



unopar

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU MESTRADO
EM SAÚDE E PRODUÇÃO DE RUMINANTES**

MAURICIO ZAMPRONIO AFFONSO

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA
EM UM REBANHO LEITEIRO**

Arapongas
2015

AFFONSO MAURICIO ZAMPRONIO

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA
EM UM REBANHO LEITEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção de Ruminantes (Programa Associado entre Universidade Estadual de Londrina - UEL e Universidade Norte do Paraná - UNOPAR), como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção de Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Werner Okano

Arapongas
2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de catalogação-na-publicação
Universidade Norte do Paraná
Biblioteca Central
Setor de Tratamento da Informação

Affonso, Maurício Zampronio

A196s Soroepidemiologia da leucose enzoótica bovina em um rebanho leiteiro/ Maurício Zampronio Affonso. Araongas: [s.n], 2015
59f.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes) - Saúde de Ruminantes.
Universidade Norte do Paraná e Universidade Estadual de Londrina.
Orientador: Prof. Dr. Werner Okano

1- Medicina veterinária -dissertação de mestrado- UNOPAR/UEL 2- Produção de ruminantes
3- Bovinos 4-Leite 5- Sorologia 6- Vírus da leucemia bovina I- Okano, Werner;
orient. II- Universidade Norte do Paraná. III- Universidade Estadual de Londrina.

CDU 619:636.2

AFFONSO MAURICIO ZAMPRONIO

SOROEPIDEMIOLOGIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM UM REBANHO LEITEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção em Ruminantes (Programa Associado entre Universidade Estadual de Londrina [UEL] e Universidade Norte do Paraná [UNOPAR]), como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção de Ruminantes.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Orientador Dr. Werner Okano
Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Alexey Leon Gomel Bogado
Universidade Norte do Paraná

Prof. Dra. Meire Christina Seki
Universidade Estadual do Centro Oeste

Londrina, 13 de Março de 2015.

Dedico este trabalho à minha esposa Ana Lucia que sempre me incentivou na busca de novos conhecimentos e à minha família pelo apoio irrestrito.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Werner Okano, meu orientador obrigado por ter confiado em mim, por ter me dado a oportunidade de desenvolver este trabalho e pelos conselhos sempre necessários e pertinentes.

Ao professor Dr. Adriano Carrasco meu co-orientador e amigo que sempre me incentivou na busca por novos conhecimentos.

Ao professor Dr. Alexey Leon Gomel Bogado pelos conselhos e prontidão em tudo que precisei.

Aos professores do curso de Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes, muito obrigado pela dedicação e pelos conhecimentos passados.

Aos acadêmicos Luiz Carlos Negri Filho e Pedro Henrique Newbery Chinezze pela ajuda e atenção em tudo que precisei no desenvolvimento deste trabalho.

Ao acadêmico Dalton Bronkhorst que abriu as portas da propriedade de sua família para a realização dessa pesquisa.

Aos proprietários da fazenda Lajeado Cachoeira pela gentileza em permitir o desenvolvimento deste projeto disponibilizando todo o rebanho para a pesquisa.

À técnica Kelly Reis Assunção do Laboratório de Imunologia do Centro de Diagnóstico Médico Veterinário da Unopar pelo auxílio e ensinamento durante as práticas laboratoriais.

À minha esposa Ana Lucia, companheira, amiga e cúmplice de todas as horas, obrigado por tanta paciência, dedicação e por me pegar pela mão e me indicar a direção correta para seguir adiante nas horas difíceis.

Aos meus pais Clóvis e Maria Helena e meus irmãos Vicente e Juliana que sempre torceram pelo meu sucesso mesmo estando longe e não mediram esforços para que eu concluísse o Mestrado. Amo todos vocês.

À minha querida filha Mariana, que ainda está a caminho por servir de fonte inspiradora.

TRÊS COISAS

De tudo ficaram três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando...
A certeza de que precisamos continuar...
A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar...
Portanto, devemos fazer:
Da interrupção, um caminho novo... Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada... Do sonho, uma ponte... Da procura... Um encontro...

Fernando Sabino

AFFONSO, Mauricio Zampronio. **Soroepidemiologia da Leucose Enzoótica Bovina em um rebanho leiteiro**. 2015. 59 folhas. Dissertação de Mestrado Acadêmico Saúde e Produção de Ruminantes (Mestrado Acadêmico em Saúde e Produção de Ruminantes) – Universidade Norte do Paraná, Arapongas, 2015.

RESUMO

A produção da pecuária leiteira nacional tem aumentado anualmente, porém vários fatores como a deficiência no manejo sanitário influenciam negativamente os índices de sua produtividade. O reflexo pode ser percebido na diminuição da performance produtiva e no aumento dos custos de produção. A Leucose Enzoótica Bovina é uma doença causada pelo Vírus da Leucemia Bovina e está disseminada nos rebanhos bovinos em todo o mundo, inclusive no Brasil. Com níveis de ocorrência variáveis entre os rebanhos, possui maior incidência em bovinos de leite quando comparado aos de corte. A Leucose Enzoótica Bovina tem característica infecto-contagiosa e evolução crônica, que persiste por toda a vida do animal, gerando grandes prejuízos a pecuária leiteira. Os animais infectados eliminam o agente por meio das excreções e secreções corporais e a sua transmissão ocorre naturalmente por duas formas, podendo ser classificada como ativa (transmissão horizontal) ou passiva (transmissão vertical). As formas de manifestação da Leucose Enzoótica Bovina podem se apresentar como uma linfocitose persistente, que é assintomática e mais comum, ou na forma clínica ou tumoral com menor incidência, porém com uma maior letalidade, como nos casos de linfossarcomas. Em relação à bovinocultura leiteira destacam-se prejuízos como: a queda na produção de leite, aumento na incidência dos casos de mastite, problemas reprodutivos (aumento no intervalo entre partos) e o descarte prematuro de animais. O presente trabalho objetivou verificar a evolução da prevalência de bovinos leiteiros sororeagentes para o vírus da leucose bovina, em uma propriedade rural de Arapoti (PR), durante os anos de 2013 e 2014. Foram colhidas amostras de sangue de 359 animais no ano de 2013 e 395 animais no ano de 2014. O método sorológico utilizado para a detecção de anticorpos anti-VLB foi o teste de Imunodifusão em Gel de Agar. Observou-se que em 2013, os animais que reagiram positivamente foram 26/359, representando 7,24%. Em 2014 os casos de soropositivos aumentaram para 56/395, atingindo 14,18% das amostras sanguíneas. Verificou-se também um aumento da incidência da doença em relação ao envelhecimento do rebanho, sendo que em ambos os anos, esse incremento ocorreu em animais com idade superior a 25 meses. Dessa forma, esses resultados demonstram que a infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina está presente na região estudada e ações sanitárias direcionadas devem ser implementadas para a prevenção da disseminação desse agente, evitando assim, perdas na cadeia produtiva leiteira.

Palavras chave: Bovinos. Leite. Sorologia. Vírus da Leucemia Bovina.

AFFONSO, Mauricio Zamprônio. **Seroepidemiology of Bovine Leukosis in a dairy cattle**. 2015. 59 folhas. Dissertação em Saúde e Produção de Ruminantes (Mestrado Acadêmico Saúde e Produção de Ruminantes) – Universidade Norte do Paraná, Arapongas, 2015.

ABSTRACT

The production of the national dairy cattle has increased annually, but several factors and the deficiency in the sanitary negatively influence the rates of productivity. The reflection can be realized performance in decreased production and increased production costs. The Enzootic Bovine Leukosis is a disease caused by bovine leukemia virus and is widespread in cattle around the world, including Brazil. With levels of occurrence variables among the cattle, has a higher incidence in dairy cattle when compared to beef cattle. The Bovine Leukosis is infectious and chronic evolution disease, which persists throughout the life of the animal, causing great losses to dairy farming. Infected animals eliminate the agent through excreta and body secretions and its transmission occurs naturally in two forms can be classified as active (horizontal transmission) or passive (vertical transmission). The manifestations of Bovine Leukosis may present as a persistent lymphocytosis, which is asymptomatic and most common, or clinical or tumor shape with lower incidence, but with a higher mortality, as in cases of lymphosarcomas. In relation to the dairy cattle stand out losses as a drop in milk production, increased incidence of mastitis, reproductive problems (increase in the interval between deliveries) and premature disposal of animals. This study aimed to determine the evolution of the prevalence of dairy cattle for reactive serum for the virus bovine leukosis, in a rural property Arapoti (PR) during the years 2013 and 2014. Blood samples were collected from 359 animals in 2013 and from 395 animals in 2014. The serologic method for the detection of anti-BLV antibody was immunodiffusion test in agar gel. It was observed in 2013 that the positive animals were 26/359, representing 7.24%. In 2014 the cases of BLV-positive increased to 56/395, reaching 14.18% of blood samples. There was also an increased incidence of the disease in relation to the aging of the cattle, and in both years, this increase occurred in animals older than 25 months. Thus, these results demonstrate that infection enzootic bovine leukemia is present in the region studied and directed health activities must be implemented to prevent the spread of this agent, avoiding losses in the dairy supply chain.

Keywords: Cattle. Milk. Serology. Bovine Leukemia Virus.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Representação gráfica da evolução da soroprevalência de leucose enzoótica bovina (%) em um rebanho leiteiro de Arapoti - PR, em diferentes faixas etárias, durante os anos de 2013 e 2014..... 36
- Figura 2** - Representação gráfica da morbidade incidente dos animais em números absolutos para os casos positivos para o vírus da leucose bovina em um rebanho leiteiro de Arapoti - PR, em diferentes faixas etárias, durante os anos de 2013 e 2014..... 37

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Levantamento da ocorrência da Leucose Enzoótica Bovina no Brasil segundo autor, ano, estado, diagnóstico e aptidão zootécnica dos animais..... 20
- Tabela 2** - Resultados do teste de imunodifusão em ágar-gel para o diagnóstico da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina em uma propriedade de Arapoti - PR, durante os anos de 2013 e 2014..... 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEE	Comunidade Econômica Européia
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção por Ligação Enzimática
gp30	Glicoproteína 30
gp51	Glicoproteína 51
HPB	Holandesa Preto e Branco
HTLV-1	Vírus Humanos da Leucemia de Células T Tipos 1
HTLV-2	Vírus Humanos da Leucemia de Células T Tipos 2
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDGA	Imunodifusão em Gel de Agar
LEB	Leucose Enzoótica Bovina
NAHMS	Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal
OIE	Organização Internacional de Epizootias
p12	Proteína 12
p24	Proteína 24
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PIB	Produto Interno Bruto
PR	Paraná
RNA	Ácido Ribonucléico
Tecpar®	Instituto de Tecnologia do Paraná
UNOPAR	Universidade Norte do Paraná
USDA	United States Department of Agriculture
VLB	Vírus da Leucose Bovina
VLEB	Vírus da Leucose Enzoótica Bovina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA - CONTEXTUALIZAÇÃO	15
2.1 ETIOLOGIA	15
2.2 EPIDEMIOLOGIA MUNDIAL	15
2.3 EPIDEMIOLOGIA NO BRASIL	18
2.4 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E LEB	21
2.5 PATOGENIA DA LEB.....	22
2.6 DIAGNÓSTICO DA LEB	26
3 OBJETIVOS	29
3.1 GERAL	29
3.2 ESPECÍFICOS	29
4 ARTIGO	30
5 CONCLUSÃO GERAL	45
6 REFERÊNCIAS	46
7 APÊNDICES	58
APÊNDICE A – Questionário Epidemiológico	59

1 INTRODUÇÃO

A pecuária é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro e, conseqüentemente, da economia nacional. O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, sendo o maior exportador de carne bovina, o segundo maior produtor de carne e o sexto maior produtor de leite (USDA, 2014).

A pecuária leiteira é uma importante atividade que compõe o agronegócio brasileiro, tanto do ponto de vista econômico, quanto social, possuindo um papel relevante na geração de empregos e na composição do Produto Interno Bruto (PIB) nacional (JANK; GALAN, 1998) representando aproximadamente 4% do PIB (IBGE, 2013).

O rebanho bovino brasileiro nos últimos anos tem apresentado grande evolução, chegando em 2013 com aproximadamente 211,8 milhões de cabeças, o que representou uma produção de 34,25 bilhões de litros de leite no ano de 2013 (IBGE, 2013).

A pecuária leiteira é uma das atividades mais tradicionais do meio rural brasileiro e de acordo com o último censo agropecuário (IBGE, 2006) existem no Brasil aproximadamente 5,2 milhões de estabelecimentos rurais dos quais 25% (aproximadamente 1,35 milhões) produzem leite, envolvendo cerca de cinco milhões de pessoas. O valor bruto da produção de leite em 2013, por exemplo, foi de R\$ 22,9 bilhões contribuindo para movimentar principalmente a economia das pequenas e médias cidades brasileiras (BRASIL, 2014).

Para Holanda Júnior e Campos (2003), a sanidade dos animais é de fundamental importância para o desenvolvimento da atividade leiteira, aliada a melhoria da alimentação e manejo do rebanho.

Dentre os problemas sanitários que podem envolver a bovinocultura e, conseqüentemente gerar prejuízos não só ao produtor, mas também a toda a cadeia produtiva, temos a Leucose Enzoótica Bovina (LEB). Esta é uma enfermidade economicamente importante, por reduzir a produção de leite, diminuir a fertilidade e aumentar a taxa de descarte de animais (DA et al., 1993; THURMOND, 1987), tendo portanto, um efeito negativo sobre a indústria de laticínios em geral (BARTLET, 2013).

A LEB é causada pelo vírus da leucemia bovina, do inglês *Bovine Leukemia Virus* (BLV), um oncovírus linfotrópico do Tipo B, membro da família Retroviridae que infecta bovinos, possuindo uma distribuição cosmopolita (BURNY et al., 1987).

A LEB caracteriza-se por ser uma enfermidade infecto-contagiosa, de evolução crônica, sendo responsável por formas distintas de manifestação. Pode evoluir para o desenvolvimento de linfossarcomas que acomete cerca de 2 a 5% dos animais sororeagentes ou para casos de linfocitose persistente, os quais não apresentam sintomatologia clínica (LEITE et al., 1984). A enfermidade apresenta caráter fatal quando há o desenvolvimento de linfossarcomas, que é a forma tumoral da doença (COCKERELL; REYES, 2000).

