropsia (Bovino 23, 28 e 29) e o Bovino 25 apresentava dificuldade para emprenhar.

4.3. Resultados Macroscópicos

Durante a necropsia foram observadas infiltrações de massas tumorais de tamanhos que variavam entre menos de 1 cm até mais de 50 cm de diâmetro, com coloração branca, amarelada ou acinzentada, na forma de uma ou múltiplas áreas de consistência firme ou friável e muitas vezes com centro necrótico e/ou hemorrágico.

Essas tumorações eram observadas com distribuição focal, multifocal ou ocasionalmente se coalesciam formando grandes massas principalmente nos linfonodos mesentéricos e mediastínicos e nas serosas dos órgãos da cavidade abdominal. Diversos órgãos apresentaram infiltração tumoral com intensidades variadas. A distribuição da frequência dos órgãos afetados pelo linfossarcoma e o grau de infiltração em relação aos principais órgãos e sistemas podem ser observadas nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 - Frequência dos órgãos afetados por infiltrações tumorais compatíveis com linfossarcoma em 30 bovinos com Leucose Bovina Enzoótica diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011.

Órgãos afetados	Porcentagem (%)
Linfonodos	100,0
Coração	80,0
Medula espinhal	80,0
Abomaso	76,7
Intestinos	63,3
Rins	56,7
Útero e/ou cornos uterinos	43,3
Olho	26,7
Omaso	16,7
Rúmen e retículo	16,7
Musculatura esquelética	16,7
Bexiga	6,7
Pele	6,7
Glândula mamária	3,3

Tabela 3 - Principais órgãos e sistemas afetados e grau de infiltração pelo linfossarcoma observados durante a necropsia de 30 bovinos com Leucose Bovina Enzoótica diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011.

Bovino	Linfonodos	Sistema Cardíaco	Sistema Digestivo	Sistema Genital	Sistema Urinário	Sistema Nervoso	Músculo esquelético	Pele	Tecido periorcular
1	++	-	++	-	++	+	-	+	-
2	++	++	++	++	++	-	-	-	-
3	+	++	+++	+	-	++	-	-	+
4	+++	+	+++	+++	+++	-	-	-	-
5	+	+	+	+	++	+	-	-	-
6	+++	++	++	-	-	+	-	-	-
7	+++	++	+++	-	+++	+	-	-	+
8	++	+++	-	-	-	+	-	-	-
9	+++	++	+++	-	-	++	-	-	-
10	++	+	-	-	+	+	+	-	+
11	+	-	+	-	-	-	-	-	-
12	+	+++	-	-	-	++	-	-	-
13	+	+++	+++	-	++	+++	-	-	++
14	+	-	+++	-	-	++	-	-	+
15	+	+++	++	-	+	+++	+	-	-
16	++	++	+++	-	-	+	-	-	-
17	++	-	-	+++	+++	+++	-	-	-
18	++	+++	+++	-	-	+	+	-	-
19	+++	++	++	+	+	++	-	-	-
20	++	++	+++	+	++	+++	-	+	-
21	+	-	++	++	-	-	-	-	-
22	++	++	++	+	+	+	-	-	-
23	+++	++	+++	-	-	-	-	-	-
24	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	+
25	+++	-	+++	+++	+++	+	-	-	-
26	++	++	++	-	+++	+	-	-	-
27	+++	+++	+	+++	+++	++	++	-	++
28	+++	+	+++	-	-	-	-	-	-
29	+	+++	+	-	-	+	-	-	-
30	+	+++	+++	+++	+++	++	-	-	+

⁺ (Lesão focal ou afetando apenas um órgão).

⁺⁺ (Lesão focal / multifocal em apenas um órgão ou lesão focal em mais de um órgão).

⁺⁺⁺ (Lesão difusa acentuada em um ou mais órgãos). - (Ausência de lesão).

O achado mais consistente durante as necropsias foi o aumento de volume dos linfonodos, observado em todos os bovinos. Ao corte dos linfonodos evidenciou-se massa tumoral protuberante, de coloração cinza ou branco-amarelada e consistência firme a friável. Em casos avançados, essas massas preenchem toda a superfície de corte dando aspecto homogêneo ao órgão, com perda da distinção entre o córtex e a medula (Figura 6).

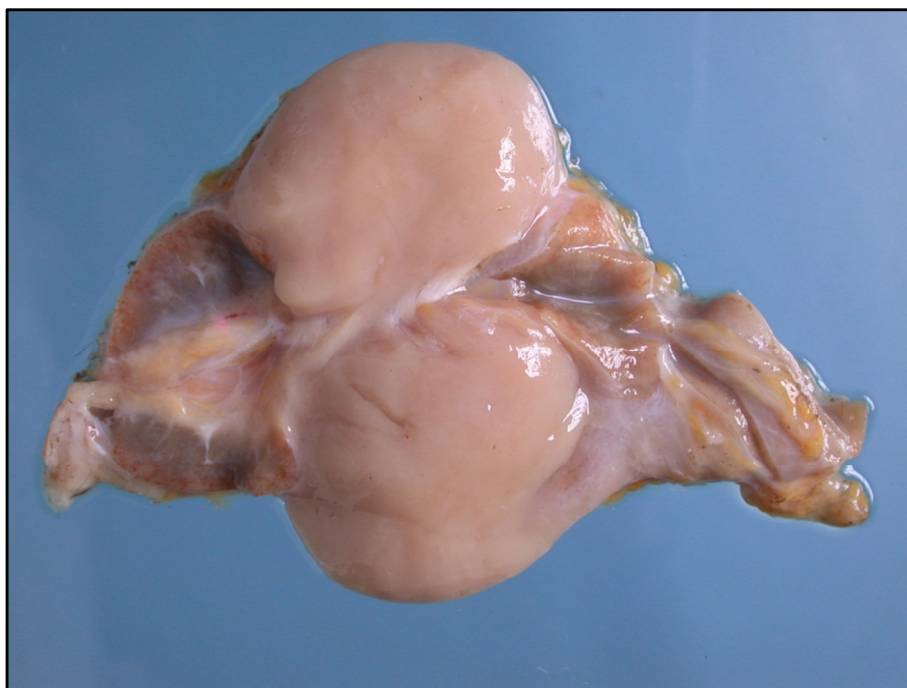


Figura 6 – Bovino 17, linfonodo mesentérico com linfossarcoma. Superfície de corte apresentando massa rósea e protuberante sem distinção entre a cortical e medular.

O coração apresentou infiltração tumoral em 80,0% dos casos (24/30). As lesões cardíacas eram caracterizadas por áreas pálidas no parênquima ou ainda por nodulações esbranquiçadas e salientes, que em alguns casos se coalesciam formando grandes massas na superfície do epicárdio ou endocárdio das câmaras cardíacas (Figura 7). Em 12 bovinos foram observadas infiltrações tumorais no átrio direito, podendo ser observadas associadas a infiltrações de outras áreas da musculatura cardíaca ou apenas no átrio direito (Figura 8). Em quatro bovinos as massas foram notadas se infiltrando no saco pericárdico.

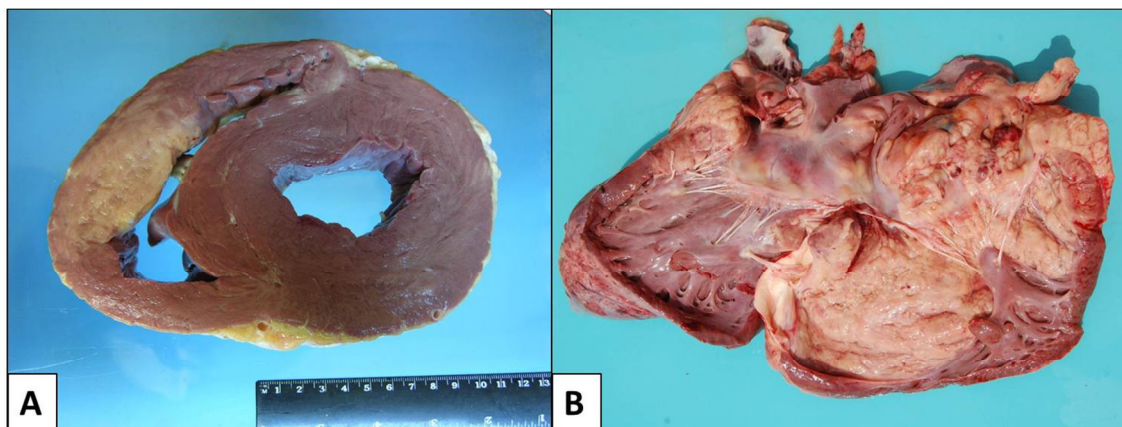


Figura 7 – Linfossarcoma no coração de bovino. **(A)** Bovino 20. Ventrículo esquerdo apresentando área esbranquiçada focalmente extensa no miocárdio. **(B)** Bovino 29. Observa-se massa neoplásica branco-amarelada difusa no endocárdio do átrio e ventrículo direito.



