

Leucose Aviária

Renato Luís Luciano
rluciano@biologico.sp.gov.br

Número 159 - 15/06/2011

A Leucose Aviária é uma doença neoplásica causada pela infecção por retrovírus indutores de tumores. Ocorre durante a maturidade sexual, resultando em perdas econômicas significativas, especialmente na produção e qualidade dos ovos. A enfermidade ocasiona quedas de até 10% no pico de postura e produção de ovos pequenos e de casca fina. A mortalidade varia de 1 a 2%, podendo atingir perdas ocasionais superiores a 20%, com grandes prejuízos na criação avícola.

O vírus da leucose aviária (VLA) é um retrovírus responsável pelo desenvolvimento de leucose linfóide, mielóide e eritróide em aves, que pertence ao gênero *Retrovirus Aviário Tipo C*, da família *Retroviridae*. As características deste agente são pleomorfismo, forma esférica e envelope de 80-100 nm de diâmetro. As projeções do envelope são pequenas, pontiagudas e dispersas por toda a superfície, tornando-a rugosa. Possui nucleocapsídeos isométricos e esféricos e núcleo concêntrico.

O vírion contém uma molécula linear de RNA de cadeia simples. Os vírus desta família são caracterizados por possuir a enzima transcriptase reversa (*reverse transcriptase* – sigla em inglês, RT), responsável pela síntese do DNA proviral a partir do RNA viral, como parte do mecanismo de replicação viral.

A sequência estrutural dos genes do VLA, no sentido 5' – 3' da molécula de RNA, é *gag, pol, env*; esses genes codificam, respectivamente, as proteínas antigênicas e proteases do vírion grupo específico (gs), a transcriptase reversa (RT) e o envelope glicoproteico.

O genoma possui 7,2 kb de tamanho. O núcleo do vírion contém cinco proteínas não-glicosiladas codificadas pelo gene *gag*, sendo que a p27 é o maior antígeno grupo específico (gsa) e o envelope do vírion contém duas glicoproteínas codificadas pelo gene *env*, sendo uma delas a gp85 – a estrutura viral de superfície – que atua determinando a especificidade dos subgrupos dos retrovírus aviários. As variações moleculares e antigênicas da gp85 são responsáveis pelos diferentes subgrupos (A,B,C,D,E e J) deste vírus.

Em 1991, alguns pesquisadores descreveram um novo envelope viral denominado HPRS-103 como sendo o envelope do subgrupo do VLA denominado VLA-J⁶. O HPRS-103 está associado ao grupo de retrovírose aviárias responsáveis pela ocorrência de leucose e sarcomas, induzindo leucose mielóide, além de possuir um maior tropismo por células mielóides.

Provavelmente, o VLA-J surgiu de uma recombinação de vírus endógeno e exógeno e há em seu genoma uma sequência conhecida como elemento E que, juntamente com uma sequência dos retrovírus denominada região conservada do genoma viral (*long terminal repeats* – sigla em inglês, LTR), é utilizada para diagnóstico específico do vírus J.

Também em 1991, pesquisadores descreveram o isolamento e a caracterização do VLA-J em linhagens de corte em 1989⁶, sendo que as primeiras observações clínicas da doença no Brasil ocorreram em 1995, em machos de uma linhagem de reprodutoras pesadas.

Já em 1998 e 1999, estudiosos caracterizaram a ocorrência do VLA-J em amostras de linhagens comerciais de corte e observaram a presença de VLA-J em todas as linhagens de corte analisadas².

A prevalência do VLA-J é alta, com elevada variabilidade, além de possuir uma resistência genética desconhecida, causando um grande impacto econômico na avicultura. Linhagens pesadas são mais susceptíveis ao VLA-J do que as leves e as fêmeas mais susceptíveis que os machos. A partir da manifestação da doença, durante a maturidade sexual, esta permanece durante toda a vida do lote.