A descrição desta enfermidade foi realizada pela primeira vez por Leisering, no continente europeu na região da Alemanha, em 1871. A partir das migrações populacionais pelo mundo, intensificaram-se também a movimentação de bovinos e, após o fim da segunda Guerra Mundial, houve um favorecimento da disseminação da doença para as regiões orientais e ocidentais da Europa e em seguida, para os demais continentes (BIRGEL, 1982; GARCIA, 1989).

A LEB foi introduzida Brasil, devido à falta de uma política sanitária adequada e pela importação indiscriminada de animais por pecuaristas das regiões Sul e Sudeste, provenientes de áreas endêmicas do hemisfério norte (GARCIA; D'ANGELINO; BIRGEL, 1991). No Brasil, a LEB foi descrita pela primeira vez por Rangel e Machado, em 1943, no Estado de Minas Gerais (BIRGEL JUNIOR et al., 2006). Essa doença pode ser considerada endêmica em todos os estados brasileiros, com ocorrência variando entre 5,1 e 44,3%, de acordo com Júnior et al. (2006).

Mediante a relevância econômica e social da pecuária leiteira nacional, torna-se imprescindível conhecer a prevalência da LEB em rebanhos leiteiros altamente tecnificados, tendo em vista que não há uma preocupação dos produtores com as perdas invisíveis decorrentes dessa doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA – CONTEXTUALIZAÇÃO

2.1 ETIOLOGIA

A LEB é uma doença causada por um vírus, denominado *Bovine Leukemia Virus* (VLB), classificado como um Deltaretrovírus, pertencente à família Retroviridae e subfamília Oncovirinae, que apresenta uma grande predileção por linfócitos B como células-alvo (BURNY et al., 1987).

Esse vírus é um retrovírus exógeno com muitas similaridades estruturais, genômicas e de patogenicidade com o vírus humano da leucemia de células T tipos 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2). As principais células-alvo do VLB são os linfócitos B (RAVAZZOLLO; COSTA, 2012). A partícula viral consiste fundamentalmente de duas moléculas idênticas de RNA fita simples, nucleoproteína p12, proteína do capsídeo p24, glicoproteína transmembrana gp30, glicoproteína do envelope gp51 e várias enzimas, incluindo a transcriptase reversa. O DNA proviral do vírus da LEB é gerado pela transcrição reversa de grande parte do genoma viral e integra-se aleatoriamente no DNA nuclear da célula hospedeira, onde permanece (OIE, 2012).

Possui em seu envelope um complexo de glicoproteínas, gp51 e gp30, que exercem um importante papel na infecção viral, mediando à infecção. A glicoproteína externa (gp51) liga o vírus à célula alvo (linfócito B) enquanto que a glicoproteína transmembrânica (gp30), ancora o envelope do vírus na membrana plasmática da célula infectada, possibilitando sua penetração na célula do hospedeiro (SUZUKI; IKEDA, 1998).

2.2 EPIDEMIOLOGIA MUNDIAL

Os primeiros relatos das manifestações clínicas da enfermidade condizente com aquelas que posteriormente, seriam adotadas como de leucose enzoótica bovina, ocorreram na Prússia Oriental, onde hoje é a Alemanha, durante a segunda metade do século XIX. A descrição dessa doença, realizada por Leistering em 1871, caracterizava um animal com esplenomegalia, discretos nódulos arredondados de coloração branco-amarelada, compostos por células linfóides e maiores que os folículos esplênicos normais. Esse relato foi considerado o primeiro

caso da doença descrita no meio científico. Naquela época, os animais observados com esplenomegalia eram cuidadosamente examinados para que se pudesse fazer o diagnóstico diferencial para casos de antraz e, desta forma, descreveu-se clinicamente a LEB (OLSON; MILLER, 1987).

Após esse relato, vários outros ocorreram na Europa e no final século XIX, a enfermidade viral foi levada para o continente americano, sendo introduzido nos Estados Unidos e Canadá, devido ao grande fluxo de bovinos trazidos de regiões endêmicas européias. Posteriormente, o vírus se disseminou por diversos países do mundo (SORENSEN, 1961).

A disseminação do Vírus da Leucose Bovina (VLB) pelo mundo foi originada pela comercialização indiscriminada de bovinos infectados. Porém, o real estado soropidemiológico dessa infecção permanece desconhecida em um grande número de países. Essa infecção afeta desigualmente diferentes regiões dentro de um país, e diferentes fazendas dentro de uma mesma região (SCHWARTZ; LÉVY, 1994).

Devido às perdas econômicas e ao caráter endêmico expressado pela LEB, diversos países adotaram programas e medidas para erradicar a doença de seus territórios (ACAITE et al., 2007). Na Europa Ocidental essa campanha tem sido bem sucedida e recentemente, a Comunidade Econômica Européia (CEE) declarou oficialmente que a maioria de seus países membros estava livre da LEB. No entanto, países como Bulgária, Croácia, Estônia, Letônia, Polônia, Romênia, Ucrânia, pertencentes à Europa Oriental, apresentam um cenário diferente, nos quais a doença ainda está presente (RODRIGUEZ et al., 2011).

Há relatos também, que indicam a erradicação desta infecção na Dinamarca e Finlândia, além da região da baixa Silésia, na Polônia através da técnica imunológica de IDGA (imunodifusão em gel de Agar) até 1995 e após este ano pelo teste imunoenzimático ELISA (NUOTIO et al., 2003; OTACHEL-HAWRANEK, 2007).

De acordo Radostiis et al. (2007) na Alemanha, onde a doença foi originalmente descrita, a LEB é considerada erradicada nos dias atuais. Porém, outros países da Europa apresentaram estudos de ocorrência de anticorpos anti-LEB, como a Bélgica com 28,60% (MAMMERIKCX et al., 1978), Áustria com 2,2% (BURKI, 1982), Grécia com 0,02% (DIMITRIADES; ARTAVANIS, 1984), Hungria com 19,39% (TEKES; MATE; RUSKA, 1984) e Bulgária com 22,26% (SANDEV, et

al., 2006). Pesquisas realizadas na Irlanda, Itália, Grã-Bretanha, Portugal também relataram a existência da doença (KAVANAGH, 1978; RUTILI et al., 1978; CHASEY et al., 1978; COSTA DURÃO, 1978).

Na Oceania destacam-se os estudos desenvolvidos na Austrália com 13,0% de bovinos sororeagentes (DIMMOCK; CHUNG; MACKENZIE, 1991), a partir da implementação de um programa de erradicação nacional da LEB em 2008, no final de 2012, o rebanho foi considerado livre dessa doença (DAFF, 2013).

Para Rodríguez et al. (2011) a situação epidemiológica na Ásia é incerta, mas a Organização Internacional de Epizootias (OIE) reconhece que a LEB também está presente na Indonésia, Taipei (China) e na Mongólia.

No Japão registrou-se uma taxa de positividade no rebanho de 3,3% em 2003 (USUI et al., 2003), enquanto que no Camboja e Taiwan, surpreendentemente, apenas cerca de 5% dos animais foram positivos para LEB (WANG, 1991; MEAS et al., 2000). Na Coreia do Sul, a ocorrência individual ultrapassou os 50% na região estudada, com 86,8% dos rebanhos leiteiros infectados (SUH et al., 2005).

Estudos na Turquia apontaram a ocorrência de 11,0% (UYSAL et al., 1998), Israel apresentou 24% de animais sororeagentes (BRENNER et al., 1986) e no norte do Irã a incidência registrada foi de 41,3% (HAGHPARAST, 2012). Em pesquisa recente, também no Irã, Mousavi et al. (2014) nas regiões do nordeste iraniano, verificaram valores que variaram de 1,5% a 29,8%.

No continente africano, de acordo com uma pesquisa realizada na Etiópia, com um total de 204 amostras coletadas, 43 apresentaram anticorpos contra LEB totalizando 21% do tamanho amostral (HEINONEN; ASSEFA, 1995). Já em um estudo sorológico realizado na região do Alto Egito, pode-se concluir que 37,7% dos animais menores que dois anos, e 72,7% dos animais maiores que dois anos foram considerados positivos para o VLB (ZAGHAWA et al., 2002).

Na América do Norte estima-se que a infecção pelo VLB ocorra em no mínimo 20% da população de vacas leiteiras adultas nos Estados Unidos (SCHWARTZ; LÉVY, 1994). Segundo dados norte americanos do Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal (NAHMS) a ocorrência da LEB aumentou nos rebanhos leiteiros de 10% em 1975 para 43% em 1997, já em 2007 também houve um aumento na incidência da LEB no país, sendo 83,2% das fazendas com até 100 animais, consideradas positivas para a LEB. Em propriedades que tinham entre 101

e 499 animais a ocorrência foi de 82,1% e em propriedades contendo acima de 500 cabeças, todas estavam infectadas pela VLB (NAHMS, 2007).

No Canadá a ocorrência da LEB variou entre 6% e 11% (SCHWARTZ; LÉVY, 1994). Contudo, em outra pesquisa realizada por Scott et al. (2006), que analisaram 77 rebanhos leiteiros, totalizando 2814 amostras em Alberta, a ocorrência de animais reagentes foi de 26,90%. Vanleeuwen et al. (2001), na região da Maritime, verificaram a soroprevalência para LEB de 20,7%, enquanto na região de Saskatchewan foi de 37,4% (VANLEEUVEN et al., 2005) e Manitoba de 60,8% e 10,3% para bovinos de leite e corte, respectivamente (VANLEEUVEN et al., 2006).

Suzan et al. (1983) realizaram uma pesquisa de levantamento sorológico no México com 225 rebanhos de 10 estados diferentes e verificaram uma ocorrência de 43% de animais positivos para LEB.

Na América Central, a partir do trabalho desenvolvido na Costa Rica, Ducreaux et al. (1987) obtiveram uma ocorrência de 27,80% em bovinos leiteiros na região estudada.

Na América do Sul de acordo com levantamento de Brunel et al. (1981), realizado na Argentina mais precisamente na província de Formosa constatou-se que 50% dos bovinos estavam infectados pelo VLB. Segundo Trono et al. (2001), 84% das propriedades leiteiras argentinas são positivas para a LEB, enquanto que a prevalência de cada propriedade foi de 34%. Na Colômbia essa taxa chegou a 45,28% (ALFONSO; ALMANSA; BARREIRA, 1998) e também nesse país, Benavides et al. (2013) descreveram a ocorrência em animais de 19,8%. Já na Venezuela 49,10% dos animais analisados foram positivos para LEB (MARIN et al., 1978).

2.3 EPIDEMIOLOGIA NO BRASIL

No Brasil, Rangel e Machado, em 1943, relataram o primeiro caso da doença, enquanto realizavam investigações relacionadas à neoplasia de animais domésticos em Minas Gerais e descreveram a ocorrência de quatro casos de linfossarcomas em bovinos (BIRGEL JUNIOR et al., 2006).

Com a importação indiscriminada de bovinos do hemisfério norte, realizada por criadores de gado de elite das regiões Sudeste e Sul do Brasil, o VLB

foi introduzido no país. Uma vez estabelecida, nessas regiões, esse vírus disseminou-se para as regiões Norte e Nordeste, favorecido pelo deslocamento intenso de animais (ABREU; ARAUJO; BIRGEL, 1994). Essa disseminação do vírus em território nacional ocorreu principalmente, pela ausência de uma política sanitária, que visava combater a ocorrência da doença no território nacional (GARCIA; D'ANGELINO; BIRGEL, 1991).

Ao acompanhar uma dessas importações, Modena et al. (1983), realizaram um trabalho com 100 animais importados dos Estados Unidos e do Canadá, com finalidade de melhoramento genético e que foram considerados livres da LEB pelo país de origem. O grupo se dividiu em dois lotes, o primeiro com 60 animais foi destinado ao estado de São Paulo e não fez parte deste trabalho e o segundo com 40 animais foi para Minas Gerais e recebeu acompanhamento e quatro testes para LEB. O resultado observado na primeira colheita mostrou que 12,5% dos animais eram positivos. Todavia as três análises que foram realizadas na sequência, mostraram um crescimento gradual da incidência a cada colheita passando para 37,85%, 43,2% e finalmente para 80% dos animais. Esses dados comprovam que a importação de animais pode ser uma forma de disseminação do vírus nos rebanhos do Brasil.

Em uma pesquisa realizada por Flores et al. (1992) com o objetivo de comprovar a importação de animais portadores da LEB, foram analisados 1278 animais vindos do Uruguai e concluiu-se que 8,06% eram positivos para a doença.

Sete anos após esse levantamento sorológico realizado por Flores e colaboradores, Van Der Maaten et al. (1999) confirmaram os resultados encontrados ao analisar 19779 amostras de soro de animais também importados do Uruguai, registrando-se uma incidência de 6,3%. Esses levantamentos indicam a necessidade de assegurar a importação de animais negativos para o VLB e implantação de medidas de controle no Brasil.

A LEB no Brasil é endêmica, com níveis de ocorrência variáveis entre os rebanhos, além de ser mais comum em bovinos de leite do que em animais de corte, sendo que a ocorrência da LEB em animais de leite pode ser até quatro vezes maior que em bovinos de corte (RAVAZZOLLO; COSTA, 2012).

Esta maior ocorrência nos bovinos leiteiros ocorre provavelmente devido ao maior tempo de vida produtiva e também pelo sistema de criação intensivo em que são submetidos.(BIRGEL et al.,1994).

Na Tabela 1 são apresentados os dados encontrados de ocorrência da doença nos estados brasileiros.

Tabela 1 – Levantamento da ocorrência da Leucose Enzoótica Bovina no Brasil segundo autor, ano, estado, métodos de diagnóstico e aptidão zootécnica dos animais.