Figura 8 – Bovino 27, coração com linfossarcoma. Átrio direito apresentando infiltração tumoral de coloração branco-amarelada com superfície irregular e múltiplas áreas hemorragia.

Na abertura do canal vertebral massas irregulares amarelo-esbranquiçadas ou róseas foram observadas no espaço epidural circundando a meninge e nervos periféricos da medula espinhal de 24 bovinos (80,0%). Essas massas estavam associadas ao tecido

adiposo do canal vertebral, sendo muitas vezes difícil a diferenciação no momento da necropsia. As massas eram melhor observadas após a fixação do tecido em solução de formalina a 10%, quando o tecido adiposo apresentava uma coloração mais pálida do que as massas tumorais. Ao corte da medula espinhal, nas regiões com invasão tumoral, visualizou-se a infiltração estava apenas sobre a meninge, ocupando o espaço epidural da região, e não infiltrada na medula espinhal, o que levava a uma lesão compressiva do tecido nervoso adjacente. Foram observadas infiltrações neoplásicas no espaço peridural das porções cervical, torácica, lombar e cauda equina da medula espinhal (Figura 9). Quando localizadas na região epidural cervical as massas encontravam-se sempre próximas à intumescência cervical. A região epidural lombar foi a que apresentou massas tumorais em 83,3% (20/24) dos casos com infiltração na meninge da medula espinhal, sendo a mais afetada, seja por massas únicas ou ainda quando havia infiltração em duas ou mais porções do espaço peridural da medula espinhal. A região da cauda equina também foi constantemente afetada, em 45,8% dos casos (11/24) e nesses casos as massas neoplásicas eram observadas envolvendo a saída e ramos dos nervos espinhais. A epidural das regiões cervical e torácica da medula espinhal apresentaram menor grau de infiltração pelo linfossarcoma, com 25,0% (6/24) e 8,3% (2/24) dos casos, respectivamente. No Bovino 5 havia infiltração espaço peridural da medula espinhal porém a região não foi especificada. Durante o exame do Bovino 28, que apresentou sinais de alterações locomotoras, não foi observado infiltrações epidurais da medula espinhal. A distribuição das lesões na epidural das regiões da medula espinhal nos bovinos com invasão tumoral está descrita na Tabela 4, assim como a intensidade das alterações clínicas locomotoras apresentadas por estes animais.

Tabela 4 - Intensidade das alterações clínicas locomotoras e da região epidural da medula espinhal com infiltração pelo linfossarcoma, observadas durante a necropsia dos bovinos com Leucose Bovina Enzoótica diagnosticada no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no período entre janeiro de 1999 a janeiro de 2011.

Bovino	Sinal Locomotor	Região da Medula espinhal afetada
1	+	Lombar
3	+++	Lombar e cauda equina
5	-	Medula espinhal
6	++	Lombar
7	++	Lombar
8	-	Lombar
9	+	Lombar e cauda equina
10	+++ ^T	Cervical
12	++	Lombar e cauda equina
13	++	Cervical, lombar e cauda equina
14	+	Lombar e cauda equina
15	++ ^T	Cervical, torácica, lombar e cauda equina
16	+++	Lombar e cauda equina
17	++	Lombar e cauda equina
18	+++	Cauda equina
19	-	Lombar e cauda equina
20	+++	Cervical, torácica e lombar
22	-	Lombar
24	+++	Cervical
25	++	Lombar
26	-	Lombar
27	-	Cervical e lombar
28	++	-
29	-	Lombar
30	++	Lombar e cauda equina

- (Sem alterações). + (Alterações locomotoras leves). ++ (Alterações locomotoras moderadas).

+++ (Alterações locomotoras acentuadas). T (alterações locomotoras nos membros torácicos).

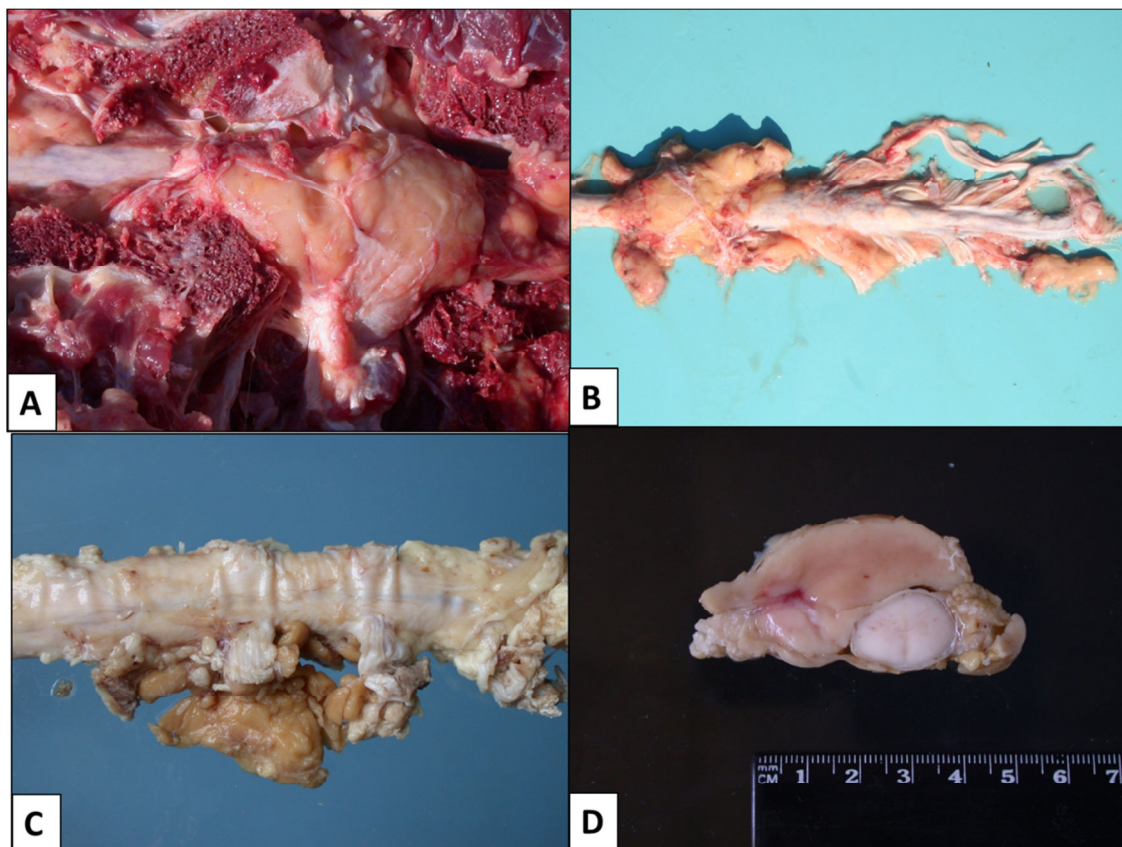


Figura 9 – Medula espinhal de bovino com infiltração de linfossarcoma. **(A)** Bovino 14. Massa branco-amarelada no canal vertebral comprimindo a medula espinhal. **(B)** Bovino 14. Medula lombar e cauda equina com massas amareladas sobre a meninge. **(C)** Bovino 10. Massas tumorais de coloração branco-amareladas, aderidas à meninge, comprimindo a medula espinhal na região cervical. **(D)** Bovino 14. Superfície de corte da região lombar da medula espinhal, evidenciando a massa neoplásica rósea sobre a meninge comprimindo a medula.

O abomaso de 23 bovinos (76,7%) apresentava nódulos branco-amarelados solitários (Figura 10) ou múltiplos, de diversos tamanhos, que frequentemente invadem todas as camadas do abomaso. Em alguns casos a parede do órgão estava espessa e na superfície de corte eram observadas massas brancacentas abaixo da camada mucosa. A mucosa abomasal normalmente estava avermelhada ou com focos de hemorragia, e em 10 casos foram descritas ulcerações associadas às massas tumorais (Figura 11). No rúmen/retículo e omaso, de cinco bovinos (16,7%), foram visualizadas infiltrações semelhantes as do abomaso, porém sem ulcerações da mucosa.



Figura 10 – Bovino 14. Abomaso com linfossarcoma. Superfície de corte de nódulo esbranquiçado abaixo da mucosa abomasal.



Figura 11 – Bovino 24. Linfossarcoma no abomaso. Observam-se áreas de ulceração associadas a massas tumorais esbranquiçadas abaixo da mucosa (setas).

