

Daniela de Souza Rajão

**EFEITO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA
NA PRODUÇÃO DE LEITE E REPRODUÇÃO DE REBANHOS LEITEIROS**

**Dissertação apresentada à Escola de Veterinária
da Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência Animal.**

**Área de concentração: Medicina Veterinária
Preventiva**

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Cerqueira Leite

**Belo Horizonte
UFMG – Escola de Veterinária
2008**

R161e Rajão, Daniela de Souza, 1983-

Efeito da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina na produção de leite e reprodução de rebanhos leiteiros / Daniela de Souza Rajão. – 2008.

26p. : il.

Orientador: Rômulo Cerqueira Leite

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1. Bovino de leite – Doenças – Teses. 2. Bovino de leite – Reprodução – Teses. 3. Leucose bovina – Teses. 4. Leite – Produção – Teses. I. Leite, Rômulo Cerqueira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

Dissertação defendida e aprovada em 08 de fevereiro de 2008, pela comissão examinadora constituída por:

Prof. Dr. Rômulo Cerqueira Leite
(Orientador)

Prof. Dr. Jenner Karlisson Pimenta dos Reis

Dr. Antônio Cândido Cerqueira Leite Ribeiro

Dedico este trabalho aos meus pais, Cid Tadeu Rajão e Maria Cecília de Souza Rajão, pelo incentivo e apoio constante; à minha irmã Juliana de Souza Rajão, pela amizade; ao avô Roberto de Souza pelo exemplo profissional; aos familiares e amigos pelo carinho.

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo apoio e orgulho demonstrado.

Ao orientador Prof. Rômulo Cerqueira Leite, pela confiança e oportunidade, além da excelente convivência repleta de ensinamentos.

Ao Prof. Jenner Karlisson Pimenta dos Reis, pelo acompanhamento e orientações freqüentes.

Ao Prof. Marcos Bryan Heinemann, pelo auxílio e sugestões.

Ao Prof. João Paulo Amaral Haddad, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Dr. Antônio Cândido de Cerqueira Leite Ribeiro, pela parceria e apoio.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Rômulo Cerqueira Leite, Prof. Jenner Karlisson Pimenta dos Reis e Dr. Antônio Cândido de Cerqueira Leite Ribeiro, pelas sugestões e contribuições sem as quais esta dissertação não estaria completa.

Ao Sr. Klinger Aparecido de Souza, pelo auxílio técnico fornecido, essencial para a realização deste trabalho.

Aos amigos do Retrolab, pela convivência e pela colaboração direta ou indireta para a realização deste trabalho, em especial à Gissandra Farias Braz, pelo grande auxílio fornecido.

Aos amigos e colegas, pelo convívio que tornou essa trajetória mais agradável.

Ao Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação da Escola de Veterinária, pela colaboração.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, pelo auxílio técnico.

À EMBRAPA Gado de Leite pela parceria.

À FAPEMIG, CNPq e FEP/MVZ pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

	RESUMO.....	11
	ABSTRACT	11
1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	14
2.1	EPIDEMIOLOGIA	14
2.2	MANIFESTAÇÕES DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA	15
2.3	IMPACTO ECONÔMICO	16
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1	ANIMAIS	17
3.2	COLETA DE MATERIAL	18
3.3	ANÁLISE SOROLÓGICA	18
3.4	ANÁLISE HEMATOLÓGICA	18
3.5	DIVISÃO DE GRUPOS EXPERIMENTAIS	18
3.6	ANÁLISE E COMPARAÇÃO DE DADOS	18
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	18
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1	ANÁLISE SOROLÓGICA	19
4.2	ANÁLISE HEMATOLÓGICA	20
4.3	DIVISÃO DE GRUPOS EXPERIMENTAIS	20
4.4	ANÁLISE E COMPARAÇÃO DE DADOS	20
5.	CONCLUSÕES	22
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Divisão dos animais estudados de acordo com o grau de sangue.....	17
Tabela 2 -	Resultados encontrados na técnica de IDGA para detecção de anticorpos contra o BLV, distribuição de acordo com a raça.....	19
Tabela 3 -	Idade média dos animais avaliados de acordo com a raça.....	19
Tabela 4 -	Valores das médias (células/ μ L) e desvios padrões, entre parênteses, encontrados no leucograma de animais reagentes e não reagentes na IDGA para LEB.,,,.....	20
Tabela 5 -	Grupos experimentais estabelecidos de acordo com resultados da sorologia e do leucograma.....	20
Tabela 6 -	Produção de leite média (litros) por lactação de 305 dias de animais Holandeses e mestiços Holandês/Zebu, de acordo com o grupo experimental a que pertencem.....	21