Autor	Ano	Estado	Nº Rebanhos	Nº Animais	% Positivos	Métodos de Diagnóstico	Aptidão
Abreu et al.	1990	RO	NI*	1.060	23,0	IDGA	Corte, leite e misto
Abreu et al.	1990	AC	NI*	1.060	9,7	IDGA	Corte, leite e misto
Flores et al.	1990	RS	NI*	1038	34,7	IDGA	Leite
Melo	1991	PE	NI*	195	23,1	IDGA	Leite
Melo	1991	PE	NI*	323	8,4	IDGA	Misto
Abreu, Araujo e Birgel	1994	CE	NI*	3430	24,5	IDGA	Leite e corte
Cordeiro et al.	1994	SC	1	52	35,0	IDGA	Leite
Moraes et al.	1996	RS	4200	39799	9,2	IDGA	Leite
Carvalho et al.	1996	PR	14	374	18,0	IDGA	Leite
Carvalho et al.	1996	PR		611	0,0	IDGA	Corte
Simões	1998	PB	NI*	780	8,3	IDGA	Leite
Molnár et al.	1999	PA	14	668	26,0	IDGA	Leite e corte
Molnár et al.	1999	PA	14	721	49,8	ELISA	Leite e corte
Silva	2001	PI	NI*	1976	16,9	IDGA	Leite
Luders	2001	SC	129	250	7,6	IDGA	Leite
Camargos et al.	2002	MG	23	659	26,7	IDGA	Leite
Camargos et al.	2002	MG		1059	2,5	IDGA	Corte
Carneiro et al.	2003	AM	16	661	9,6	IDGA	Leite
Megid et al.	2003	SP	65	1193	52,0	ELISA	Leite e corte
Leuzzi Júnior et al.	2003	PR	NI*	624	40,7	IDGA	Leite
Tavaro e Birgel	2005	BA	NI*	796	41,0	IDGA	Leite
Birgel Junior et al.	2006	SP	8	476	9,24	IDGA	Corte
Rajão	2008	MG	3	158	79,7	IDGA	Leite
Fernandes et al.	2009	TO	38	881	37,0	IDGA	Leite
Mendes	2009	PE	NI*	662	32,2	IDGA	Leite e misto
Santos	2010	MA	92	920	53,8	IDGA	Leite
Barros Filho et al.	2010	PR	5	268	56,34	IDGA	Leite
Rocha et al.	2014	PR	170	1706	16,64	IDGA	Leite
Juliano et al.	2014	TO	12	489	27,8	IDGA	Leite
Juliano et al.	2014	GO	11	562	15,3	IDGA	Leite

NI* - Não Informado. IDGA – Imunodifusão em gel de ágar. ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay.

2.4 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA LEB

As perdas econômicas geradas pela LEB estão diretamente relacionadas à queda nos índices produtivos, descarte dos animais positivos ou que apresentam complicações em decorrência do aparecimento de linfossarcoma, condenação de carcaças nos frigoríficos, além da proibição da exportação de animais, sêmen e embriões que sejam positivos para essa doença (DIGIACOMO, 1992; CORDEIRO et al., 1994).

Entretanto, em relação à bovinocultura leiteira prejuízos como a queda na produção de leite e problemas reprodutivos, como o aumento no intervalo entre partos podem ser destacados (D'ANGELINO, 1998; DA et al., 1993).

Em pesquisa realizada nos Estados Unidos, por Ott, Johnson e Wells (2003) durante o ano de 1996, com 1006 rebanhos de 20 estados norte americanos, foi verificado uma queda de 3% na produção de leite em animais com LEB. Esses animais infectados deixaram de produzir em média 218 Kg de leite por vaca/ano quando comparados a vacas sadias. Essa diminuição na produção de leite acarretou perda equivalente a 285 milhões de dólares para a pecuária leiteira do país.

Da mesma forma, Reinhardt et al. (1988) acompanharam por três anos um rebanho do estado de Valdivia no Chile e concluíram que os animais soropositivos produziram 156 Kg de leite a menos que os animais soronegativos, correspondendo a 3,5% em 305 dias de lactação. Por outro lado Brenner et al. (1990) obtiveram resultados contraditórios, pois não evidenciaram a diminuição na produção de leite entre as vacas soropositivas em relação as soronegativas.

No Canadá, uma pesquisa identificou o impacto econômico sobre produtores que tinham vacas portadoras de LEB e concluiu que em rebanhos soropositivos formados por 50 vacas, a doença provocava a morte dos animais, aborto em decorrência dos linfossarcomas uterinos, diminuição na fertilidade além dos prejuízos diretos, tais como despesas com serviços veterinários, medicamentos e mão-de-obra. A soma desses fatores acarretava danos financeiros na ordem de 807 dólares por vaca, por ano para o proprietário (VANLEEUEWEN, 2004).

D'Angelino (1998) realizou um estudo no Brasil, considerando a produção diária de leite em animais de segunda, terceira e quarta lactação, relacionando a doença com a produção e o descarte de animais, devido à LEB. O

resultado indicou que a média diária de produção de leite caía em 11% nos animais infectados quando comparados aos animais sadios, bem como, a produção que foi menor quando comparada aos animais de segunda, terceira e quarta lactação. Porém, nesse estudo não foi registrado nenhuma diferença quanto aos fatores reprodutivos, tais como, intervalos entre partos, coeficiente de natalidade e descarte de animais.

Ao correlacionar o efeito da LEB sobre outras doenças, um trabalho realizado no Brasil avaliou a ocorrência de mastite em animais positivos para VLB e mostrou que houve uma tendência de animais positivos apresentarem maior incidência de mastite conseqüentemente aumento do número de células somáticas no leite (GARCIA et al., 1995).

2.5 PATOGENIA DA LEB

Após a infecção pelo vírus da LEB, o animal não apresenta sinais clínicos de viremia, como febre e prostração. Entretanto há no sistema imunológico do hospedeiro a produção de anticorpos contra as proteínas estruturais (GARCIA et al., 1995).

Desta forma, esse vírus estabelece uma infecção sem sinais clínicos, caracterizada pela presença de anticorpos anti-VLEB, onde poucos linfócitos B são infectados. Menos de 5% das células mononucleares do sangue periférico possuem os provírus. A infecção persiste por toda a vida do animal, porém a sua evolução para quadros com alteração fisiológica ocorre em 35% dos bovinos infectados (COCKRELL; REYES, 2000). Uma das características dos animais infectados pelo VLB é a produção persistente de anticorpos, sugerindo uma constante estimulação do sistema imunológico por antígenos virais (BURNY, 1988), contudo, estes anticorpos não são capazes de proteger frente à infecção.

Apesar de várias espécies poderem ser infectados por inoculação do vírus, a infecção natural ocorre apenas nos bovinos (*Bos taurus* e *Bos indicus*),

búfalos e capivaras. As ovelhas são muito suscetíveis a inoculação experimental e a desenvolver tumores com mais frequência e em uma idade menor do que o observado nos bovinos. Uma resposta de anticorpos também pode ser detectada após a infecção experimental em veados, coelhos, ratos, cobaias, gatos, cães, ovelhas, macacos *rhesus*, chimpanzés, antílopes, porcos, cabras e búfalos (OIE, 2012).

Portanto, ovinos e caprinos também podem ser infectados com o vírus da LEB, conforme já demonstrado por testes *in vitro* e em infecções experimentais. Entretanto, apresentam efeitos patogênicos diferentes, reforçando o conceito de que a espécie bovina é a espécie mais susceptível a infecção desse vírus (MURPHY et al., 1999; AMORIL, 2005; BIRGEL JÚNIOR et al., 2006).

Os animais infectados podem eliminar o agente por meio das excreções e secreções corporais que contenham linfócitos B infectados, sendo o sangue, leite e saliva as principais formas de eliminação do vírus pelo hospedeiro. Desta forma, foi demonstrado que mesmo com um volume muito pequeno de sangue, quando inoculado por via intradérmica é capaz de causar infecção em bovinos e que em condições normais, devido à concentração de componentes celulares, a transmissão pelo sangue é mais frequente do que pelo colostro e leite (FERRER; MARSHAK; ABT, 1979; JOHNSON; KANEENE, 1992).

O vírus se aloja dentro dos linfócitos B e devido a esse tropismo característico é necessário que haja integridade destas células infectantes para que a transmissão seja efetivada, já que o vírus da LEB, em seu estado livre, é raramente detectado *in vivo*. A transmissão ocorre, naturalmente, de duas formas e pode ser classificada como ativa (transmissão horizontal) ou passiva (transmissão vertical) (JOHNSON; KANEENE, 1992).

Alguns autores demonstraram que a transmissão vertical é possível, apesar de pouco comum, comprovando a soropositividade de bezerros recém-nascidos antes da ingestão do colostro. Esta via de transmissão é responsável por 3 a 20% das infecções dos bezerros de vacas positivas (LEUZZI JÚNIOR; ALFIERI; ALFIERI, 2001; DEL FAVA; PITUCO, 2003).

A transmissão por contato direto ocorre por quaisquer meios pelos quais os linfócitos infectados pelo VLB possam ser transmitidos de uma vaca para

outra, havendo um risco aumentado de infecção no rebanho leiteiro durante o período periparturiente, sugerindo que as secreções vaginais, exsudados e placentas das vacas, tanto quanto os instrumentos de parto contaminados podem servir como fontes de células sanguíneas infectadas (RADOSTITS et al., 2007).

A transmissão pela inseminação artificial também pode ocorrer, mas apenas quando as amostras de sêmen estiverem contaminadas com leucócitos contendo o genoma viral, e isso só é possível quando há contaminação com sangue durante a colheita (MILLER; VAN DER MAATEN, 1979; BRAGA et al., 1998).

Em um levantamento realizado por Pituco et al. (2001) ao avaliar 230 touros de diversas Centrais de Inseminação Artificial no Brasil utilizando o teste de ELISA, os autores constataram que 17,4% dos animais avaliados eram sororeagentes. Entretanto, em outra pesquisa realizada por Del Fava e Pituco (2003), avaliando-se touros soropositivos que foram usados para cobertura natural em vacas negativas e o sêmen utilizado na inseminação artificial registraram que as fêmeas que receberam os touros ou que foram inseminadas foram classificadas como negativas para o LEB, demonstrando que essa via não tem grande significado para transmissão.

Outra importante via de transmissão do VLB é a via iatrogênica através de materiais cirúrgicos, seringas, agulhas, tatuadores, luvas de palpação retal e materiais contaminados e reutilizados (JOHNSON; KANEENE, 1992). No entanto, a transmissão horizontal, na ausência destes fatores contributivos é geralmente lenta e de baixa transmissibilidade, ocorrendo geralmente em animais do mesmo rebanho, sendo incomum ocorrer entre rebanhos vizinhos (MONTI; SCHRIJVER; BEIER, 2005).

Após a infecção, como a exemplo de outros retrovírus, os animais tornam-se portadores por toda a vida. Em grande parte dos casos a doença transcorre de forma assintomática e somente pode ser diagnosticada através de testes laboratoriais (RAVAZZOLLO; COSTA, 2012).

O período de viremia geralmente é curto, podendo variar entre 10 e 12 dias pós-infecção e posteriormente, é observado um longo período de latência antes do início dos sinais clínicos (PORTETELLE et al., 1978).

As formas de manifestação da LEB podem ocorrer de três maneiras distintas, podendo ser a forma leucêmica, a linfocitose persistente, e a forma tumoral nos casos de linfossarcomas. Entre 1% e 5% dos bovinos soropositivos

desenvolvem o linfossarcoma, a forma mais comum de neoplasia do gado leiteiro e 30% desenvolvem linfocitose persistente (FERRER; MARSHAK; ABT, 1979).

Parodi (1987) observou que na infecção pelo VLB, o animal pode apresentar-se positivo para LEB, sem a presença de linfocitose persistente (animal alinfocitótico) ou pode apresentar linfocitose persistente, caracterizada por uma elevação crônica no número de linfócitos circulante. Porém, os animais infectados podem desenvolver linfossarcomas, caracterizadas por infiltração mononuclear em órgãos ricos em tecido linfóide, comumente os linfonodos, o baço, o coração, o útero, o abomaso, o fígado e/ou os rins, tendo previamente apresentado ou não o quadro de linfocitose persistente.

A linfocitose persistente é configurada quando há um aumento no número de linfócitos circulantes de três ou mais desvios padrões acima da média, de acordo com padrões raciais e etários dos animais, mantendo esse aumento por pelo menos 90 dias (MODENA, 1984).

Essas alterações hematológicas, basicamente causada por linfócitos B, são resultantes de um desequilíbrio entre a proliferação e a morte celular, seja pela capacidade do vírus em causar o aumento da proliferação celular (DEBACQ et al., 2002; SCHWARTZ-CORNIL et al., 1997) ou de reduzir a apoptose dos linfócitos infectados (TAKAHASHI et al., 2005). O sistema imune recebe constantemente estímulos pelo vírus, causando uma diminuição da resposta humoral e celular após longo período de infecção, o que pode resultar na manifestação clínica da doença (GILLET et al., 2007).

Em contrapartida, a resposta imune celular do hospedeiro leva à supressão da replicação viral, o que contribui para a manifestação tardia do quadro clínico (KABEYA; OHASHI; ONUMA, 2001). À medida que a infecção progride, pode ocorrer a redução nos níveis de citocinas (KABEYA; OHASHI; ONUMA, 2001), além de redução da atividade fagocítica de leucócitos (AZEDO, 2007; WERLING et al., 1998), causando debilidade do sistema imunológico e aumento da susceptibilidade à outras infecções.

A forma tumoral da doença pode se manifestar cerca de 3 a 10 anos após a ocorrência da infecção, caracterizando-se pelo desenvolvimento de linfomas e/ou linfossarcomas, geralmente levando o animal a óbito. Este longo tempo de desenvolvimento da forma mais grave da enfermidade justifica a sua maior

importância no rebanho leiteiro, que possui uma vida produtiva mais longa (COCKRELL; REYES, 2000).

Os sinais clínicos observados na LEB estão ligados em grande parte, pela localização dos linfossarcomas: distúrbios digestórios, cardiorrespiratórios, reprodutivos, inapetência, perda de peso, fraqueza, debilidade geral e, às vezes, manifestações neurológicas, decorrentes do desenvolvimento do linfossarcoma. Os linfonodos superficiais podem estar aumentados de tamanho e os linfonodos internos podem ser palpados por exame retal. Os órgãos mais acometidos são o coração, abomaso e linfonodos. Lesões nos órgãos reprodutores são pouco frequentes, podendo acometer útero e vagina. É comum nos animais infectados, mesmo antes do aparecimento de tumores, que ocorra descarte precoce por transtornos como infertilidade e queda na produção de leite (BRAGA; VAN DER LAAN, 2001; SILVA et al., 2008).