No intestino delgado e grosso dos bovinos analisados, em 63,3% dos casos (19/30) foram observados múltiplos nódulos, normalmente com formato arredondado, infiltrados na parede intestinal. Essas nodulações tinham relação principalmente com a serosa intestinal, mas também foram encontradas na superfície mucosa (Figura 12). Evidenciações de placas de Peyer, infiltrações tumorais na pleura, mesentério e omento também foram observadas durante a necropsia dos bovinos com linfossarcoma.

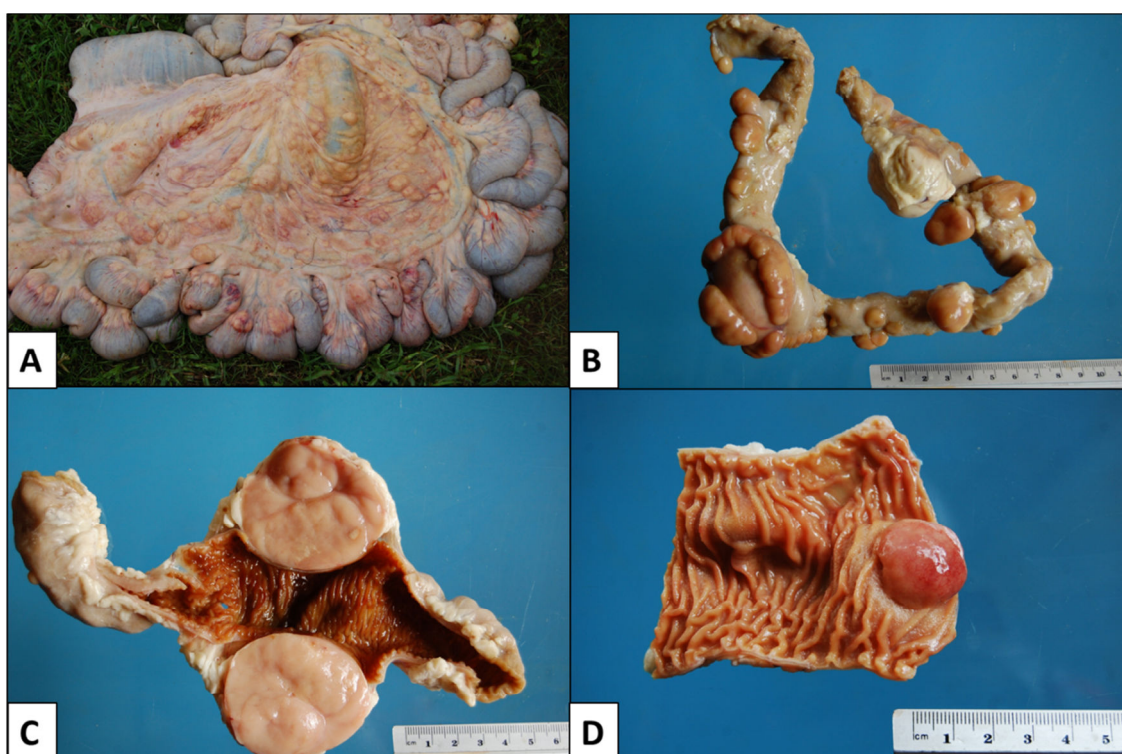


Figura 12 - Bovino. Intestino delgado com infiltração de linfossarcoma. **(A)** Observam-se múltiplos nódulos branco-amarelados salientes distribuídos no omento e na serosa intestinal do Bovino 27. **(B)** Bovino 24. Segmento do jejuno com nódulos amarelados distribuídos aleatoriamente na serosa intestinal medindo de 1,0 a 5,0 cm de diâmetro. **(C)** Superfície de corte de nódulo no intestino delgado do Bovino 24, em que há infiltração tumoral delimitada a serosa intestinal. **(D)** Bovino 24. Em outro fragmento do intestino delgado o nódulo foi observado sobre a mucosa intestinal.

O único caso que se observou compressão intestinal foi no Bovino 4, em que uma massa tumoral aderida à cavidade pélvica, de aproximadamente 30 cm de diâmetro, estava comprimindo o reto e aparelho gênito-urinário, sendo também notada repleção acentuada da bexiga.

Lesões renais foram encontradas em 56,7% dos bovinos necropsiados (17/30) e apresentaram-se de três formas distintas: como áreas pálidas difusas no parênquima (Figura 13 A), como múltiplos nódulos salientes e esbranquiçados difusos na superfície capsular, cortical e medular (Figura 13 B) ou ainda como massas esbranquiçadas na pelve renal (Figura 13 C e D). Essas três formas foram vistas individualmente ou associadas, e em diferentes graus de infiltração. Quando presentes na pelve renal o tumor estava entremeado ao tecido adiposo dessa região, e em três animais (Bovinos 7, 26 e 27) se estendia em direção ao ureter adjacente, ocasionando compressão do ureter, uronefrose e dilatação da pelve renal. As massas tumorais também foram observadas circundando os rins sob a cápsula renal. Dois bovinos (6,7%) apresentaram infiltrações transmuralis na bexiga.

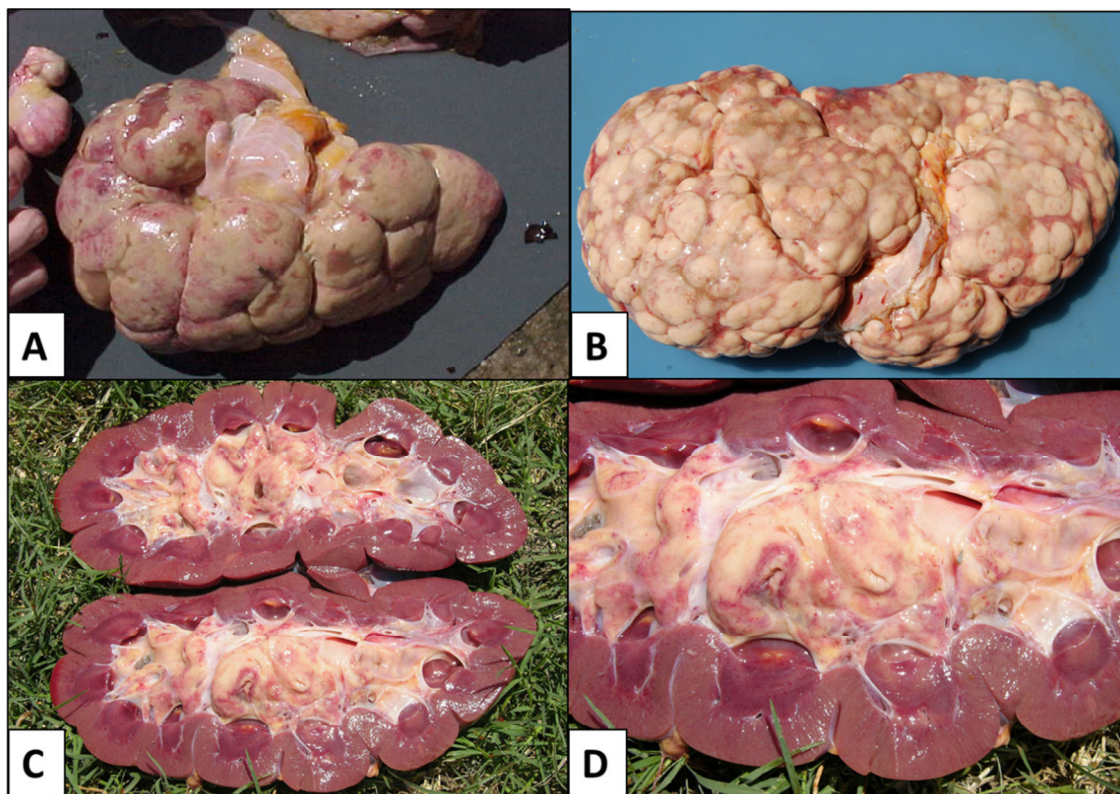


Figura 13 – Rim de bovino com linfossarcoma. **(A)** Bovino 2. O rim está difusamente pálido, aumentado de volume e com áreas deprimidas e avermelhadas (áreas de infarto). **(B)** Rim do Bovino 30 apresentando aumentado de volume, com múltiplos nódulos salientes e branco-amarelados distribuídos sobre a superfície capsular. **(C)** Bovino 13. Observa-se massa tumoral amarelada com áreas avermelhadas e dilatação leve na região da pelve renal. **(D)** Imagem aproximada da figura 11C, evidenciando a massa tumoral na pelve renal.