A transmissão pode ser vertical – da galinha para a progênie, através do ovo – ou horizontal – de ave para ave, por contato direto ou indireto. A infecção congênita é a forma mais importante de transmissão, uma vez que produz tolerância imunológica nas aves, tornando-as virêmicas e com maior possibilidade de desenvolver linfomas e diferentes tumores e em aves imunocompetentes. A disseminação horizontal do vírus resulta em uma viremia transitória com um risco muito baixo de desenvolvimento tumoral.

Os sinais da doença não são específicos: crista pálida, murcha e, ocasionalmente, cianótica, inapetência, fraqueza, aumento do abdome, presença de manchas nas penas decorrentes de uratos e pigmentos da bile, aumento do fígado, bolsa cloacal e/ou rins que podem ser detectados por palpação, sendo que os nódulos provenientes de tumores do fígado podem ser detectados a tempo.

As lesões decorrentes da leucose mielóide, causadas pelo VLA-J, são leucemia severa, infiltração (intra e extravascular) de células linfóides no fígado, baço e outros órgãos. O mecanismo molecular da indução da doença não está totalmente elucidado.

Não há tratamento para esta enfermidade, uma vez que não existem vacinas disponíveis para combater o vírus. Medidas gerais de manejo e biossegurança minimizam o impacto da infecção pelo VLA-J, visto que a patogenicidade do VLA-J varia conforme o status sanitário dos lotes. A eliminação das aves portadoras com a finalidade de evitar a transmissão vertical do vírus em matrizes é uma das formas de erradicação, que deve ser adotada pelas empresas que comercializam linhagens comerciais.

O diagnóstico preciso do VLA é imprescindível para o reconhecimento da leucose aviária, possibilitando especificar os subgrupos virais que infectam as aves, sendo que esta informação é fundamental nos programas de erradicação dessa enfermidade.

Métodos de identificação do VLA em aves incluem a detecção de antígenos grupo-específicos (gsa) utilizando-se o método de ELISA. Porém, esse teste não detecta apenas os antígenos exógenos do VLA, mas também pode detectar vírus endógenos em determinados materiais.

O VLA-J já foi isolado a partir de amostras de sangue, hastes de penas, soro, culturas de tecidos – fibroblastos de embriões galinhas, mecônio de pintos de um dia e tumores. Estes isolados podem conter sequências relacionadas ao vírus endógeno – EVA – os quais ocorrem virtualmente em todas as galinhas. Este fato aumenta a variação genética do VLA-J, o que torna mais difíceis os métodos de diagnóstico e de controle quando comparado aos demais subgrupos do VLA.

A presença do VLA-J também foi detectada em tumores presentes na glândula da membrana nictante, mesentério, pâncreas, serosa intestinal, pele, cloaca e músculo peitoral.

A técnica de PCR pode ser empregada como ferramenta de diagnóstico do VLA-J através da detecção do RNA viral do soro, células brancas do sangue e órgãos, ou do provírus que é o DNA produzido na fase de síntese viral e que pode estar integrado ao genoma de células do sangue e tecidos de aves infectadas pelo vírus.

O PCR, aliado à análise de DNA com enzimas de restrição, pode ser aplicado no diagnóstico de amostras virais variantes, que se relacionam a genes virais que codificam proteínas externas ou glicoproteínas do envelope viral, e os VLAs encontram-se nesse grupo de amostras virais variantes.

Outro método pelo PCR baseia-se na amplificação de uma sequência do gene responsável pela codificação da proteína gp85 do envelope viral.

Estudos comprovaram que o PCR foi aproximadamente 30% mais sensível em relação ao ELISA p27, na detecção de VLA-J em amostras de plasma em aves provenientes de lotes com idades de 16, 26 e 37 semanas de idade. Outros autores utilizaram o PCR em amostras de campo obtidas em plantéis de reprodutoras pesadas com lesões sugestivas de leucose mieloide e em amostras de sangue e tecidos retirados da crista e pés das aves, demonstrando que esta técnica é um método sensível e específico para a detecção do VLA-J.

Um estudo sobre a utilização da PCR na detecção do VLA-J provou que este teste, quando aplicado em amostras de sangue e hastes de penas, pode ser o método de identificação mais sensível na detecção de aves infectadas, quando comparado ao isolamento do vírus em amostras de soro. A técnica da PCR quando utilizada com essas amostras demonstrou ser um método sensível, rápido e específico na detecção do VLA-J.