2.6 DIAGNÓSTICO DA LEB

A LEB, no início da sua descoberta, era identificada apenas pelas lesões e manifestações clínicas. Contudo, com a adoção e desenvolvimento de exames diagnósticos, a enfermidade passou a ter sua comprovação laboratorial (MATOS; BIRGEL JUNIOR; BIRGEL, 2005). Com os conhecimentos advindos do isolamento do vírus da LEB, foi possível a idealização de provas sorológicas, com a finalidade de determinar os anticorpos específicos e, conseqüentemente, o reconhecimento precoce da infecção (MALMQUIST, 1969; MILLER; OLSON, 1972).

A identificação do vírus (detecção direta) pode ser realizada através da cultura *in vitro* do sobrenadante de células mononucleares do sangue periférico de animais infectados, submetidas ao teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) ou por microscopia eletrônica. O DNA proviral pode também ser detectado em PBMC ou em tumores de animais infectados por PCR (OIE, 2012).

A utilização da reação em cadeia pela polimerase (PCR, do inglês *Polimerase Chain Reactions*) identifica o DNA pró-viral do VLB através de *primers* construídos para corresponder a regiões específicas do genoma, e têm sido utilizados com sucesso. Segundo a OIE (2012) a utilização da PCR, é o método mais rápido e sensível para a detecção do vírus, sendo capaz de detectar infecções de forma precoce. Os métodos descritos são baseados em *primers* de seqüências

do gene *env*, que codificam a gp51. Este gene é altamente conservado, e o gene e o antígeno estão geralmente presentes em todos os animais infectados em todo o curso da infecção (OIE, 2012).

A PCR é usada principalmente como um adjuvante de sorologia para testes de confirmação, além de ser importante nas seguintes situações: em bezerros jovens com anticorpos advindos do colostro; nos casos de tumores, para a diferenciação entre linfoma esporádico e infeccioso; em tecido tumoral a partir de casos suspeitos coletados em matadouros, em casos de animais infectados antes do desenvolvimento de anticorpos contra o vírus da LEB; nos casos de resultados inconclusivos ou duvidosos em ELISA; no rastreamento sistemático de gado em estações de teste de progênie garantindo que eles são VLB livre (OIE, 2012).

Apesar de existir inúmeras técnicas de diagnósticos para a LEB, quando avaliamos as técnicas indiretas de detecção, os testes de imunodifusão em gel de Agar (IDGA) e ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA) são aceitos como teste padrão ouro de diagnóstico pelo “Office International Epizooties”. Estes testes têm sido a base para programas de controle e erradicação da doença em muitos países (OIE, 2012).

De acordo com OIE (2012), a infecção com o vírus da LEB em gado ocorre ao longo da vida e origina uma resposta de anticorpos persistente, no entanto os anticorpos podem ser detectados apenas a partir da 12^o semana após a infecção.

Em animais com até sete meses de idade podem estar presentes os anticorpos derivados da ingestão do colostro, não havendo nenhuma maneira de distinguir os anticorpos transferidos passivamente, daquelas decorrentes da infecção ativa. Nestes casos, a repetição da sorologia após os sete meses de idade, ou ainda a realização de uma prova de detecção direta, como a PCR, torna-se desejável (OIE, 2012).

Durante o período de periparto, as vacas podem apresentar uma redução na concentração de anticorpo anti-LEB no soro devido ao carregamento de anticorpos circulantes para o colostro. Portanto, quando se utiliza o teste de IDGA, um resultado negativo no soro pode ser verificado neste momento (2-6 semanas pré e 1-2 semanas após o parto) e o teste deve ser repetido (OIE, 2012).

O teste IDGA produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), de acordo com o fabricante, tem uma especificidade de 91% e uma sensibilidade de 95% para anticorpos anti-LEB, sendo inadequado para amostras de

leite (com exceção do primeiro colostro) devido à falta de especificidade e sensibilidade. A IDGA é simples e de fácil execução, sendo altamente útil e eficiente para os sistemas de erradicação da doença. Soros de referência são incluídos nos kits comerciais IDGA (OIE, 2012).

Os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) indireto ou de bloqueio estão disponíveis comercialmente e diferentes kits podem ser necessários para as amostras de soro ou de leite. Alguns testes ELISA são suficientemente sensíveis para ser usados com amostras reunidas. ELISAs são realizadas em microplacas de fase sólida. Antígeno do VLB é utilizado para revestir as placas, ou diretamente ou através da utilização de um anticorpo policlonal de captura ou anticorpo monoclonal (AcM) (OIE, 2012).

O antígeno é preparado a partir do sobrenadante de cultura de célula fetal de cordeiro infectada pelo VLB (VAN DER MAATEN; MILLER, 1976). Entretanto desde 2004, uma nova linha celular produtora do VBL (PO714), que é livre de outras infecções virais e contém um provírus do subgrupo belga, tem sido divulgado (BEIER et al., 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Verificar a evolução da prevalência de bovinos leiteiros sororeagentes para o vírus da leucose bovina (VLB), em uma propriedade rural de Arapoti (PR), durante os anos de 2013 e 2014.

3.2 ESPECÍFICOS

- Relacionar a faixa etária do rebanho estudado e a prevalência da doença, durante os anos de 2013 e 2014;
- Relacionar os problemas de manejo intensivo do gado e a prevalência da doença no rebanho;
- Identificar práticas de manejo, relacionando-as com a prevenção da LEB na propriedade;
- Recomendar medidas profiláticas específicas para propriedades leiteiras.

ARTIGO

EVOLUÇÃO DA SOROPREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM UM REBANHO LEITEIRO DE MANEJO INTENSIVO DE PRODUÇÃO

Mauricio Zampronio Affonso^{1*}; Adriano de Oliveira Torres Carrasco²; Werner Okano³

1 – Mestrando em Saúde e Produção de Ruminantes da Universidade do Norte do Paraná, UNOPAR. Endereço: Rodovia PR 218 - Km 1 - Jardim Universitário, CEP: 86702-670, Arapongas, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência: e-mail:mzaffonso@gmail.com, telefone: (42) 99441331.

2 - Doutor em Microbiologia pela Universidade de São Paulo, USP, professor do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO. Endereço: Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03 - Vila Carli, CEP 85040-080, Guarapuava, Paraná, Brasil.

3 - Doutor em Patologia Animal pela Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, UNESP, professor do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção de Ruminantes da Universidade do Norte do Paraná, UNOPAR. Endereço: Rodovia PR 218 - Km 1 - Jardim Universitário, CEP: 86702-670, Arapongas, Paraná, Brasil.

Artigo a ser submetido ao periódico *Tropical Animal Health and Production*

Resumo

A pecuária leiteira tem aumentado a sua produção nos últimos anos. Porém, vários fatores influenciam negativamente os índices de produtividade dentre elas a deficiência no manejo sanitário, que reflete diretamente na diminuição da performance produtiva, aumentando os custos de produção e principalmente perpetuando enfermidades no rebanho pela presença não diagnosticada de animais portadores. A Leucose Enzoótica Bovina é uma doença infecto-contagiosa de evolução crônica, causada por um vírus, que persiste por toda a vida do animal. Portanto, o presente trabalho visou verificar a evolução da prevalência de bovinos leiteiros sororeagentes para o vírus da leucose bovina (VLB), em uma propriedade rural de Arapoti (PR), durante os anos de 2013 e 2014. Foram colhidas amostras de sangue de 359 bovinos em 2013 e 395 animais em 2014. O método sorológico utilizado para a detecção de anticorpos anti-VLB foi o teste de Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA). Observou-se que em 2013 os animais que reagiram positivamente foram 26/359, representando 7,24%. Em 2014 os casos de soropositivos aumentaram para 56/395, atingindo 14,18% das amostras sanguíneas. Verificou-se também um aumento da incidência da sorologia em relação ao envelhecimento dos animais. Dessa forma, esses resultados demonstram o comportamento epidemiológico e a dinâmica sorológica em um sistema intensivo de produção de leite, evidenciando a necessidade da adoção de medidas corretivas de manejo para a sua prevenção, controle e erradicação.

Palavras chave: Bovinos, Leite, IDGA, Vírus da Leucemia Bovina.

Abstract

The dairy industry has increased its production in recent years. However, several factors negatively influence the indexes your productivity as the deficiency in the sanitary, which directly reflects the decline in productivity performance, increasing production costs and especially perpetuating disease in the cattle by undiagnosed presence of carriers. The Bovine Leukosis is an infectious disease of chronic evolution caused by a virus, which persists throughout the life of the animal. Therefore, this survey aimed to verify the evolution of the prevalence of dairy cattle reactive serum for the Bovine Leukosis Virus (BLV), in a rural property Arapoti (PR) during the years 2013 and 2014. Blood samples were collected from 359 bovine in 2013 and from 395 animals in 2014. The serologic method for the detection of anti-BLV antibody was immunodiffusion test in agar gel (AGID). It was observed in 2013 that the positive animals were 26/359, representing 7.24%. In 2014 the cases of BLV-positive increased to 56/395, reaching 14.18% of blood samples. There was also an increased incidence of the disease in relation to the aging of the cattle. Thus, these results demonstrate the epidemiological behavior and the evolution of this disease in intensive milk production system, demonstrating the need to adopt correct management measures for its prevention, control and eradication.

Keywords: Cattle, Milk, AGID test, Bovine Leukemia Virus

Introdução

Atualmente, o Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, com 211,8 milhões de cabeças (IBGE, 2013), é o maior exportador de carne bovina e o sexto maior produtor de leite (USDA, 2014), o que representou uma produção de 34,25 bilhões de litros no ano de 2013 (IBGE, 2013).

Deste modo, a sanidade dos animais é de fundamental importância para o desenvolvimento da atividade leiteira, aliada a melhoria da alimentação e manejo do rebanho (HOLANDA JÚNIOR; CAMPOS, 2003).

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma doença causada por um vírus, denominada oficialmente como *Bovine leukemia virus* (BURNY et al., 1987).

A LEB caracteriza-se por ser uma doença infecto-contagiosa de evolução crônica que persiste por toda a vida do animal (Cockrell; Reyes, 2000). Ela pode se tornar fatal e evoluir para o desenvolvimento de tumores (linfossarcomas) que acomete cerca de 2 a 5% dos animais soropositivos, sendo a forma mais comum de neoplasia do gado leiteiro, ou para casos de linfocitose persistente que não apresenta sintomatologia clínica (Leite et al., 1984).

A sua transmissão ocorre naturalmente de duas formas, e pode ser classificada como ativa (transmissão horizontal) ou passiva (transmissão vertical). Os animais contaminados, incluindo os portadores assintomáticos, podem eliminar o agente por meio das excreções e secreções corporais que contenham linfócitos B infectados, sendo o sangue, leite e saliva as principais formas de eliminação do vírus pelo hospedeiro (Johnson; Kaneene, 1992).

Apesar de a transmissão vertical ser possível, é pouco comum, sendo responsável por 3 a 20% das infecções dos filhotes de vacas positivas (Del Fava; Pituco, 2003).

Um importante meio de transmissão da LEB é por via iatrogênica através de materiais cirúrgicos, seringas, agulhas, tatuadores, luvas de palpação retal e materiais contaminados e reutilizados (Johnson; Kaneene, 1992). No entanto, a transmissão horizontal, na ausência destes fatores contributivos é geralmente lenta e de baixa transmissibilidade, ocorrendo geralmente em animais do mesmo rebanho e sendo incomum ocorrer entre rebanhos vizinhos (Monti; Schrijver; Beier; 2005).

Em países tropicais, onde existe alta incidência de picada de insetos, Cordeiro et al. (1994) e Johnson e Kaneene (1991) associam a presença desses agentes à elevação da prevalência da LEB nos rebanhos.

A LEB é considerada endêmica em todos os estados brasileiros e de acordo com pesquisas realizadas, a incidência do VLB na bovinocultura leiteira pode variar entre 5,1 e 56,34% (Birgel; Birgel, 2006; Modena et al., 1983; Carneiro et. al., 2003; Molnár et al., 1999; Fernandes et al., 2009; Juliano et. al.; 2014; Barros Filho et al., 2010).

No Paraná também foram detectadas a presença de animais soropositivos em todas as regiões relevantes da produção de leite, com soroprevalência variando entre 7,0 e 56,34% (Kantek; Kruger; Welte, 1983; Carvalho et al., 1996; Leuzzi Júnior et al., 2003; Barros Filho et al.; 2010, Rocha et. al., 2014).

Essa doença é uma enfermidade economicamente importante, capaz de diminuir a fertilidade e aumentar o índice de descarte de animais, reduzindo a produção de leite (Trainin et al., 1996) e apresentando um efeito negativo sobre a cadeia pecuária leiteira como um todo (Da et al., 1993; Thurmond, 1987; Bartlet et al., 2013; Garcia et al., 1995).

Apesar de várias pesquisas de levantamento de soroprevalência já terem sido realizadas nas regiões brasileiras, existem poucos estudos na literatura nacional sobre o acompanhamento do desenvolvimento da LEB em rebanhos comerciais, produtores de leite, submetidos a sistemas intensivos de produção. A partir do exposto acima, o presente trabalho visou verificar a evolução da prevalência de bovinos leiteiros sororeagentes para o vírus da leucose bovina (VLB), em uma propriedade rural de Arapoti (PR), durante os anos de 2013 e 2014.

Materiais e Métodos

Local do levantamento

O presente estudo foi realizado em uma propriedade leiteira no município de Arapoti (24°09' 28"S 49°49'37"O), situada na Mesorregião Centro Oriental Paranaense, com condições climáticas subtropical Cfa/Cfb.

Durante as visitas na propriedade foi aplicado um questionário epidemiológico utilizado para obtenção de informações referentes a propriedade, aos animais estudados e ao manejo sanitário praticado (Apêndice A).