Em 13 bovinos (43,3%) havia massas tumorais no corpo do útero e/ou nos cornos uterinos (Figura 14). Os tumores eram vistos na mucosa ou entremeados à parede uterina ocasionando espessamento da parede do órgão. Nos quatro bovinos que estavam gestantes, os fetos ainda estavam viáveis. Nos Bovinos 25, em que foi relatada dificuldade de emprenhar, e nos Bovinos 24 e 30 havia um nódulo tumoral na parede cervical que ocluía a luz. Na superfície de corte da glândula mamária do Bovino 30 havia áreas multifocais de coloração esbranquiçadas no parênquima, com saliência discreta.



Figura 14 – Bovino 24. Útero. No colo uterino há uma massa com 7,0 cm de diâmetro ocluindo o canal da cérvix. Ao corte essa massa apresenta coloração amarelo pálido com áreas centrais amareladas e esbranquiçadas.

Em 26,7% dos bovinos (8/30), ao se retirar o globo ocular com exoftalmia foi observado à ocorrência de massa irregular, multilobular, amarelada e firme na região retrobulbar envolvendo o nervo óptico e os músculos extrínsecos do olho em 26,7% (8/30) dos bovinos (Figura 15).



Figura 15 – Bovino 14, olho. Superfície de corte evidenciando massa tumoral esbranquiçada comprimindo o globo ocular direito. Ao se comparar com o olho esquerdo com estruturas anatômicas periorbitais intactas, nota-se que a massa neoplásica infiltra e obscurece tecidos oftálmicos.

Infiltrações de massas tumorais também foram encontradas com menor frequência no músculo esquelético (5/30) e na pele (2/30). No músculo esquelético as massas neoplásicas foram vistas entremeando as fibras musculares ou formando nodulações, principalmente na musculatura dos membros pélvicos (Figura 16), na musculatura abdominal e no diafragma. Na pele, as nodulações eram pequenas, com aproximadamente 1 cm de diâmetro, distribuídas de forma difusa e sua superfície de corte era semelhante a dos linfonodos.



Figura 16 – Musculatura esquelética do Bovino 20 com infiltração por linfossarcoma. Fragmento do quadríceps apresentando nodulações multifocais amareladas com 0,5 a 2,0 cm de diâmetro.

Macroscopicamente não foram visualizadas infiltrações de massas tumorais no fígado, baço e pulmão. No entanto o fígado dos Bovinos 8 e 22 estava aumentado de volume, com bordos arredondados e ao corte o padrão lobular estava evidenciado com áreas centrais avermelhadas circundadas por áreas amareladas (fígado de noz-moscada). O Bovino 22 apresentou ascite e edema de mesentério. Nodulações multifocais a coalescentes com áreas centrais amareladas de aspecto caseoso e com conteúdo mineralizado foram observadas nos linfonodos dos Bovinos 10 e 14 e no pulmão dos Bovinos 10 e 29.

4.4. Resultados Microscópicos

As lesões tumorais em todos os bovinos foram semelhantes e consistiam de infiltrado de células redondas a ovais, com citoplasma escasso, leve pleomorfismo nuclear, por vezes arranjadas em cordões e com estroma escasso de tecido conjuntivo. Todos os órgãos que apresentavam massas tumorais macroscopicamente quando observados na histologia tinham infiltração de linfócitos neoplásicos. Dos 30 bovinos analisados, 28 puderam ser reavaliados quanto à morfologia e padrão das células neoplásicas. Destes todos apresentaram padrão de infiltração difuso (Figura 17 e 18).

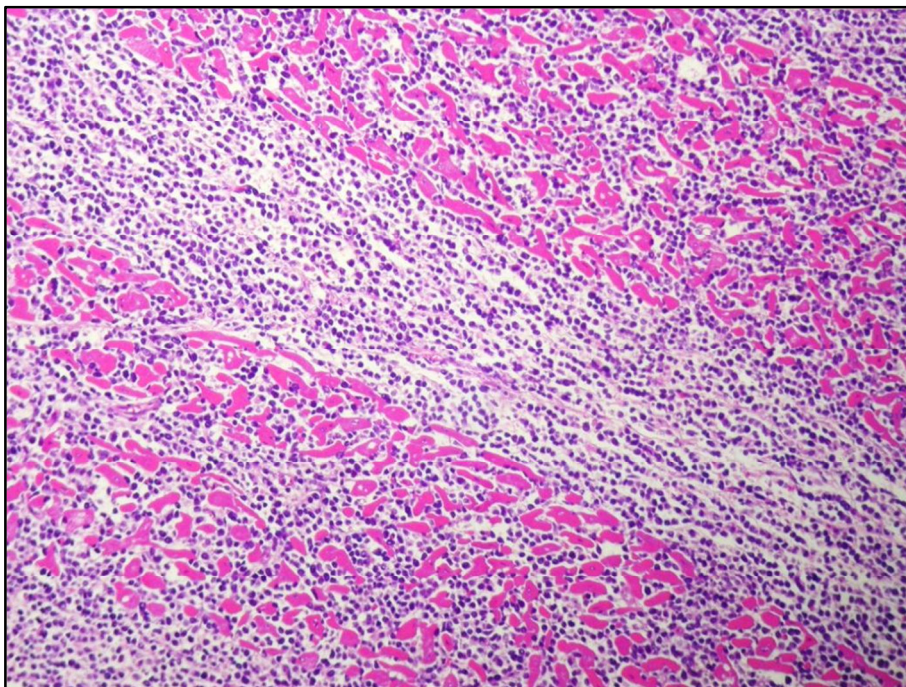


Figura 17 – Bovino 9, coração, linfossarcoma. Observa-se infiltrado difuso de linfócitos neoplásicos arranjados em cordão, infiltrando-se entre os cardiomiócitos, levando a atrofia e perda das células cardíacas. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 10.

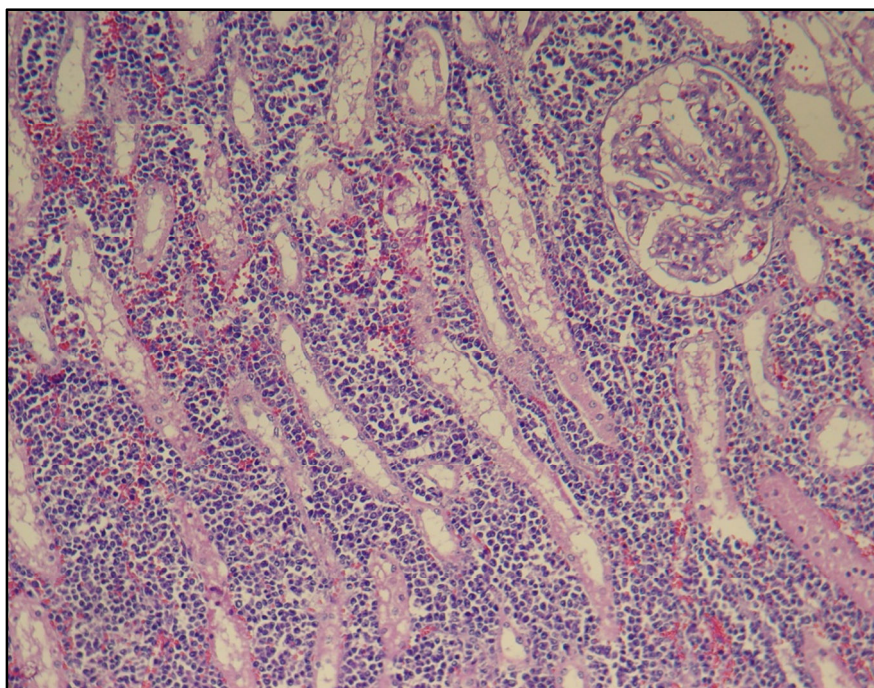


Figura 18 – Bovino 30, rim, linfossarcoma. Infiltrado de linfócitos neoplásicos difuso no parênquima renal. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 10.

Em relação ao tamanho e apresentação nuclear da cromatina na célula 75,9% foram classificados como compostos por maioria de células pequenas não clivadas (Figura 19) seguido de 17,2% de células grandes não clivadas. Os linfócitos pequenos e grandes de células clivadas foram observados em apenas 3,4% dos linfossarcomas analisados (Tabela 5).

Tabela 5 - Frequência da morfologia e tamanho dos linfócitos neoplásicos observados em 28 casos de linfossarcoma bovino associados à leucose enzoótica.