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Produção de leite média de fêmeas puras da raça Holandesa e mestiças Holandês/Zebu.....	17
Figura 2 -	Produção de leite (litros) por lactação de 305 dias dos animais estudados, de acordo com resultado da sorologia e com a idade em meses.....	21

RESUMO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma enfermidade viral crônica, amplamente disseminada no rebanho nacional. Embora a maioria dos animais infectados sejam assintomáticos, a infecção pode gerar perdas econômicas consideráveis. Alguns animais infectados podem desenvolver linfocitose persistente (LP), que causa desordens imunológicas e pode estar relacionada a quedas na produtividade. Para avaliar o efeito da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV) na produção de leite e reprodução de rebanhos leiteiros, foram analisadas amostras sanguíneas de 158 fêmeas bovinas adultas em lactação, puras Holandesas (HPB) e mestiças Holandês/Zebu (HPB/Z). Os animais foram divididos em três grupos: negativos, positivos sem linfocitose persistente e positivos com linfocitose persistente, de acordo com resultados obtidos no leucograma e na Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA). Dados de produção e reprodução do rebanho foram comparados entre os grupos, de acordo com a raça. As fêmeas HPB infectadas apresentaram produção de leite inferior em 628,2 litros por lactação que as não infectadas, enquanto as mestiças positivas apresentaram produção superior em 440,8 litros às negativas. Não foi observada diferença entre os parâmetros reprodutivos de fêmeas infectadas e não infectadas. Os resultados obtidos indicam uma associação entre a infecção pelo BLV e a ocorrência de alterações na produção de leite do rebanho leiteiro infectado.

Palavras-chave: leucose enzoótica bovina (LEB), vírus da leucose bovina (BLV), linfocitose persistente (LP), produção de leite, reprodução.

ABSTRACT

Enzootic Bovine Leukosis (EBL) is a chronic viral disease of cattle, disseminated in Brazilian livestock. Although most infected animals are asymptomatic, the disease may cause considerable economic losses. Some infected animals may develop persistent lymphocytosis, which cause immunologic disturbs and can be related to productive loss. To evaluate the effects of bovine leukemia virus (BLV) infection on production and reproduction performances of milk cattle, 158 blood samples from lactating adult cows, crossbred Holstein/Zebu and purebred Holstein, were analyzed. Animals were divided into three groups: negative, positive without persistent lymphocytosis and positive with persistent lymphocytosis, according to Agar Gel Immunodifusion test (AGID) and leukogram results. Production and reproduction data were compared between groups, according to breed. Holstein infected females showed lower milk yield than uninfected ones, with a loss of 628.2 liters per lactation. Mixed breed positive cows showed higher production (in 440.8 liters) than negative ones. There were no differences between reproductive parameters of infected and non infected females. These results indicate an association between BLV infection and production of infected herds.

Keywords: enzootic bovine leukosis (EBL), bovine leukemia virus (BLV), persistent lymphocytosis, milk yield, reproduction.

1. INTRODUÇÃO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma enfermidade viral crônica de ampla distribuição em rebanhos bovinos, e pode levar vários anos para a primeira manifestação de sinais clínicos. Na maioria dos casos a doença é assintomática e passa despercebida pelo rebanho. A inexistência de sinais clínicos leva à falta de conhecimento entre produtores e técnicos sobre a real importância da doença como fonte de prejuízos.

A principal forma de transmissão do vírus da leucose bovina (BLV) é a horizontal e a doença pode se espalhar rapidamente no rebanho. As medidas de manejo estão intimamente ligadas à disseminação da doença, uma vez que o maior contato entre os animais, o estresse causado pelo manejo intensivo e a maior manipulação pelo homem aumentam a taxa de transmissão. Outro fator importante relacionado à maior ocorrência da doença é a idade, já que o período de incubação é longo e os animais geralmente manifestam sinais com idade superior a cinco anos. Tais características ocasionam maior incidência da doença em rebanhos leiteiros, já que as medidas de manejo nesse tipo de criação favorecem a disseminação do agente e a ocorrência de sinais clínicos.