A propriedade atua diretamente na produção de leite, tendo uma área de 50 hectares destinada exclusivamente para esta atividade.

O rebanho pode ser considerado fechado, pois não recebe animais de outras propriedades desde 2011, desta forma toda a reposição de animais é realizada com fêmeas nascidas na própria fazenda.

A ordenha é mecanizada e de circuito fechado, a contenção é em estilo espinha de peixe e a produção diária média é de aproximadamente 4.000 litros de leite.

Animais utilizados e colheita de sangue

Todos os animais são da raça holandesa com pelagem preta e branca e vermelha e branca, o rebanho tem idade média estimada de 5,7 anos e são criados em sistema intensivo de produção.

As vacas em produção são mantidas em sistema estabulação free stall.

Foram colhidas amostras de sangue de 359 animais no ano de 2013 e 395 animais no ano de 2014.

As amostras foram coletadas por venopunção da jugular ou coccígea média, após antissepsia com solução de álcool iodado a 2%, utilizando-se um sistema a vácuo em tubo siliconizado sem anticoagulante, com capacidade de 4 mL e agulhas individualizadas. Os animais foram contidos em canzil próprio para bovinos.

Cada amostra foi identificada e transportada sob refrigeração ao Laboratório de Imunodiagnóstico do Departamento de Veterinária da UNOPAR, sendo colocadas em repouso para facilitar a retração do coágulo, quando, então, foram centrifugadas a 302 x G por 10 minutos para a obtenção dos soros, que foram alicotadas em microtubos plásticos de 2 mL identificados e acondicionados a -20°C até a realização do teste sorológico.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNOPAR através do protocolo n°. 016/13.

Diagnóstico

O método sorológico utilizado para a detecção de anticorpos anti-VLB foi o teste de Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA), adaptado de Miller e Van Der Maaten (1976), por meio de kit comercial de IDGA (p51), (Tecpar®, Curitiba, Paraná, Brasil), utilizando-se ágar noble, com metodologia conduzida segundo as recomendações do fabricante. Os poços foram perfurados com roseta metálica constituída de sete perfuradores, sendo um poço central que é preenchido com antígeno, e seis periféricos para alocação dos soros controle e testes.

A interpretação dos testes foi baseada na observação da formação da linha de precipitação nítida entre o antígeno e o soro teste, classificando as amostras em positivas ou negativas. A amostra positiva apresentou linha de precipitação revelando continuidade com a linha formada pelo soro

padrão, ao contrário da amostra negativa em que não houve a formação da linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno. Mesmo uma linha fraca de formação foi considerada positiva.

Análise Estatística

Os resultados do levantamento soroepidemiológico foram submetidos ao teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher ao nível de significância de 5%. Foram calculados *odds ratio* para verificar a associação entre variáveis, com intervalo de confiança de 95%, através do software Epi Info versão 7 (CDC, Atlanta, Georgia, EUA).

Resultados

No teste de IDGA para a pesquisa de anticorpos contra o VLB, a população estudada apresentou uma Morbidade Prevalente de 7,24% (26/359) em 2013 e de 14,18% (56/395) em 2014 (Tabela 2). Quando foi avaliado a Morbidade Incidente, que são os casos novos/população em risco, observou-se uma relação de 8,13% (30/369), ou seja, para cada 100 animais, existem aproximadamente oito casos novos de LEB no período de 17 meses. Quando avaliada as chances dos animais tornarem-se positivos ao término do período estudado (um ano e cinco meses), verificou-se um aumento de 2,12 (IC: 1,30-3,46) vezes, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 - Resultados do teste de imunodifusão em ágar-gel para o diagnóstico da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina em uma propriedade de Arapoti - PR, durante os anos de 2013 e 2014.

Ano	Soropositivas	Soronegativas	Total	Morbidade	OR (IC95%)
				Prevalente da LEB	
2013	26	333	359	7,24%	
2014	56	339	395	14,18%	2,12 (1,30-3,46)

P=0,002; $\chi^2=9,33$

Ocasões avaliadas: 02/2013 e 07/2014, correspondendo a um intervalo de 17 meses.

A prevalência do VBL com o rebanho estratificado em faixas etárias (Figura 1) revelou uma variação de 1,6% a 18,4% para animais acima de 73 meses de idade em 2013. Pôde-se verificar também que os animais que possuíam uma maior idade (meses) tiveram uma maior incidência em relação à LEB, quando comparados aos animais mais jovens. Em 2014, também se observou um aumento progressivo da prevalência conforme a idade dos animais, atingindo 44% entre os animais de 49 a 60 meses (Figura 1).

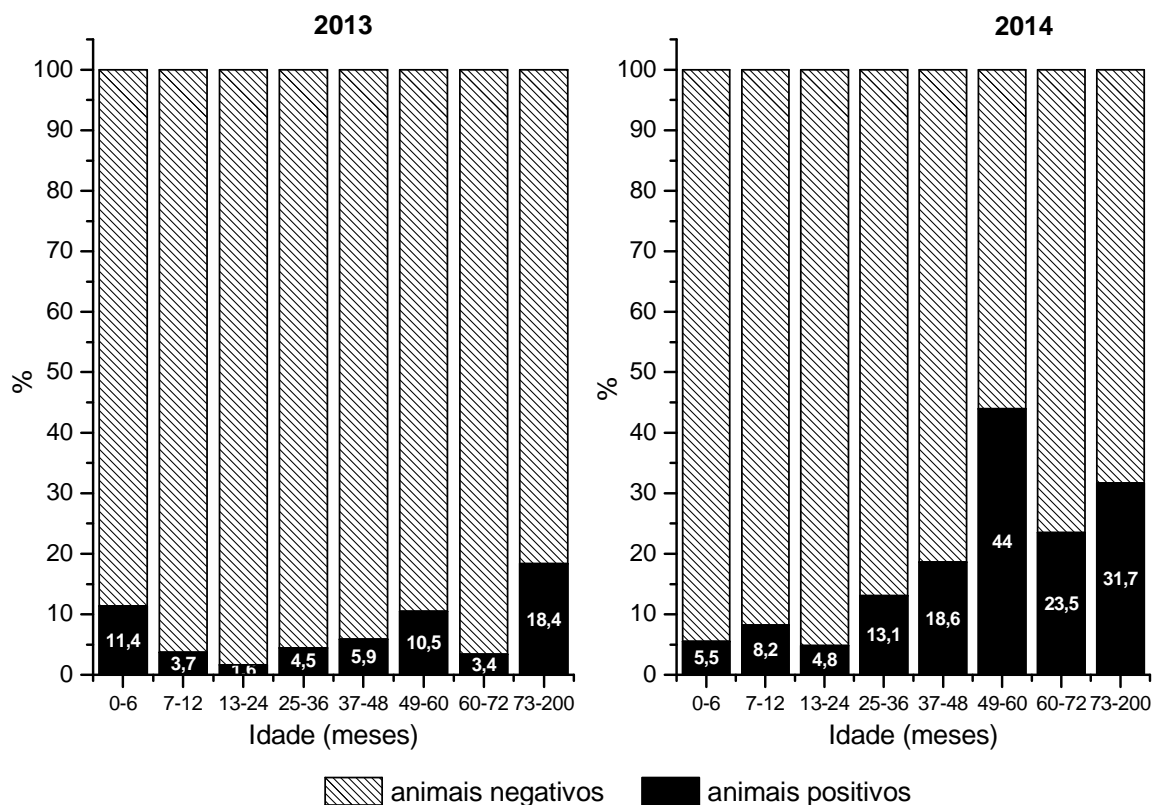


Figura 1 – Representação gráfica da evolução da soroprevalência de leucose enzoótica bovina (%) em um rebanho leiteiro de Arapoti - PR, em diferentes faixas etárias, durante os anos de 2013 e 2014.

A relação entre os casos soropositivos de LEB durante o período de estudo para todo o rebanho está demonstrada na Figura 2.

Tanto em 2013 quanto em 2014, observou-se que o aumento da incidência da doença esteve associado com o envelhecimento dos animais. O avanço da doença no rebanho ocorreu principalmente no período após o primeiro parto, que normalmente acontece após o 24º mês de vida do animal (Figura 2).

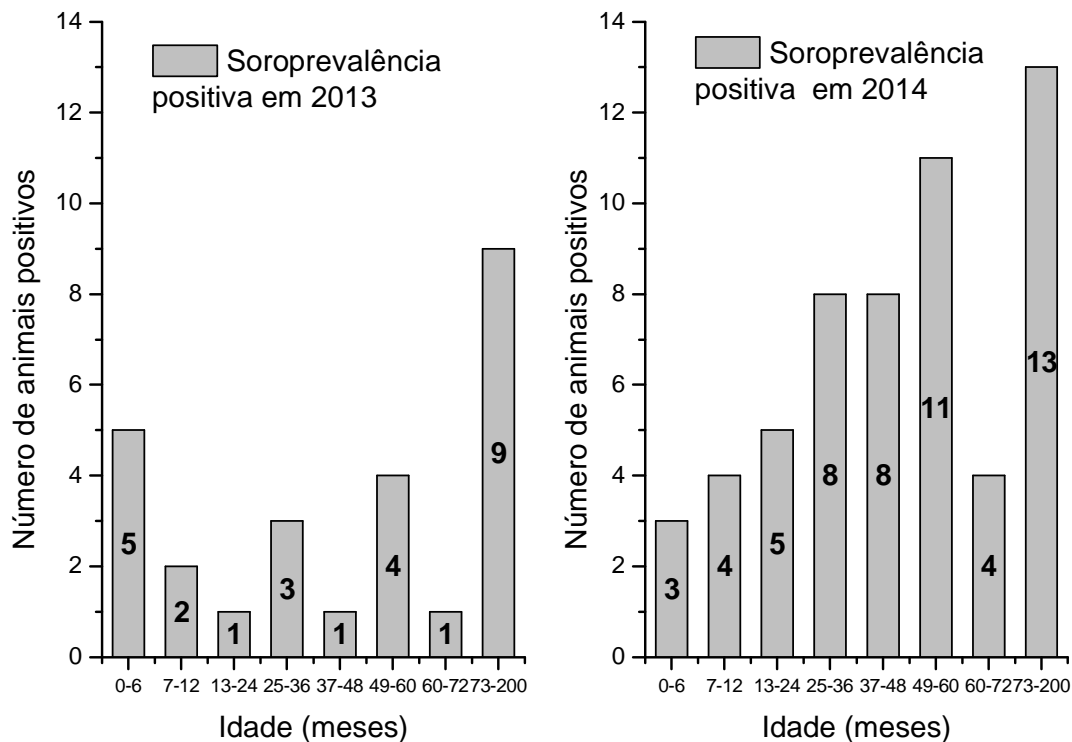


Figura 2 – Representação gráfica da morbidade incidente dos animais em números absolutos para os casos positivos o vírus da leucose bovina em um rebanho leiteiro de Arapoti - PR, em diferentes faixas etárias, durante os anos de 2013 e 2014.

Discussão

A soroprevalência de LEB em 2013 na propriedade estudada foi de 7,24%, enquanto que em 2014 os casos de soropositivos aumentaram atingindo 14,18%, representando um aumento de 95% em um período de 17 meses. Em pesquisa semelhante Meirelles et al. (2009) descrevem que houve um aumento entre 2003 e 2006 de 35,29%. Similarmente entre os anos de 1992, 1993, 1994 e 1995, Samara, Lima e Nascimento (1997) apresentaram uma ocorrência de 17,2%, 20,5%, 33,3% e 50,4%, respectivamente, sendo que no período de 24 meses, entre os anos de 1992 e 1994 o aumento foi de 93,6%.

Assim como no presente estudo, pesquisas realizadas em um mesmo rebanho em diferentes anos mostraram o aumento do número de novos casos. Segundo Del Fava e Pituco (2004), o desconhecimento sobre formas de controle da enfermidade contribui significativamente para o

aumento de animais infectados. Apesar de o proprietário ter sido informado das vias de transmissão e infecção e das medidas preventivas a serem adotadas para o controle da doença, os resultados apurados durante os 17 meses indicam que não houve controle de propagação do vírus, sugerindo que o proprietário não aderiu as recomendações, provavelmente devido ao caráter silencioso da doença.

De acordo com Shettigara, Samagh e Lobinowich (1986), as taxas de prevalência são consideradas baixas quando se situam até 10%, média entre 11 e 30% e são considerados altas, acima de 30%. Desta forma, em 2013 as taxas verificadas na presente pesquisa seriam consideradas baixas, porém em 2014 já seriam consideradas de média ocorrência.

Entretanto, em outras pesquisas realizadas em diferentes regiões e propriedades do Paraná, Kantek, Kruger e Welte (1983), Leuzzi Junior et al. (2003) e Barros Filho et al. (2010) encontraram prevalências para a LEB similares ou até mesmo superiores ao resultado desse estudo, com 20,7%, 40,7% e 56,34%, respectivamente. Em levantamento recente, Rocha et al. (2014), entre os anos de 2007 a 2011, registraram uma prevalência de 16,64% no sudoeste paranaense.

Os resultados obtidos nessa pesquisa têm baixa prevalência do VLB em animais jovens e a crescente evolução da doença em animais adultos. Johnson e Kaneene (1991) também mostraram que a prevalência e a incidência dessa infecção normalmente são menores em animais jovens decorrente da provável baixa infecção pela via vertical. Esses autores indicaram que a incidência e a prevalência da LEB aumentam significativamente a partir de 16 a 24 meses de idade. Segundo Leuzzi Júnior et al. (2003) os animais do rebanho leiteiro com idade superior a 2 anos, apresentaram risco de infecção de 2,7 vezes maior que animais com idades inferiores. Essa informação também é compartilhada por vários autores como: Leite et al. (1984), Carvalho et al. (1996), Oliveira et al. (1997), Camargos et al. (2002) e corroborado por Barros Filho et al. (2010) que salientam o aspecto crônico da doença. A crescente ocorrência da doença observada nos animais acima de 24 meses pode ser explicada pela mudança e intensificação do manejo após o primeiro parto do animal, aliado ao aumento da exposição ao agente infectante ocasionado principalmente pela via iatrogênica de transmissão.