Morfologia	Porcentagem (%)
Pequeno e não clivado	75,9
Grande não clivado	17,2
Pequeno clivado	3,4
Grande clivado	3,4

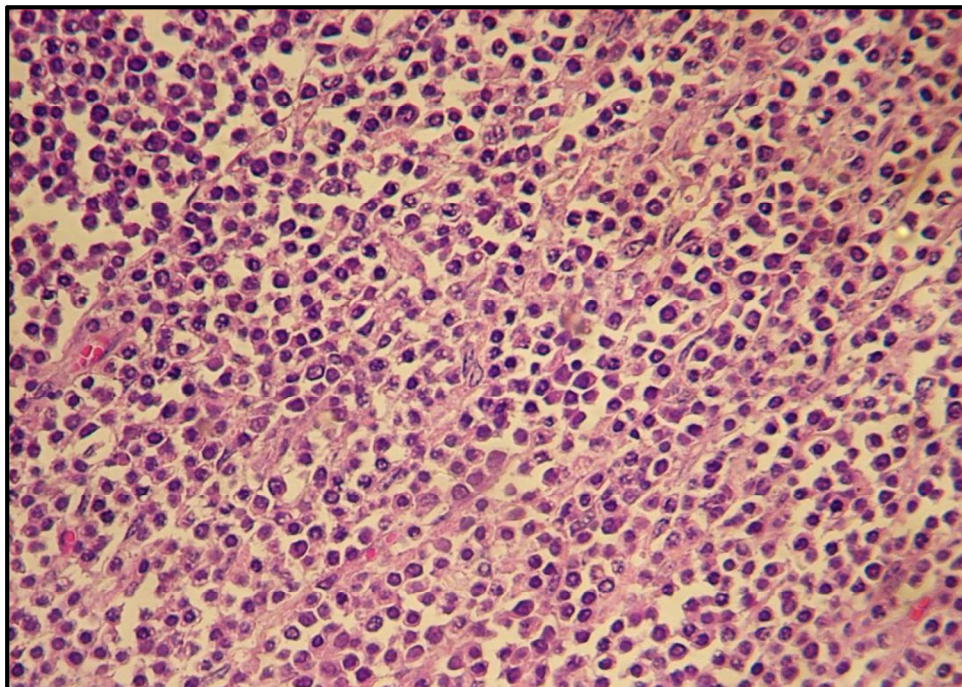


Figura 19 – Bovino 28, massa tumoral aderida à serosa do intestino delgado, linfossarcoma. Infiltrado de linfócitos neoplásicos difuso de células predominantemente pequenas e núcleo não clivado. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 20.

Na medula espinhal as massas neoplásicas foram observadas sobre a dura-máter associada ao tecido adiposo da região (Figura 20) e envolvendo as raízes de nervos (Figura 21). Essas massas quando muito extensas acabavam comprimindo a medula espinhal adjacente. As lesões na medula espinhal, quando presentes, corresponderam à vacuolização discreta da substância branca, neurônios em cromatólise, edema perineuronal e perivascular leve.

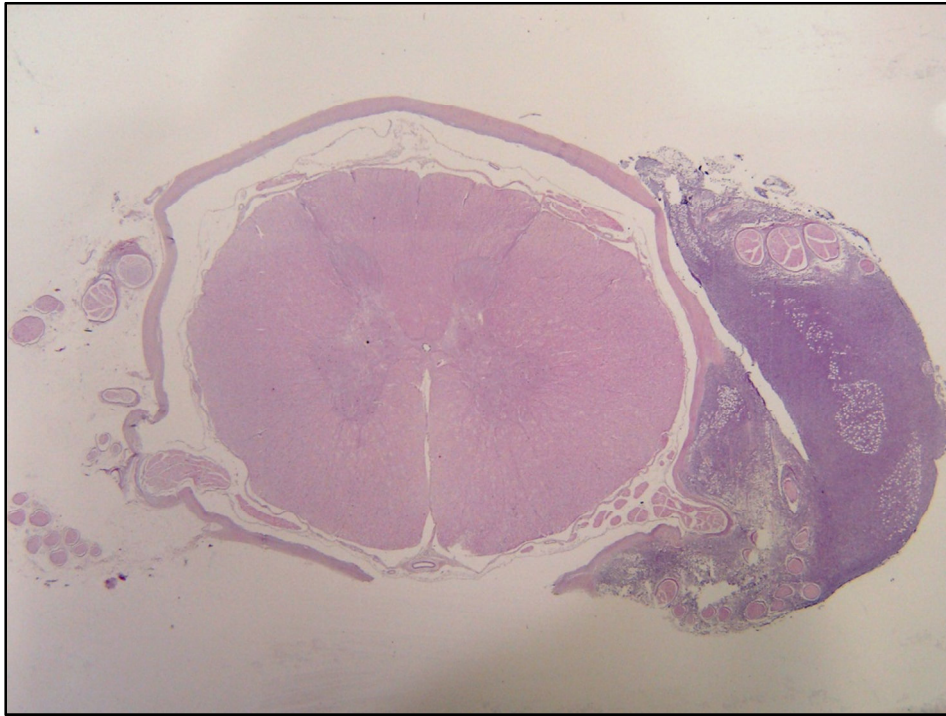


Figura 20 - Linfossarcoma, medula espinhal, Bovino 15. Imagem submacroscópica da medula espinhal com massa tumoral limitada sobre a meninge e envolvendo nervos.

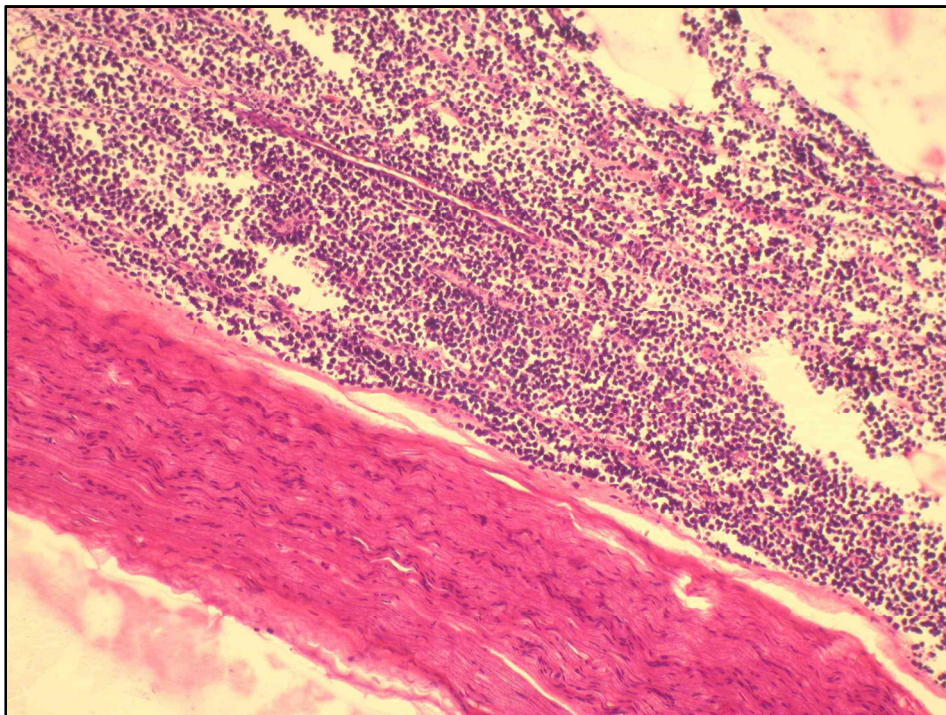


Figura 21 - Raiz de nervo, linfossarcoma Bovino 3. Células linfocíticas neoplásicas ao redor da raiz de nervo. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 40.

Mesmo não sendo visualizadas lesões neoplásicas macroscópicas evidentes no baço, fígado e pulmão dos bovinos, na análise histológica havia infiltrado de linfócitos neoplásicos nesses órgãos. No pulmão de quatro animais (Bovino 13, 19, 20 e 28) foram observadas infiltrações de células linfocíticas anaplásicas no interior de vasos linfáticos, nos septos interlobulares e no parênquima pulmonar.

No baço dos Bovinos 19 e 21 observou-se infiltrado multifocal leve de linfócitos neoplásicos.

Os fígados dos Bovinos 2, 13, 17, 19 e 30 apresentaram linfócitos neoplásicos no interior de sinusoides (Figura 22), sendo que no Bovino 19 foram observadas áreas de infarto aleatórias associadas ao infiltrado linfocítico.