Testes comparativos de sensibilidade entre os métodos convencionais de identificação do VLA em aves infectadas e o PCR em amostras de sangue, soro e hastes de penas comprovaram que os testes convencionais e os testes com o DNA proviral em sangue e haste de pena demonstraram ser igualmente sensíveis. Já na infecção por contato dos frangos de corte, o PCR utilizando DNA proviral em sangue e penas demonstrou ser mais sensível.

O Laboratório de Biologia Molecular, do Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Instituto Biológico, localizado em Descalvado, SP, encontra-se em fase de implantação do diagnóstico molecular do vírus da leucose aviária subgrupo J (VLA-J), dentre outras importantes enfermidades aviárias. As instalações foram projetadas de modo a garantir um fluxo unidirecional, com a finalidade de se evitar contaminações cruzadas entre os cinco setores: preparo do mix, extração, pré-PCR, PCR e Eletroforese. A adoção das técnicas moleculares tem como objetivo agilizar o diagnóstico das principais patologias aviárias, uma vez que são métodos rápidos e precisos. Ao analisarmos a relevância da avicultura comercial brasileira no cenário nacional e internacional, a agilidade na detecção de patógenos que acometem os plantéis avícolas é fundamental para a adoção de medidas profiláticas e terapêuticas, visando manter os elevados índices zootécnicos de nossa produção.

Referências

1. Crittenden, L.B.; Smith, E.J. A comparison of test materials for differentiating avian leukosis virus group-specific antigens of exogenous and endogenous origin. *Avian Disease*, v.28, n.4, p.1057-1070, 1984.
 2. Fonseca, A. S. K.; Ikuta, N.; Lunge, V. R.; Marques, E. K.; Garcia, M. Diagnóstico molecular do vírus da leucose aviária – subgrupo J. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1998, “PRÊMIO DE PESQUISA AVÍCOLA JOSÉ MARIA LAMAS DA SILVA”, São Paulo. Anais. Campinas: FACTA, 1998. p.49.
 3. Hoy, M.A. *An introduction to principles and applications*. San Diego: Academic Press. p.203-245, 1994.
 4. McKAY, J. Doenças neoplásicas aviárias: estratégias de controle das empresas de melhoramento genético. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS AVIÁRIAS DE UBERLÂNDIA, 3., 1999, Uberlândia. Anais. Uberlândia: Departamento de Medicina Animal da Universidade Federal de Uberlândia, 1999. p.13-18.
 5. Nepomuceno, E.; Patrício, I. S. A ameaça da leucose. *Avicultura Industrial*, Porto Feliz, v.88, n.1051, p.22-26, 1997. Anuário 98.
 6. Payne, L.N.; Brown, S.R.; Bumstead, N.; Howes, K.; Frazier, J.A.; Thouless, M.E. A novel subgroup of avian leukosis virus in chickens. *The Journal of General Virology*, n. 72, p. 801-807, 1991.
 7. Payne, L.N.; Fadly, A.M. Leukosis/sarcoma group. In: Calnek, B.W. *Diseases of poultry*. 10.ed. Ames: Iowa State University, 1997. p.414-466.
 8. Persing, D.H.; Smith, T.F.; Tenover, F.C. Diagnostic molecular microbiology: principles and applications. Washington: American Society of Microbiology, 1993. 664p.
 9. Rosales, A. G. Inmunosupresion causada por enfermedades virales, estres, manejo y nutricion. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS AVIÁRIAS DE UBERLÂNDIA, 3., 1999, Uberlândia. Anais. Uberlândia: Departamento de Medicina Animal da Universidade Federal de Uberlândia, 1999. p.2-11.
 10. Smith, E.J.; Williams, S.M.; Fadly, A.M. Detection of avian leukosis virus subgroup J using the Polymerase Chain Reaction. *Avian Disease*, v.42, n.2, p.375-380, 1998.
-