O aumento observado entre os anos de 2013 para 2014 pode ser explicado por práticas inadequadas de manejo do rebanho como a reutilização de luvas obstétricas e o compartilhamento de agulhas. Santos et al. (2011) descrevem que o risco de transmissão do VLB é de 1,26 e 1,76 vezes

maior quando são reutilizadas agulhas e luvas obstétricas, respectivamente. De acordo com as informações contidas no questionário epidemiológico observou-se que não havia troca de luvas obstétricas tanto nas utilizadas para a realização da inseminação artificial quanto para o diagnóstico gestacional através da palpação transretal ou mesmo com o uso da probe do aparelho de ultrassonografia. Anteriormente a Santos et al. (2011), Henry, Levine e Coggins (1987) e Kohara, Konnai e Onuma (2006) já haviam descrito a transmissão iatrogênica através das luvas de palpação.

O manejo intensivo adotado na propriedade aliado ao adensamento do número de animais proporcionado pela adoção sistema de confinamento *free stall*, podem também ter contribuído para o aumento da infecção entre os anos de 2013 e 2014, como relatam também Yuji et al. (1983) e Kobayashi et al. (2010).

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que houve um aumento significativo de animais soropositivos do ano de 2013 para o ano de 2014. O aumento da morbidade incidente e morbidade prevalente relatam a falta de um manejo sanitário voltado à área reprodutiva, cujo problema pode ser contornado caso as práticas invasivas fossem realizadas primeiramente nos animais negativos e posteriormente nos positivos

Referências

Barros Filho, I.R., Guimarães, A.K., Sponchiado, D., Kruger, E.R., Wammes, E.V. Ollhoff, R.D., Dornbusch, P.T. and Biondo, A.W., 2010. Soroprevalência de anticorpos para o vírus de Leucose enzoótica em bovinos criados na região metropolitana de Curitiba, Paraná. Arquivos do Instituto Biológico, 77 (3), 511-515.

Bartlett, P.C., Norby, B., Byrem, T.M., Parmelee, A., Ledergerber, J.T. and Erkin, R.J., 2013. Bovine leukemia virus and cow longevity in Michigan dairy herds. Journal of Dairy Science, 96, 1591–1597.

Birgel Junior E. H., Dias W. M. C., Souza R. M., Pogliani F. C., Birgel D. B., Birgel E. H., 2006. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em animais da raça simental, criados no estado de São Paulo. Ars Veterinária, 22 (2), 122-129.

Burny, A, Cleuter, Y, Kettmann, R, Mammerickx, M, Marbaix, G, Portetelle, D, Van Den Broeke, A, Willems, L and Thomas, R. 1987. Bovine leukaemia: facts and hypothesis derived from the study of an infectious cancer. *Cancer Surv*, 6, 139–159.

Camargos, M.F., Melo, C.B., Leite, R.C., Stancek, D., Lobato, Z.I.P., Rocha, M.A., Souza, G.N. and Reis, J.K.P. 2002. Frequência de soropositividade para Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos de Minas Gerais. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, 5, 20-26.

Carneiro, P.A.M., Araújo, P.W., Birgel, E.H. and Sousa, K.W., 2003. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado do Amazonas. *Acta Amazônia*, 33, 111-125.

Carvalho, L., Benesi, F.J., Birgel Junior, E.H. and Birgel, E.H., 1996. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Holandesa Preto e Branco e zebrúinos da raça Nelore, criados no pólo regional de Londrina, Estado do Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, 17, 53-57.

Cockerell, G.L. and Reyes, R.A., 2000. Bovine Leukemia Virus-Associated Lymphoproliferative Disorders. In: O.W. Schalm, B.F. Feldman, J.G. Zinkl and N.C. Jain, *Schalm's veterinary hematology*. 5^a ed. Lippincott: Williams, 614-619.

Cordeiro, J.L.F., Deschamps, F.C., Martins, E. and Martins, V.M.V., 1994. Identificação e controle da leucose Enzoótica Bovina (LEB) em um rebanho leiteiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 29 (8), 1287-1292.

Da, Y., Shanks, R.D., Stewart, J. and Levin, H.A., 1993. Milk and fat yields decline in bovine leukemia virus infected holstein cattle with persistent lymphocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90 (14), 147-161.

Del Fava, C. and Pituco, E.M., 2003. Infecção pelo vírus da Leucemia Bovina (BLV) no Brasil. *O Biológico*, 65 (1), 3-10.

Fernandes, C.H.C., Melo, L.E.H., Tenório, T.G.S., Mendes, E.I., Fernandes, A.C. C., Ramalho, T.R.R., Moura-Sobrinho, P.A. and Mota, R.A., 2009. Soroprevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da Leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros da região norte do estado do Tocantins, BR. *Arquivo do Instituto Biológico*, 76 (3), 327-334.

Garcia, M.; Bastos, P.A.; Barros Filho, I.R., Libera, A.M.M.P.D., Coutinho, S.D.A., Ramos, M.C.C., Lourenço, A. and Silva, M.M., 1995. Efeito da infecção pelo vírus da leucose na ocorrência de mastite em bovinos. *A Hora Veterinária*, 15 (88), 41-44.

Henry, E.T, Levine, J.F. and Coggins, L., 1987. Rectal transmission of bovine leukemia virus in cattle and sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 48, 634-636.

Holanda Junior, F.I. and Campos, R.T. 2003. Análise técnico-econômica da pecuária leiteira no Município de Quixeramobim - Estado do Ceará. *Revista Econômica do Nordeste*, 34 (4), 621-646.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa da pecuária municipal 2013. 2013. ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2013/ppm2013.pdf.

Accessed 30 Jan 2014.

Johnson, R. and Kaneene, J.B., 1991. Bovine Leukemia Virus: Part II. Risk factors of transmission. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 13 (4), 681-691.

Johnson, R. and Kaneene, J.B., 1992. Bovine Leukemia Virus and Enzootic Bovine Leukosis. *Veterinary Bulletin*, 62 (4), 287-311.

Juliano, R.S., Fioravanti, M.C.S., Elsner, W.M., Brito D., Abreu, U.G.P. and Souza, S.N., 2014. Soroepidemiologia da leucemia bovina (LEB) em bovinos curraleiros dos estados de Goiás e

Tocantins, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 15 (3), 289-295.

Kantek, C.E., Kruger, E.R. and Welte, V.R., 1983. Prevalência do Vírus da Leucose Enzoótica Bovina no Rebanho do Estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 2 (3), 125-129.

Kobayashi, S., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Kameyama, K., Konish, M. and Murakami, K., 2010. Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan. *BMC Veterinary Research*, 6, 1-6.

Kohara, J., Konnai, S. and Onuma, M., 2006. Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 54 (1), 25-30.

Leite, R.C., Moreira, E.C., Modena, C.M. and Abreu, J.J., 1984. Evolução clínica da leucose enzoótica bovina. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 36 (1), 47-47.

Leuzzi Junior, L.A., Guimarães Junior, J.S., Freire, R.L., Alfieri, A.F. and Alfieri, A.A., 2003. Influência da idade e do tamanho do rebanho na soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos produtores de leite tipo B, na região de Londrina do estado do Paraná. *Revista Brasileira de Ciências Veterinária*, 10 (2), 93-98.

Meirelles, C., Dittrich, T., Cipriano, F. and Ollhoff, R.D., 2009. Evolução da soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em um rebanho bovino leiteiro universitário. *Semina: Ciências Agrárias*, 30 (3), 671-678.

Miller, J.M. and Van Der Matten, M J., 1976. Sorologic detection of Bovine Leukemia Virus infection. *Veterinary Microbiology*, 31, 47-55.

Modena, C.M., Abreu, V.L.V., Silva, J.A., Moreira, E.C., Azevedo, N.A. and Rehfeld, O.A.M., 1983. Ocorrência de infecção pelo vírus da Leucose Enzoótica Bovina em Animais Importados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 35 (4), 565-573.

Molnár, L., Molnár, E., Santos, A.M., Corôa, A.C. and Túry, E., 1999. Leucose em bovinos jovens; dados epidemiológicos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 20 (3), 7-11.

Monti, G.E., Schrijver, R. and Beier, D., 2005. Genetic diversity and spread of bovine leukaemia virus isolates in Argentine dairy cattle. *Archives of Virology*, 150, 443–458.

Oliveira, A.R., Barreto, C.S.F., Merichello, D. and Sanquentin, W.M., 1997. Epidemiologia da Leucose Bovina: ocorrência de anticorpos em várias faixas etárias. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 19 (6), 258-262.

Rocha, J.F.X., Aires, A.R., Rocha, R.X., Amaral, C., Carpes, J.L.S., Galvão, A. and Leal, M.L., 2014. Soroprevalência do vírus da leucose enzoótica bovina em rebanhos da região sudoeste do estado do Paraná, Brasil. *Revista Agrocientífica*, 1 (1), 17-22.

Samara, S.I., Lima, E.G. and Nascimento, A.A., 1997. Monitoração da leucose enzoótica bovina no gado leiteiro da região de Pitangueiras (SP). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 34 (6), 349-351.

Santos, H.P., Pereira, H.M., Nascimento, S.A., Coutinho, L.C.A., Teixeira, W.C., Arruda, R.C.N., Bezerra, N.P.C., Bezerra, D.C. and Castro, R.S. 2011. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à leucose enzoótica bovina em rebanhos da bacia leiteira do Estado do Maranhão. *Arquivos do Instituto Biológico*, 78 (3), 351-358.

Shettigara, P.T., Samagh, B.S. and Lobinowich, E.M. 1986. Eradication of bovine leukemia virus infection in commercial dairy herds using the agar gel immunodiffusion test. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 50 (2), 221-226.

Thurmond, M.C., 1987. Economics of enzootic bovine leukosis. In: A. Burny and M. Mammerickx (ed.). *Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia Virus*. Martinus Nijhoff Publishing, Boston. 71-84.

Trainin, Z., Brenner, J., Meiom, R. and Ungar-Waron, H., 1996. Detrimental effect of bovine leukemia virus (BLV) on the immunological state of cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 54 (1-4), 293-302.

USDA. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. 2014. <http://apps.fas.usda.gov/psdonline>. Accessed 04 Jan 2014.

Yuji, K., Sentsui, H., Keigo, A., Ishida, H. and Irishio, W., 1983. Contact transmission of bovine leukemia virus under insect-free conditions. *Japanese journal of veterinary science*, 45, 799-802.

CONCLUSÃO GERAL

A partir da análise dos resultados obtidos e da amostragem constituída por 359 animais no ano de 2013 e 395 animais no ano de 2014 da propriedade estudada em Arapoti, Paraná pode-se concluir que:

- Houve um aumento significativo na morbidade prevalente nos anos de 2013 e 2014 na propriedade avaliada.

- A morbidade incidente no rebanho, da raça Holandesa, avaliado durante os 17 meses de pesquisa teve um aumento de 95% de animais reagentes. Para o VBL

- Observou uma maior morbidade prevalente da infecção pelo VLB, nos animais com idade superior a 25 meses.

- A morbidade incidente foi de 8,13%, o que indica que os responsáveis pelos animais mesmo tendo o conhecimento da presença da LEB no rebanho, não realizaram nenhum método de controle ou prevenção da doença na propriedade.

- Apesar da LEB ser uma doença predominantemente subclínica, medidas profiláticas são necessárias, como a conscientização dos produtores, evitando-se assim, as elevadas perdas econômicas.

- Para a erradicação da doença na propriedade sem o descarte de todos os animais positivos é necessário a segregação dos animais infectados, além de cuidados de manejo para evitar a forma iatrogênica de transmissão, principalmente com a reutilização de agulhas e luvas obstétricas.

- Deve-se atentar para a realização de exames de tuberculinização nos rebanhos com animais positivos para LEB, tendo em vista que a pistola de tuberculinização pode ser um meio iatrogênico de transmissão da infecção.

REFERÊNCIAS

- ABREU, V. L. V.; SILVA, J. A.; MODENA, C. M.; MOREIRA, E. C. Prevalência da Leucose Enzoótica Bovina nos Estados de Rondônia e Acre. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, v.42, n. 3, p. 203-210. 1990.
- ABREU, J. M. G.; ARAUJO, W. P.; BIRGEL, E. H. Prevalência de Anticorpos Séricos anti-vírus da Leucose Bovina em animais criados na bacia leiteira de Fortaleza, Estado do Ceará. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia** v. 17, n.1, p. 67-90. 1994.
- ACAITE, J.; TAMOSIUNAS, V.; LUKAUSKAS, K.; MILIUS, J.; PIESKUS, J. The eradication experience of enzootic bovine leukosis from Lithuania. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 82, p. 83–89. 2007.
- ALFONSO, R.; ALMANSA, J.; BARREIRA, E. Sorological prevalence and evolution of the risk factors of bovine leukosis in the Bogotá savannah and the Ubaté and Chiquinquirá Valleys, Colômbia. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v.17, n. 3, p. 723-732. 1998.
- AMORIL, J. G. **Leucose enzoótica bovina: epidemiologia e diagnóstico em animais abatidos no Estado de Goiás**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – Medicina Veterinária Preventiva) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005, 161p.
- AZEVEDO, M. R. **Influência da leucose enzoótica bovina na atividade oxidativa de leucócitos**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2007, 150p.
- BARROS FILHO, I. R.; GUIMARÃES, A. K.; SPONCHIADO, D.; KRÜGER, E. R.; WAMMES, E. V.; OLLHOFF, R. D.; DORNBUSCH, P. T.; BIONDO, A. W. Soroprevalência de anticorpos para o vírus de Leucose enzoótica em bovinos criados na região metropolitana de Curitiba, Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 511-515, jul./set., 2010.
- BARTLETT, P. C.; NORBY, B.; BYREM, T. M.; PARMELEE, A.; LEDERGERBER, J. T.; ERKINE, R. J. Bovine leukemia virus and cow longevity in Michigan dairy herds. **Journal of Dairy Science**; v. 96, p. 1591-1597. 2013.
- BEIER, D.; RIEBE, R.; BLANKENSTEIN, P.; STARICK, E.; BONDZIO, A.; MARQUARDT, O. Establishment of a new bovine leucosis virus producing cell line. **Journal of Virological Methods**, 121, 239–246. 2004.
- BENAVIDES, B. B.; QUEVEDO, D. A. C.; DE LA CRUZ, M. F. S. Epidemiological study of bovine leukemia virus in dairy cows in six herds in the municipality of Pasto, Nariño. **Revista Lasallista de Investigación**, v. 10, n. 1, p. 18-26. 2013.