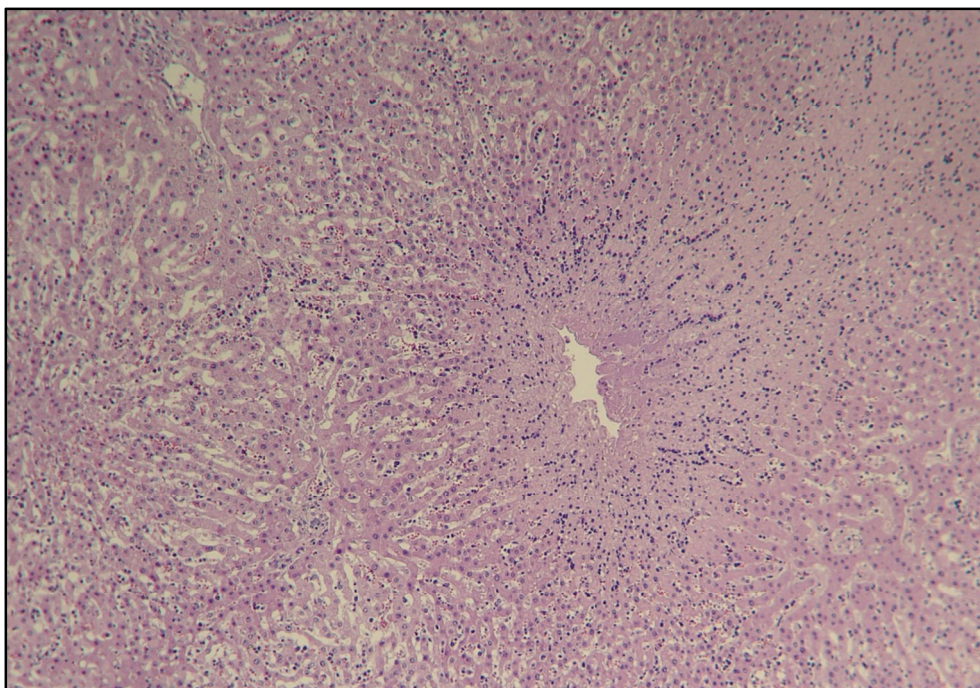


Figura 22 - Linfossarcoma, fígado, Bovino19. Infiltrado de linfócitos neoplásicos no interior de sinusoides com necrose hepatocelular centrolobular associada. Coloração de Hematoxilina-eosina, obj. 5.

Na pele dos Bovinos 1 e 20 havia infiltrado multifocal de linfócitos neoplásicos na derme.

No fígado dos Bovinos 8 e 22 as lesões correspondiam a degeneração e necrose centrolobular acentuada com área de hemorragia moderada associada.

Nos linfonodos mesentéricos e mediastínicos, dos Bovinos 10 e 14, e no pulmão dos Bovinos 10 e 29, os nódulos com conteúdo caseoso observados na necropsia corresponderam a áreas multifocais de necrose caseosa circundada por infiltrado inflamatório de células mononucleares, epitelióides e células gigantes delimitadas por área de proliferação de tecido conjuntivo fibroso compatível com granuloma de tuberculose.

5. DISCUSSÃO

O diagnóstico de linfossarcoma multicêntrico dos adultos nos bovinos necropsiados no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS), durante o período de janeiro de 1999 a janeiro de 2011, foi estabelecido durante a necropsia através da macroscopia. Dados epidemiológicos, sinais clínicos e as lesões microscópicas observadas foram complementares e eram semelhantes ao que se descreve em linfossarcomas ocasionados pelo VLB (FERRER, 1980; WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004; VALLI, 2007). Bovinos com idade entre cinco e sete anos representaram a maioria dos animais que desenvolveram a LBE (72,8%). A faixa etária de animais que apresentaram sinais e lesões variou entre 3 e 9 anos, resultado condizente com o que descrevem outros autores em que a ocorrência da LBE é em bovinos acima de dois anos, com maior incidência entre quatro a oito anos (DIGIACOMO, 1992a ; BRAGA *et al.*, 1998). Embora todos os bovinos deste estudo sejam fêmeas e 90,0% pertencente à raça Holandês, estudos apontam que parece não haver uma predisposição por sexo ou raça (DIGIACOMO, 1992a). Esses dados são atribuídos a maior prevalência do vírus em rebanhos leiteiros, que no Rio Grande do Sul são formados principalmente por fêmeas da raça Holandês. Nesse estudo todos os animais eram provenientes de rebanhos leiteiros e a maior ocorrência da LBE nesses rebanhos é atribuída à idade média mais alta do rebanho e ao maior contato que esses animais têm durante o manejo em comparação aos rebanhos de corte (FLORES *et al.*, 1992).

Sinais clínicos como paresia e paralisia de membros, aumento de volume de linfonodos superficiais, perda de peso e exoftalmia observados nos animais deste estudo, estão relatados entre os sinais predominantes da leucose bovina (REED, 1981). Apesar da perda de peso relatada, apenas em um bovino o proprietário observou quadro de anorexia. Nos demais casos a perda de condição corpórea pode ser atribuída a lesões em órgãos vitais, a dificuldade de locomoção dos animais, que eram criados em sistemas semiextensivos ou ainda a causas desconhecidas (WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004; BARROS, 2007a). As múltiplas lesões de pele, observada nos Bovinos 1 e 20 e o aumento do volume de linfonodos superficiais observados em 53,0% dos animais, estão associadas a infiltrações de linfócitos

neoplásicos em nodos linfáticos e linfonodos, respectivamente (RADOSTITS *et al.*, 2002; VALLI, 2007).

Lesões na região sacral da medula espinhal causam incontinência urinária e retenção fecal (RIET-CORREA; RIET-CORREA; SCHILD, 2002), possivelmente o quadro de incontinência urinária observado no Bovino 6 deve ter sido ocasionado pela compressão por massa tumoral infiltrada na região lombar e sacral da medula espinhal. Durante o quadro clínico verificou-se que sete vacas estavam gestantes ou recém-paridas (23,3%). Este fato deve ser investigado como uma possível causa desencadeante ou agravante nos sinais clínicos e quadros de linfossarcoma em bovinos.

Se compararmos os sinais clínicos observados nos bovinos com os achados de necropsia, podemos notar que os linfonodos de todos os bovinos estavam aumentados de volume, enquanto que clinicamente, apenas pouco mais da metade (53,3%) dos bovinos apresentavam os linfonodos palpáveis. Em um estudo no Canadá, em que foi observada a frequência de sinais clínicos em 1.100 casos de LBE, apontou que apenas 58,0% dos animais apresentaram linfadenopatia externa (REED, 1981). Os linfonodos aumentados de volume são significativos para a sugestão diagnóstica dos casos de leucose, quando a necropsia. Porém quando associado a outros sinais, como o aumento de volume periocular, podemos então chegar a um valor próximo a 70,0% já no exame clínico destes animais. Nos bovinos analisados, três apresentaram lesões sugestivas de tuberculose. O risco de outras doenças infecciosas parece ser maior em rebanhos infectados pelo VLB (RADOSTITS *et al.*, 2002), porém a tuberculose é uma doença frequente em bovinos de leite no estado do Rio Grande do Sul (RIET-CORREA; GARCIA, 2007) e esse pode ser apenas um achado não correlacionado.

Em 16,7% dos casos, não foram relatados sinais clínicos prévios. Cursos superagudos na leucose bovina são frequentemente atribuídos à ruptura de baço ou úlcera abomasal com quadros de hemorragia e choque hipovolêmico (RADOSTITS *et al.*, 2002) ou ainda a infiltração tumoral acentuada em órgãos vitais como o coração (JACOBS; MESSICK, VALLI, 2002). Em nossos estudos dois bovinos apresentaram a necropsia infiltrações tumorais acentuadas na musculatura do coração, sugerindo a morte por insuficiência cardíaca.

As alterações locomotoras representaram como o mais importante dos sinais clínicos, sendo observadas em 18 bovinos com linfossarcoma (60,0% dos casos) no

SPV-UFRGS neste período. Neste estudo, na necropsia, foram visualizadas massas neoplásicas no espaço epidural sobre a meninge da medula espinhal em 24 bovinos (80,0% dos casos), sendo por vezes difícil diferenciar do tecido adiposo do canal vertebral. Essas massas foram comumente encontradas no espaço epidural da região lombar (83,3%), frequentemente na cauda equina (45,8%) e ocasionalmente observadas na região cervical (25,0%) e região torácica (8,3%). Em 12 animais, duas ou mais porções da medula espinhal foram afetadas por massas infiltradas no canal medular, e sempre nestes casos a medula lombar estava envolvida. A infiltração pelo linfossarcoma parece ter uma predileção pelos segmentos lombares e cauda equina (THURMOND, 2006). O linfossarcoma é a principal causa neoplásica que cursa com compressão da medula espinhal em bovinos (THURMOND, 2006). Em um levantamento de tumores compressivos afetando a medula espinhal de bovinos, a neoplasia mais observada foi o linfossarcoma em 12 casos de 14 animais afetados. Nesse mesmo estudo a região mais afetada da medula espinhal foi a lombar. (REBHUN, 1984). Todos os animais que apresentavam sinais clínicos locomotores, com exceção do Bovino 28, tiveram a comprovação de massas infiltradas no canal medular.

Em sete animais foram observado, durante a necropsia e histologia, que o tumor se infiltrava na meninge ou ao redor de feixes nervosos da medula espinhal sem que se notasse alteração locomotora. A incidência em bovinos da compressão extradural da medula espinhal por linfossarcoma não é conhecida (DIVERS, 2004). Sendo assim é importante verificar a medula espinhal sempre que ocorrerem alterações locomotoras em bovinos, procurando alterações características de LBE. A infiltração de linfócitos neoplásicos no canal medular representou a segunda área mais frequente de ocorrência, inclusive sendo observada em bovinos que ainda não havia relato de alterações locomotoras.

As lesões histológicas na medula espinhal, próximo as infiltrações de linfócitos atípico no espaço peridural, quando presentes, eram caracterizadas pela visualização de neurônios vermelhos, reduzidos de tamanho ou ainda pela vacuolização discreta da substância branca da medula espinhal. A manifestação de alterações locomotoras pode ainda ser atribuída à compressão de raízes de nervos medulares por infiltrado acentuado de linfócitos neoplásicos. Segundo Rebhun e colaboradores (1984) em doze casos de

linfossarcomas bovino a lesão na medula espinhal correspondeu a vários graus de degeneração nas áreas com ou sem infiltrações tumorais macroscópicas na medula.

Dos bovinos com lesões cardíacas, 50,0% apresentaram infiltração no átrio direito, achado comum em bovinos adultos com linfossarcoma, que frequentemente apresentam envolvimento preferencial no átrio direito (WERLING; MÜLLER-DOBLIES; LANGHANS, 2004; VALLI, 2007). Sendo que em necropsia de bovinos, com suspeita de linfossarcoma multicêntrico dos adultos, esse é um dos locais a ser observado.

Os órgãos mais afetados nas necropsias de bovinos com LBE realizados no SPV-UFRGS foram os linfonodos internos (100,0%), seguido da medula espinhal (80,0%), coração (80,0%), abomaso (76,7%), intestinos (63,3%), rins (56,7%) e útero (43,3%). Os linfonodos, coração, abomaso e medula espinhal são indicados como os principais sítios de infiltração tumoral (FERRER, 1980; BRAGA *et al.*, 1998, VALLI, 2007). Portanto durante a necropsia de bovinos com suspeita de linfossarcoma, estes órgãos devem ser preferencialmente observados, coletados para análise histológica para comprovação da enfermidade, mesmo que os animais não tenham apresentado sinais clínicos característicos de envolvimento desses tecidos. Estes achados aliados aos sinais clínicos de alterações locomotoras, perda de condição corpórea e linfadenopatia podem embasar o diagnóstico clínico por parte dos veterinários a campo.

Na histologia dois casos não puderam ser reavaliados por perda do material de arquivo. Das amostras analisadas todas as células apresentaram padrão histológico sólido difuso e nenhum com padrão folicular. Linfossarcomas com distribuição folicular são raros em bovinos em contraste com o que é observado em humanos em que a maioria dos linfomas benignos são foliculares. (VALLI *et al.* 1981; VERNAU *et al.*, 1992). Em um estudo de 1.198 casos de linfossarcoma apenas 0,3% apresentaram padrão folicular (VERNAU *et al.*, 1992). Em relação à morfologia, dos 28 bovinos analisados 75,9% corresponderam a células pequenas não clivadas. A forma de células pequenas do tipo não clivada parece ter relação com o linfossarcoma bovino (VALLI *et al.* 1981). Porém outros estudos indicam a forma clivada de células grandes como característica da forma enzoótica do linfossarcoma bovino (VERNAU *et al.*, 1992). Adicionalmente a forma clivada também parece estar relacionada a bovinos com idades mais avançadas, acima de seis anos (VALLI *et al.* 1981; VERNAU *et al.*, 1992).

Embora o baço, fígado e pulmão não tenham apresentado massas evidentes na necropsia, durante a análise histológica observou-se infiltrações de linfócitos neoplásicos principalmente nos vasos linfáticos, no parênquima do pulmão e no fígado no interior de sinusoides. Aparentemente esses órgãos apresentam pouca infiltração de linfócitos neoplásicos, ou possivelmente são os últimos órgãos a sofrerem infiltração. Normalmente o envolvimento do baço e infiltração no fígado por células neoplásicas estão presentes em animais com alterações leucêmicas (LEUZZI JUNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001).

O diagnóstico diferencial para leucose bovina deve incluir enfermidades que cursam com problemas locomotores como o botulismo, raiva, intoxicação subaguda e crônica por organofosforados e compressões medulares por abscessos ou outras neoplasias (BARROS, DRIEMEIER; 2007, RIET-CORREA; RIET-CORREA, SCHILD; 2002, THURMOND, 2006). A forma cardíaca da leucose bovina deve ser diferenciada de quadros de pericardite, endocardite, intoxicação por plantas cardiotoxícas e outras doenças cardíacas crônicas (GAVA *et al.*; 2001, BARROS; 2007a). Deve ser diferenciada ainda de quadros de hipocalcemia, intoxicação por resíduos de cevadas contaminados com *Aspergillus clavatus*, ou ainda miopatias tóxicas, como intoxicação por *Senna occidentalis* ou antibióticos ionóforos (BARROS, 2007b; RIET-CORREA, MÉNDEZ, 2007; BEZERRA JUNIOR. *et al.*, 2009). E faz parte ainda do diagnóstico diferencial da encefalopatia espongiiforme bovina devido a semelhanças na apresentação clínica (BARROS *et al.*, 2006).

6. CONCLUSÕES

Neste estudo, linfossarcoma multicêntrico foi observado em vacas adultas, com idade principalmente entre cinco a sete anos.

Alterações locomotoras, perda da condição corporal, aumento do volume de linfonodos superficiais e exoftalmia foram os principais achados clínicos observados nos bovinos com a forma enzoótica do linfossarcoma.

Os principais órgãos acometidos foram os linfonodos, medula espinhal, coração (principalmente no átrio direito), abomaso, intestino e rim.

As regiões da medula espinhal comumente afetada por infiltrações tumorais foram a lombar e cauda equina.

A forma enzoótica do linfossarcoma bovino deve ser sempre considerada em bovinos com problemas locomotores, principalmente nos membros pélvicos.

A medula espinhal deve ser sempre avaliada em bovinos com suspeita de linfossarcoma, mesmo que o animal não apresente manifestações clínicas de alterações locomotoras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, V. L. V. *et al.* Prevalência da Leucose Enzoótica Bovina nos Estados de Rondônia e Acre. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 42, n. 3, p. 203-210, 1990.

ANDRADE, J. R. A.; ALMEIDA, M. M. R. Prevalência da leucose enzoótica bovina na bacia leiteira de Goiânia, Goiás. **A Hora Veterinária**. v. 10, n. 60, p. 49-53. 1991.

AZEVEDO, M. R. *et al.* Influência da leucose enzoótica bovina na função fagocítica de leucócitos circulantes em animais manifestando linfocitose persistente. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**. v. 45, n. 5, p. 390-397, 2008.

BARROS, C.S.L. *et al.* **Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil**. São Paulo. AGNS gráfica e editora. 2006. 207p.

BARROS, C.S.L. Leucose Bovina. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3 ed., Santa Maria: Pallotti. v. 1, p. 159-169, 2007a.

BARROS, C.S.L. Intoxicação por Antibióticos Ionóforos. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3 ed., Santa Maria: Pallotti. v. 2, p. 45-50, 2007b.

BARROS, C.S.L.; DRIEMEIER, D. Intoxicação por Organofosforados e Carbamatos. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3 ed., Santa Maria: Pallotti. v. 2, p. 80-85, 2007.

BARROS FILHO, I. R. *et al.* Prevalência da leucose enzoótica em bovinos leiteiros criados na região metropolitana de Curitiba –Paraná. **Ciência Animal Brasileira. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria**. suplemento 1, p. 513-518, 2009.

BEZERRA JUNIOR, P. S. *et al.* Neurotoxicose em bovinos associada ao consumo de bagaço de malte contaminado com *Aspergillus clavatus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 29, n. 3, p.220-228, 1995.

BIRGEL JUNIOR, 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 Veterinária Brasileira**. v. 14, n. 4, p. 93-99, 2009.

BIRGEL JUNIOR, E. H. *et al.* Dinâmica das proteínas séricas de fêmeas bovinas da raça holandesa naturalmente infectadas pelo vírus da leucose dos bovinos. **Ciência Rural**. v. 31, n. 4, p. 615-619, 2001.

BRAGA, F. M. *et al.* Infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV). **Ciência Rural**. v. 28, n. 1, p. 163-172, 1998.

BUCZINSKI, S. *et al.* Cutaneous T cell lymphoma in a heifer seropositive for bovine leukosis virus. **The Veterinary Record**. v. 158, p. 665-667, 2006.