BIRGEL, E.H.; BENESI, F.J.; D'ANGELINO, J.L.; AYRES, M.C.C.; COSTA, J.N.; BARROS FILHO, I.R.; BIRGEL JUNIOR, E.H. Prevalência da Leucose Enzoótica dos Bovinos em zebuínos da raça Nelore, criados no Estado de São Paulo. **Arquivo da Escola Medicina Veterinária Universidade Federal da Bahia**, Salvador, v.17, n.1, p. 55-56, 1994.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; DIAS, W. M. C.; SOUZA, R. M.; POGLIANI, F. C.; BIRGEL, D. B.; BIRGEL, E. H. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Simental, criados no estado de São Paulo. **ARS Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 122-129. 2006.

BIRGEL, E. H. Leucose Enzoótica dos bovinos adultos: aspectos clínicos e diagnóstico. In: BIRGEL, E. H; BENESI, E. J. **Patologia clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 249-260.

BRAGA, F. M.; VAN DER LAAN, C. W.; Leucose Esporádica Bovina. IN: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M.; LEMOS, R. A. A. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 1ª Ed. São Paulo- SP Varela Editora e Livraria, 2001. p. 134 -135.

BRAGA, F. M.; VAN DER LAAN, C. W.; SCHUCH, L. F.; HALFEN, D. C. Infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV). **Ciência Rural**, v. 28, n. 1, p. 163-172. 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano mais pecuária / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Assessoria de Gestão Estratégica. – Brasília: MAPA/ACS, 2014. 32p.

BRENNER, J.; MEIRON, R.; AVRAHAM, R.; TRAININ, Z.; SAVIR, D. Prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infectivity in some Israeli dairy herds. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 9, n. 1, p. 11-15. 1986.

BRENNER, J.; ROSENTHAL, I.; BERNSTEIN, S.; TRAININ, Z. The fat content of milk from dairy cattle infected with bovine leukosis virus. **Veterinary Research Communications**, v. 14, p. 167-171. 1990.

BRUNEL, E. M.; MENDONÇA, N. Y. B.; COLMAN, O. L. R.; BULMAN, G. M. Leukosis enzoótica bovina. Taxa de prevalência en la provincial de Formosa (República Argentina) mediante la prueba de inmunodifusion en gel de agar com antígeno glicoprotéico. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 62, n. 6, p. 486-490. 1981.

BURKI, F. Experiences gained and progress achieved with BLV bovine leucosis virus elimination from Austria livestock In: International Symposium On Bovine Leukosis, 1980, Bologna. **Proceedings of International Symposium On Bovine Leukosis**, 1982. p. 516-528.

BURNY, A. Bovine leukemia: facts and hypotheses derived from the study of an infectious cancer. **Veterinary Microbiology**, v. 17, p. 197-218. 1988.

BURNY, A.; CLEUTER, Y.; KETTMANN, R.; MAMMERICKX, M.; MARBAIX, G.; PORTETELLE, D.; VAN DEN BROEKE, A.; WILLEMS, L.; THOMAS, R. Bovine leukaemia: facts and hypothesis derived from the study of an infectious cancer. **Cancer Surv**, v. 6, p.139–159. 1987.

CAMARGOS, M. F.; MELO, C. B.; LEITE, R. C.; STANCEK, D.; LOBATO, Z. I. P.; ROCHA, M. A.; SOUZA, G. N.; REIS, J. K. P. Freqüência de soropositividade para Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos de Minas Gerais. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 5, p. 20-26. 2002.

CARNEIRO, P. A. M.; ARAÚJO, P. W.; BIRGEL, E. H.; SOUSA, K. W. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado do Amazonas. **Acta Amazônia**, v. 33, p. 111-125. 2003.

CARVALHO, L.; BENESI, F. J.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; BIRGEL, E. H. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Holandesa Preto e Branco e zebuínos da raça Nelore, criados no pólo regional de Londrina, Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 17, p. 53-57. 1996.

CHASEY, D.; WIBBERLEY, G.; MARKSON, L. M.; ROBERTS, D. H. Diagnosis of bovine leukosis in Great Britain. **Annales de Recherches Veterinaires**, v. 9, n. 4, p. 777. 1978.

COCKERELL, G. L.; REYES, R. A. Bovine Leukemia Virus-Associated Lymphoproliferative Disorders. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Lippincott: Williams & Willians, 2000. p. 614-619.

CORDEIRO, J. L. F.; DESCHAMPS, F. C.; MARTINS, E.; MARTINS, V. M. V. Identificação e controle da leucose Enzoótica Bovina (LEB) em um rebanho leiteiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 8, p. 1287-1292. 1994.

COSTA-DURÃO, J. Bovine leucosis in Portugal. **Annales de Recherches Veterinaires**, v. 9, n. 4, p. 779. 1978.

D'ANGELINO J. L.; GARCIA M; BIRGEL E. H. Productive and reproductive performance in cattle infected with bovine leukosis virus. **Journal of Dairy Research**, v. 65, p. 693-695. 1998.

DA, Y.; SHANKS, R. D.; STEWART, J.; LEVIN, H. A. Milk and fat yields decline in bovine leukemia virus infected holstein cattle with persistent lymphocytosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, n. 14, p. 147-161. 1993.

DAFF. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. **EBL dairy eradication program**. 2013. Disponível em: <<https://www.daff.qld.gov.au/animal-industries/animal-health-and-diseases/animal-disease-control/enzootic-bovine-leucosis-eb/eb-dairy-eradication-program>>. Acesso em: 02 dez. 2014.

DEBACQ, C.; ASQUITH, B.; KERKHOFS, P.; PORTETELLE, D.; BURNY, A.; KETTMANN, R.; WILLEMS, L. Increased cell proliferation, but not reduced cell death, induces lymphocytosis in bovine leukemia virus -infected sheep. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 15, p. 10048-10053. 2002.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M. Infecção pelo vírus da Leucemia Bovina (BLV) no Brasil. **O Biológico**, v. 65, n. 1, p. 3-10. 2003.

DIGIACOMO, R. The epidemiology and control of Bovine Leukemia Virus. **Veterinary Medicine**, v. 87, p. 248-257. 1992.

DIMITRÍADES, I. A.; ARTAVANIS, S. Seroepidemiological study of bovine leukemia virus infection in Greece (Peloponnisos) In: International Syposium Of Bovine Leukosis, Tubingen, 1982. **Proceedings of International Syposium Of Bovine Leukosis Tubingen**: Commission of the European Communities, 1984. p. 351-354.

DIMMOCK, C. H.; CHUNG, Y. S.; MACKENZIE, A. R. Factors affecting the natural transmission of bovine leukemia virus infection in Queensland dairy herds. **Australian Veterinary Journal, Brunswick**, v. 68, n. 7, p. 230-233. 1991.

DINIZ, J. M. F.; BARONI, J. M.; FERNANDES, B. F.; MARTINS, D. M. Leucose bovina no estado do Paraná. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, v. 2, p. 33-38. 1980.

DUCREAUK, F.; ARRIETA, E.; JIMENEZ, C.; MORENO, E.; RODRIGUEZ, L. Estudina sobre leucosis viral bovine ert Ganado *Bos indicos* en Costa Rica. **Ciências Veterinárias**, v. 9, n. 2, p. 95-99. 1987.

FERNANDES, C. H. C.; MELO, L. E. H.; TENÓRIO, T. G. S.; MENDES, E. I.; FERNANDES, A. C. C.; RAMALHO, T. R. R.; MOURA-SOBRINHO, P. A.; MOTA, R. A. Soroprevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da Leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros da região norte do estado do Tocantins, BR. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 76, n. 3, p. 327-334. 2009.

FERRER, J. F.; MARSHAK, R. R.; ABT, D. S. Relationship between lymphosarcoma and persistent lymphocytosis in cattle. A review. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 175, p. 705-708. 1979.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; REBELATO, M.C. Aspectos epidemiológicos da infecção pelo vírus da Leucose Bovina (VLB) na região central do Rio Grande do Sul. **Hora Veterinária**, v. 10, n. 58, p. 35-29, 1990.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; OLIVEIRA, C.; KREUTZ, L. C. 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.

GARCIA, M.; BASTOS, P. A.; BARROS FILHO, I. R.; LIBERA, A. M. M. P. D.; COUTINHO, D. A. S.; RAMOS, M. C. C.; LOURENÇO, A.; SILVA, M. M. Efeito da

infecção pelo vírus da leucose na ocorrência de mastite em bovinos. **A Hora Veterinária**, v. 15, n. 88, p. 41-44. 1995.

GARCIA, M.; D'ANGELINO, J. L.; BIRGEL, E. H. Leucose Bovina no Brasil. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 15, n. 1, p. 31-39. 1991.

GARCIA, M. **Avaliação de leucograma de fêmeas bovinas da raça Holandesa Branca e Preta naturalmente infectada pelo vírus da leucose bovina**. Dissertação (Mestrado em Patologia Bovina) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989. 65 p.

GILLET, N.; FLORINS, A.; BOXUS, M.; BURTEAU, C.; NIGRO, A.; VANDERMEERS, F.; BALON, H.; BOUZAR, A. B.; DEFOICHE, J.; BURNY, A.; REICHERT, M.; KETTMANN, R.; WILLEMS, L. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel antiretroviral therapies in human. **Retrovirology**, v. 4, n. 18, p. 1-32. 2007.

HAGHPARAST, A.; TABATABAIEZADEH, E.; MOHAMMADI, G.; KORD, N. Prevalence of Bovine Leukemia Virus (BLV) antibodies in bulk tank Milk of dairy cattle herds of Mashhad area, North East of Iran. **Journal of Animal Advances**, v. 11, n. 2, p. 276-280. 2012.

HEINONEN, M.; ASSEFA, W. Some observations on bovine leucosis virus antibodies in Ethiopia. **Tropical Animal Health and Production**, v. 27, p. 225-226. 1995.

HOLANDA JUNIOR, F. I.; CAMPOS, R. T. Análise técnico-econômica da pecuária leiteira no Município de Quixeramobim - Estado do Ceará. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 34, n. 4, p. 621-646. 2003.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário**. 2006. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?z=t&o=22&i=P>>. Acesso em: 09 dez. 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da pecuária municipal 2013**. 2013. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2013/ppm2013.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2014.

JANK, M. S.; GALAN, V. B. Competitividade do Sistema Agroindustrial do Leite. In: **Programa de estudo dos negócios do sistema agroindustrial**. 1998. Disponível em <http://www.fundace.org.br/leite/arquivos/projetos_priorizados/elaboracao_competitividade_industrial/bibliot/vol_ii_Leite%20Competitividade_jank.pdf>. Acesso em: 09 dez. 2013.

JOHNSON, R.; KANEENE, J. B. Bovine Leukemia Virus and Enzootic Bovine Leukosis. **Veterinary Bulletin**, v. 62, n. 4, p. 287-311. 1992.

JOHNSON, R.; KANEENE, J. B. Bovine Leukemia Virus: Part II. Risk factors of transmission. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 13, n. 4, p. 681-691. 1991.

JULIANO, R. S.; FIORAVANTI, M. C. S.; ELSNER, W. M.; BRITO, D.; ABREU, U. G. P.; SOUZA, S. N. Soroepidemiologia da leucemia bovina (LEB) em bovinos curraleiros dos estados de Goiás e Tocantins, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, n. 3, p. 289-295. 2014.

KABEYA, H.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Host Immune Response in the Course of Bovine Leukemia Virus Infection. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 63, n. 7, p. 703-708. 2001.

KANTEK, C. E.; KRUGER, E. R.; WELTE, V. R. Prevalência do Vírus da Leucose Enzoótica Bovina no Rebanho do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2, n. 3, p. 125-129. 1983.

KAVANAGH, P. J. Bovine leucosis in Ireland. **Annales de Recherches Veterinaires**, v. 9, n. 4, p. 735-737. 1978.

LEITE, R. C.; MOREIRA, E. C.; MODENA, C. M.; ABREU, J. J. Evolução clínica da leucose enzoótica bovina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 47-47. 1984.

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

LEUZZI JUNIOR, L. A.; GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; FREIRE, R. L.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Influência da idade e do tamanho do rebanho na soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos produtores de leite tipo B, na região de Londrina do estado do Paraná. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 93-98. 2003.

LUDERS, M. A. **Prevalência de Anticorpos contra o Vírus da Leucose Enzoótica Bovina em fêmeas com mais de dois anos no Rebanho de Bovinos Leiteiros no Município de Mafra-SC.** Dissertação (Mestrado em Ciências Agroveterinária/Sanidade Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lajes, 2001. 30p.

MALMQUIST, W. A.; VAN DER MAATEN, M. J.; BOOTHE, A. D. Isolation, immunodiffusion, immunofluorescence and electron microscopy of a syncytial virus of lymphosarcomatous and apparently normal cattle. **Cancer Research**, v. 29, n. 2, p. 188-200. 1969.

MAMMERICKX, M.; CORMANN, A.; BURNY, A.; DEKEGEL, D.; PORTETELLE, D. Eradication of enzootic bovine leucosis based on the detection of the disease by the gp- 51 immunodiffusion test. **Annales de Recherches Veterinaires**, v. 9, n. 4, p. 885-894. 1978.

MARIN, C.; LOPEZ, N. M.; ALVAREZ, L.; LOZANO, O.; ESPANA, W.; CASTANOS, H.; LEON, A. Epidemiology of bovine leukemia in Venezuela. **Annales de Recherches Veterinaires**, v. 9, n.4, p. 743-746. 1978.

MATOS, P. F.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; BIRGEL, E. H. Leucose enzoótica dos bovinos: prevalência de anticorpos séricos em bovinos criados na Bahia e comparação entre resultados do teste de Elisa e da imunodifusão em gel de ágar. **Brazilian Journal of Veterinary Research the Animal Science**, v. 42, p. 171-180. 2005.