D'ANGELINO, J. L.; GARCIA, M., BIRGEL, E. H. Epidemiological study of enzootic bovine leukosis in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**. v. 30, p. 13-15, 1998.

DIGIACOMO, R. F.; DARLINGTON, R.L.; EVERMANN, J. F. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy calves by dehorning. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. v. 49, p. 340-342, 1985.

DIGIACOMO, R. F. The epidemiology and control of bovine leukemia virus infection. **Veterinary Medicine**. n. 3, p. 248-257, 1992a.

DIGIACOMO, R. F. Horizontal transmission of the bovine leukemia virus. **Veterinary Medicine**. n. 3, p. 263-271, 1992b.

DIGIACOMO, R. F. Vertical transmission of the bovine leukemia virus. **Veterinary Medicine**. n. 3, p. 258-262, 1992c.

DIVERS, T. J. Acquired spinal cord and peripheral nerve disease. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**. v.20, p.231-242, 2004.

DUNCAN JR., R. B. ; SCARRATT, W. K. ; BUEHRING, G. C. Detection of bovine leukemia virus by in situ polymerase chain reaction in tissues from a heifer diagnosed with sporadic thymic lymphosarcoma. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 17, p. 190-194, 2005.

EVERMANN, J. F. *et al.* Transmission of bovine leucosis virus by blood inoculation. **American Journal of Veterinary Research**. v. 47, n. 9, p. 1885-1887, 1986.

EVERMANN, J. F. A look at how bovine leukemia virus infection is diagnosed. **Veterinary Medicine**. n. 3, p. 272-278, 1992.

FERNANDES, C. H. C. *et al.* Soroprevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros da região norte do Estado do Tocantins, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 76, n. 3, p. 327-334, 2009.

FERRER, F. *et al.* Relationship between lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in cattle: a Review. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 175, p. 705-708, 1979.

FERRER, J. F. Bovine lymphosarcoma. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**. v. 24, p. 01-68, 1980.

FIGHERA, R. A.; BARROS, C. S. L. Linfossarcoma intracerebral em bovino. **Ciência Rural**. v. 34, n. 3, p. 943-945, 2004.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; REBELATTO, M. C. Aspectos epidemiológicos da infecção pelo vírus da leucose bovina (VLB) na região central do Rio Grande do Sul, Brasil. **A Hora Veterinária**. v. 10, n. 5, p. 25-29, 1990.

FLORES, E. F. *et al.* Anticorpos contra o vírus da leucose bovina (VLB) em soro de bovinos provenientes da República Oriental do Uruguai. **A Hora Veterinária**. v. 12, n. 68, p. 5-8, 1992.

FRY, M. M.; MCGAVIN, M. D. Bone marrow, blood cells and lymphatic system. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary disease**. St. Louis. Mosby Elsevier, 2007. Cap.13, p. 743-780.

GAVA, A. *et al.* Intoxicação por *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 21, n. 2, p. 49-59, 2001.

GRIMSHAW, W. T. R. *et al.* Bovine leucosis (lymphosarcoma): A clinical study of 60 pathologically confirmed cases. **The Veterinary Record**. v. 105, p. 267-272, 1979.

HOPKINS, S. G. *et al.* Experimental transmission of bovine leucosis virus by simulated rectal palpation. **The Veterinary Record**. v. 122, p. 389-391, 1988.

JACOBS, R. M.; MESSICK, J. B.; VALLI, V. E. Tumors of the Hemolymphatics System. In: MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. Iowa. Blackwell Publishing. 2002. 4 ed. Cap. 3, p. 128-161.

KANTEK, C. E.; KRUGER E. R.; WELTE, V. R. Prevalência do vírus da leucose enzoótica bovina no rebanho leiteiro do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 3, n. 4, p. 125-129, 1983.

KANTEK-NAVARRO, C. E.; KRUGER, E. R.; WELTE, V. R. Infecção com o vírus da leucose enzoótica bovina em um lote de vacas produtoras de leite importadas do Uruguai. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 2, n. 3, p. 125-126, 1982.

LEUZZI JUNIOR, L. A.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Leucose enzoótica bovina e vírus da leucemia bovina. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 22, n. 2, p. 211-221, 2001.

MEGID, J. *et al.* Ocorrência de leucose enzoótica bovina na microrregião da Serra de Botucatu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 55, n. 5, p. 645-646, 2003.

MODENA, C. M. *et al.* Ocorrência da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina em animais importados. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 35, n. 4, p. 565-573, 1983.

MOLNÁR, E. *et al.* Ocorrência da leucose enzoótica dos bovinos no estado do Pará, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 19, n. 1, p. 7-11, 1999.

MOLNÁR, E. *et al.* Naturally occurring bovine leukosis vírus in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Brazil. **The Veterinary Record**. v. 146, p. 705-706, 2000.

MORAES, M. P. *et al.* Levantamento sorológico da infecção pelo vírus da leucose bovina nos rebanhos leiteiros do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**. v. 26, n. 2, p. 257-262, 1996.

NUOTIO, L. *et al.* Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 59, p. 43-49, 2003.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE). Enzootic bovine leukosis. Chapter 2.4.11. **OIE. Terrestrial manual**. p. 729-738 2008.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE). Enzootic bovine leukosis. Chapter 11. 9. Artigo 11.9.1. **OIE. Terrestrial animal health code**. 2010.

OLSON, C.; MILLER, J. History and terminology of Enzootic Bovine Leukosis. In: BURNY, A. **Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia Virus**. Boston. Kluwer. 1987. p. 3-11.

OTACHEL-HAWRANEK, J. Eradication of enzootic bovine leucosis in dairy cattle from the lower Silesia Region. **Bull Veterinary Institute Pulawyn**. v. 51, p. 465-469. 2007.

RADOSTITS, O. M. *et al.* Doenças Causadas por Vírus e *Chlamydia* In: **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2002, p. 940-951.

RAJÃO, D. S. Efeito da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina na produção de leite e reprodução de rebanhos leiteiros. **Dissertação de mestrado**. Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2008. 26p.

RAVAZZOLO, A. P.; COSTA, U. M. Retroviridae. In: Eduardo Furtado Flores. (Org.). **Virologia Veterinária**. 1ª ed. Santa Maria, 2007, p. 809-837.

REBHUN, W. C. *et al.* Compressive neoplasms affecting the bovine spinal cord. **The Compendium on Continuing Education**. v.6, n. 7, p. 396-440, 1984.

REED, V. I. Enzootic bovine leucosis. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 22, p. 95-102, 1981.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; FERNANDES, C. G. Enfermidades do sistema nervoso dos ruminantes no sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**. v. 28, n. 2, p. 341-348, 1998.

RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G.; SCHILD A. L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e equídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 22, n. 4, p. 161-168, 2002.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. D. C. Intoxicação por plantas e micotoxinas. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3 ed., Santa Maria: Pallotti. 2007. v. 2, p. 99-221.

RIET-CORREA, F.; GARCIA, M. Tuberculose. In: RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de ruminantes e equídeos**. 3 ed., Santa Maria: Pallotti. 2007. v. 1, p. 432-442.

SARDI, S. I. *et al.* Detecção de anticorpos contra o vírus da parainfluenza bovina tipo 3 (PI-3) e o vírus da leucose bovina (VLB) em bovinos de diferentes municípios do Estado da Bahia, Brasil. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. v.1, n. 1, p. 61-65, 2002.

SWEENEY, R. W. *et al.* Intracranial lymphosarcoma in a Holstein bull. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 189, n. 5, p. 555-556, 1986.

THURMOND, M.C. Linfossarcoma bovino. In: SMITH, B.P. **Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo: Manole, 2006, cap. 35, p. 1067-1071.

TYLER, L. Enzootic bovine leucosis. **The Veterinary Record**. v. 103, p. 194-198, 1978.

VALLI, V. O. E. *et al.* Histocytology of lymphoid tumors in the dog, cat and cow. **Veterinary Pathology**, v. 18, p. 494-512, 1981.

VALLI, V. O. E. The hematopoietic system. In: MAXIE M. G. (Ed.) **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2007, v.3, p.107-324.

VERNAU, W. *et al.* Classification of 1.198 cases of bovine lymphoma using the national cancer institute working formulation for human non-hodgkin's lymphomas. **Veterinary Pathology**, v. 29, p. 183-195, 1992.

WERLING, D.; MÜLLER-DOBLIES, U. U.; LANGHANS, W. Enzootic bovine leukosis. In: Coetzer, J.A.W.; Tustin, R.C. **Infectious Diseases of Livestock**. 2nd ed. Cape Town: Oxford University, 2004, v. 2, p. 708-716.