MEAS, S.; OHASHI, K.; TUM, S.; CHHIN, M.; TE, K.; MIURA, K.; SUGIMOTO, C.; ONUMA, M. Seroprevalence of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in draught animals in Cambodia. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 62, p. 779-781. 2000.

MEGID, J.; NOZAKI, C. N.; KURODA, R. B. S.; CRUZ, T. F.; LIMA, K. C. 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.

MELO, L. E. H. **Leucose Enzoótica dos Bovinos. Prevalência da infecção em rebanhos leiteiros criados no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco.** Dissertação (Mestrado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – Patologia Bovina. 1991. 102p.

MENDES, E. I. **Avaliação da intercorrência entre leucose enzoótica e tuberculose bovina em vacas leiteiras do Estado de Pernambuco.** Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 2009. 54p.

MILLER, J. M.; OLSON, C. Precipitating antibody to na internal antigen of the C type virus associated with bovine lymphosarcoma. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 49, n. 5, p. 1459-1462. 1972.

MILLER, J. M.; VAN DER MAATEN, M. J. Infectivity test of secretion excretions from cattle infected with bovine leukemia virus. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 62, p. 425-428. 1979.

MODENA, C. M. Leucose Enzoótica Bovina: I – comparação entre as técnicas de diagnóstico de imunodifusão em gel de agar e chave linfocitária 25 de Bendixen. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 12, p. 99-107. 1984.

MODENA, C. M.; ABREU, V. L. V.; SILVA, J. A.; MOREIRA, E. C.; AZEVEDO, N. A.; REHFELD, O. A. M. Ocorrência de infecção pelo vírus da Leucose Enzoótica Bovina em Animais Importados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 565-573. 1983.

MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E.; SANTOS, A. M.; CORÕA, A. C.; TÚRY, E. Leucose em bovinos jovens; dados epidemiológicos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 7-11. 1999.

MONTI, G. E.; SCHRIJVER, R.; BEIER, D. Genetic diversity and spread of bovine leukaemia virus isolates in Argentine dairy cattle. **Archives of Virology**, v. 150, p. 443–458. 2005.

MORAES, M. P.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F.; OLIVEIRA, J. C. D.; REBELATTO, M. C.; ZANINI, M.; RABUSKE M, HÜBNER SO, PEREIRA NM. 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.

MOUSAVI, S.; HAGHPARAST, A.; MOHAMMADI, G.; TABATABAEIZADEH, S.E. Prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection in the northeast of Iran. **Veterinary Research Forum.**; v. 5, n. 2, p. 135 – 139. 2014.

MURPHY, F. A.; GIBBS, E. P. J.; HORZINECK, M. C.; STUDDERT, M. J. **Veterinary Virology**. California: Academic Press, 3 ed., 1999. 4495p.

NAHMS-USDA. **Bovine Leukosis Virus on U.S. Dairy Operations**. 2007. Disponível em: http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_BLV.pdf>. Acesso em: 30 nov. 2014.

NUOTIO, L.; RUSANEN, H.; SIHVONEN, L.; NEUVONEN, E. Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, p.43-49, 2003.

OIE. Office International Epizooties. **World organization for animal health. Terrestrial Manual. Enzootic Bovine Leukosis**. 2012. 11p.

OLSON, C.; MILLER, J. M. History and terminology of enzootic bovine leukosis. In: BURNY, A.; MAMMERICKX, M. (Ed.). **Enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus**. Boston: Martinus Nijhoff, 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.

OTT, S. L.; JOHNSON, R.; WELLS, S. L. Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 61, p. 249-262. 2003.

PARODI, A. L. Pathology of enzootic bovine leukosis: comparision with the sporadic form. In: BURNY, A.; MAMMERICKX, M. (Ed.). **Enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus**. Boston: Martinus Nijhoff, 1987. p. 15-49.

PITUCO, E. M.; OKUDA, L. H.; ROSA, F. A.; STEFANO, E.; DEL FAVA, C.; GREGORY, L. Aspectos sanitários da Leucose Enzoótica Bovina em reprodutores de Centrais de Inseminação Artificial do Brasil. In: Congresso Brasileiro De Buiatria, 4, 2001, Campo Grande. **Anais do Congresso Brasileiro De Buiatria**. Campo Grande: Sociedade Brasileira de Buiatria, 2001.

POLLARI, F. L.; WANGSUPHACHART, V. L.; DI GIACOMO, R. F.; EVERMANN, J. F. Effect of bovine leukemia virus infection on production and reproduction in dairy cattle. **Canadian Journal Veterinary Research**, v. 56, p. 289-295. 1992.

PORTETELLE, D.; BRUCK, C.; BURNY, A.; DEKEGEL, D.; MAMMERICKX, M.; URBAIN, J. Detection of complement dependent lytic antibodies in sera from bovine leukemia virus infected animals. **Annales de Recherches Veterinaires**, v. 9, p. 667-674. 1978.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10 ed, Saunders Ltd. 2007. 2065p.

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

RANGEL, N. M.; MACHADO, A. V. Contribuição à oncologia comparada em Minas Gerais. **Arquivos da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais**, v. 1, p. 84-96. 1943.

RAVAZZOLO, A. P.; COSTA, U. M. Retroviridae. In: FLORES, E. F. (org). **Virologia Veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 2ª ed. Santa Maria. Editora da UFSM, 2012. p. 955-985.

REINHARDT, G.; HOCHSTEIN-MINTZET, V.; RIEDEMANN, S.; LEAL, H.; NIEDDA, M. Estudio sorológico de leucosis enzootica bovina en un predio de la provincia de Valdivia y su relacion a parâmetros productivos y reproductivos. **Journal Veterinary Medicine B**, v. 35, p. 178-185. 1988.

ROCHA, J. F. X.; AIRES, A. R.; ROCHA, R. X.; AMARAL, C.; CARPES, J. L. S.; GALVÃO, A.; LEAL, M. L. Soroprevalência do vírus da leucose enzoótica bovina em rebanhos da região sudoeste do estado do Paraná, Brasil. **Revista Agrocientífica**, v. 1, n. 1, p. 17-22. 2014.

RODRÍGUEZ, S. M.; FLORINS, A.; GILLET, N.; BROGNIEZ, A.; SÁNCHEZ-LCARAZ, M. T.; BOXUS, M.; BOULANGER, F.; GUTIÉRREZ, G.; TRONO, K.; ALVAREZ, I.; VAGNONI, L.; WILLEMS, L. Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV. **Viruses**, v. 3, p. 1210-1248. 2011.

ROMERO, C. H.; ROWE, C. A. Enzootic bovine leukemia virus in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 13, n. 2, p. 107-111. 1981.

RUTILI, D.; SEVERINI, M.; RAMPICHINI, L.; TITOLI, F. Epidemiologic study on enzootic bovine leukemia in Italy. **Annales de Recherches Veterinaires**, v. 9, n. 4, p. 761-764. 1978.

SANDEV, N.; ILIEVA, D.; SIZOV, I.; RUSENOVA, N.; ILIEV, E. Prevalence of enzootic leukosis in the Republic of Bulgaria in 1997-2004. **Veterinarski Arhiv**, v. 73, n. 3, p. 263-268. 2006.

SANTOS, H. **Leucose enzoótica bovina: estudo epidemiológico na bacia leiteira do estado do Maranhão e aperfeiçoamento do diagnóstico**. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2010. 87p.

SCHWARTZ, I.; LÉVY, D. Pathobiology of Bovine Leukemia Virus. **Veterinary Research**, v. 25, n. 6, p. 521-536. 1994.

SCHWARTZ-CORNIL, I.; CHEVALLIER, N.; BELLOC, C.; RHUN, D.; LAINÉ, V.; BERTHELEMY, M.; MATEO, A.; LEVY, D. Bovine Leukaemia virus-induced lymphocytosis in sheep is associated with reduction of spontaneous B cell apoptosis. **Journal of General Virology**, v. 78, p. 153-162. 1997.

SILVA, R. C.; FONTANA, I.; MEIRELLES, F. C.; RUGGIERO, A. P. M.; BENATO, N.; BORGES, J. R. J. Ocorrência de leucose enzoótica bovina na forma de linfossarcomas no distrito federal: relato de caso. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 4, p. 507-512. 2008.

SILVA, S. V. **Leucose Enzoótica dos Bovinos. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da Leucose dos Bovinos em rebanhos cruzados – holandês/zebu e em animais da raça Pé-duro, criados no Estado do Piauí**. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 2001. 176p.

SIMÕES, S. V. D. **Leucose Enzoótica dos Bovinos. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da Leucose dos Bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado da Paraíba**. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 1998. 118p.

SORENSEN, D. K. Bovine lymphocytic leukemia. Epidemiologic studies. In: **Conference on Comparative Study Leukemias**. Philadelphia (USA), n. 26, 1961.

SUH, G. H.; LEE, J. C.; LEE, C. Y.; HUR, T. Y.; SON, D. S.; AHN, B. S.; KIM, N. C.; LEE, C. G. Establishment of a bovine leukemia virus-free dairy herd in Korea. **Journal of Veterinary Science**, v. 6, p. 227-230. 2005.

SUZAN, V. M.; ONUMA, M.; AGUILLAR, R. C.; MURAKAMI, Y. Prevalence bovine herpes virus -1, parainfluenza -3, bovine rotavirus, bovine viral diarrhea, bovine adenovirus-7, bovine leukemia virus and bluetongue virus antibodies in cattle in Mexico. **Japanese Journal Veterinary Research**, v. 31, n. 4, p. 125-132. 1983.

SUZUKI, T.; IKEDA, K. The mouse homolog of bovine leukemia virus receptor is closely related to the α subunit of the adapter-related protein complex AP-3, not associated with the cell surface. **Journal Virology**, v. 72, p. 593-599. 1998.

TAKAHASHI, M.; TAJIMA, S.; OKADA, K.; DAVIS, W. C.; AIDA, Y. Involvement of bovine leukemia virus in induction and inhibition of apoptosis. **Microbes and Infection**, v. 7, p. 19-28. 2005.

TÁVORA, J. P. F.; BIRGEL, E. H. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose bovina em rebanhos leiteiros criados na região de Pólo Itabuna, Estado da Bahia. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, v. 14, n. 1, p. 164-83. 1991.

TEKES, L.; MATE, Z.; RUSKA, G. Serological survey of the distribution of leucosis in different cattle breeds in Húgria. **Magyar Allatorvosok Lapja**, v. 39, p. 202-204. 1984.

THURMOND, M. C. Economics of enzootic bovine leukosis. In: BURNY, A.; MAMMERICKX, M (Ed.). **Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia Virus**. Martinus Nijhoff Publishing, Boston. 1987. p. 71-84.

TRONO, K. G.; PEREZ-FILGUEIRA, D. M.; DUFFY, S.; BORCA, M. V.; CARRILLO, C. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: Comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. **Veterinary Microbiology**, v. 83, p. 235–248. 2001.

USDA. **USDA Foreign Agricultural Service**. 2014. Disponível em <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline>>. Acesso em: 04 jan. 2014.

USUI, T.; MEAS, S.; KONNAI, S.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Seroprevalence of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in dairy and beef cattle in Hokkaido. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 65, n. 2, p. 287-289. 2003.

UYSAL, A.; YILMAZ, H.; BILAL, T.; BERRIATUA, E.; BAKIREL, U.; ARSLAN, M.; ZERIN, M.; TAN, H. Seroprevalence of enzootic bovine leukosis in Trakya district (Marmara region) in Turkey. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 37, p. 121-128. 1998.

VAN DER MAATEN, M. J.; MILLER, J. M. Replication of bovine leukaemia virus in monolayer cell cultures. **Bibliotheca Haematologica** , 43, 360–362. 1976.

VAN DER MAATEN, C. W.; VIDOR, T.; BRAGA, F. M.; HALFEN, D.; HUBNER, S. O. Leucose Enzoótica Bovina em bovinos Produtores de leite importados do Uruguai. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 5, n. 1, p. 139-141. 1999.

VANLEEUEWEN, J. A. Impacts and Control of Insidious Infectious Diseases - Beat Them Before They Beat Your Clients. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, *Neospora caninum*, *Bovine Leukemia Viral* and *Bovine Viral Diarrhea Virus*. In: **Congresso Mundial de Buiatria**, 23, Proceedings. Québec-Canadá, 2004.

VANLEEUEWEN, J. A.; FORSYTHE, L.; TIWARI, A.; CHARTIER, R. Seroprevalence of antibodies against bovine leukemia viral, *Mycobacterium avium* subspecies

paratuberculosis and *Neospora Caninum* in dairy cattle in Saskatchewan. **Canadian Veterinary Journal**, v. 46, p. 56-58. 2005.

VANLEEUEWEN, J. A.; KEEFE, G. P.; TREMBLAY, R.; POWER, C.; WICHTEL, J. J. Seroprevalence of infection with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, bovine leukemia virus, and bovine viral diarrhoea virus in Maritime Canada dairy cattle. **Canadian Veterinary Journal**, v. 42, p. 193-198. 2001.

VANLEEUEWEN, J. A.; TIWARI, A.; PLAIZIER, J. C.; WHITING, T. L. Seroprevalence of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and *Neospora caninum* in beef and dairy cattle in Manitoba. **Canadian Veterinary Journal**, v. 47, p. 783-786. 2006.

WANG, C. T. Bovine leukemia virus infection in Taiwan: Epidemiological study. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 53, p. 395-398. 1991.

WERLING, D.; HOWARD, C. J.; NIEDERER, E.; STRAUB, O. C.; SAALMULLER, A.; LANGHANS, W. Analysis of the phenotype and phagocytic activity of monocytes/macrophages from cattle infected with the bovine leukaemia virus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 62, p. 185-195. 1998.

ZAGHAWA, A.; BEIER, D.; ABD EL-RAHIM, I. H. A.; EL-BALLAL, S.; KARIM, I.; CONRATHS, F. J. An Outbreak of Enzootic Bovine Leukosis in Upper Egypt: Clinical, Laboratory and Molecular-Epidemiological studies. **Journal Veterinary Medicine**, v. 49, p. 123-129. 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Questionário epidemiológico