As perdas econômicas resultantes da LEB ainda não são totalmente esclarecidas. Os prejuízos são resultantes da condenação de carcaças em matadouros, descarte precoce ou morte de animais com linfomas, barreiras para exportação de animais e seus produtos (produtos cárneos, sêmen, embriões), além de gastos com medicamentos e assistência veterinária. Geralmente os prejuízos estão associados à forma clínica da doença, com a formação de linfomas, que está presente em poucos animais. Possivelmente, a forma subclínica da LEB, caracterizada por uma linfocitose persistente, pode gerar desordens hematológicas e imunológicas, acarretando

em menor produção. O efeito da infecção sobre a produção de leite vem sendo questionado e os resultados encontrados são controversos. Acredita-se que a LEB pode levar à queda na produção de leite e na eficiência reprodutiva do animal infectado, mesmo que este não apresente manifestações clínicas.

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo, já ultrapassando a marca de 25 bilhões de litros de leite produzidos ao ano. Minas Gerais é o Estado com maior produção no país, responsável por cerca de 27% dessa produção. A produção de leite apresenta-se em constante crescimento, e as expectativas para o setor são positivas, já que o consumo de leite vem aumentando em países que representam uma parcela significativa da população mundial e, dessa forma, mercados consumidores expressivos. Os investimentos para estimular o consumo interno, para estabelecer parcerias para a exportação e para a melhoria da saúde do rebanho, são essenciais para atingir as perspectivas de crescimento do setor.

A Leucose Enzoótica Bovina pode ser responsável pela redução na produção de leite de vacas infectadas, gerando grandes prejuízos para o produtor, a indústria leiteira e o setor agropecuário do país. Medidas de controle contra a enfermidade poderiam reduzir as perdas econômicas e resultar em aumento na produção e melhoria na qualidade do leite.

O objetivo desse trabalho foi determinar o efeito da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina na produção de leite e reprodução de rebanhos tecnificados e de produção intensiva.

2. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

2.1. EPIDEMIOLOGIA

Desde a primeira descrição de formações nodulares associadas à Leucose Enzoótica Bovina (LEB), ocorrida na Europa (Leisering, 1871 citado por Gillet et al., 2007), a doença se disseminou e atualmente está presente em diversos países do mundo.

A Europa é considerada o berço da infecção e, a partir da importação de bovinos pelos Estados Unidos, a doença foi introduzida nas Américas. Após a segunda guerra mundial, a exportação de animais pelos países da América do Norte levou à disseminação do BLV para o restante do mundo (Camargos et al., 2004). A prevalência da infecção no mundo varia, com índices de 3,3% no Japão (Usui et al., 2003), 11,0% na Turquia (Uysai et al., 1998), 26,9% no Canadá (Scott et al., 2006), atingindo níveis elevados, acima de 48%, nos EUA (USDA, 1997). No Brasil, a Leucose Enzoótica Bovina foi descrita pela primeira vez por Rangel e Machado (1943) e animais infectados já foram detectados em rebanhos leiteiros em diversos estados, como Bahia (41,0%); Minas Gerais (38,7%); Rio de Janeiro (54,3%); Rio Grande do Sul (23,5%); São Paulo (52,0%), Tocantins (37,0%) entre outros (Camargos et al., 2002; Fernandes, 2007; Matos et al., 2005; Megid et al., 2003; Poletto et al., 2004; Romero e Rowe, 1981).

A doença é causada por um *Deltaretrovírus* exógeno, o vírus da leucose enzoótica bovina (BLV), que infecta linfócitos B preferencialmente. A partícula viral consiste de um dímero de RNA fita simples linear envolto por um envelope derivado da célula hospedeira (Goff, 2007). Como em todos os *Retrovírus*, o RNA viral é convertido em DNA proviral pela ação da transcriptase reversa, e se integra ao genoma da célula hospedeira, o que permite uma infecção crônica que pode permanecer por toda a vida do animal.

Os animais geralmente se infectam através da transferência de linfócitos infectados, já que o vírus livre infeccioso é detectado em pequenas quantidades *in vivo*. Portanto, qualquer meio pelo qual linfócitos infectados possam ser transmitidos de um animal a outro pode disseminar a doença. O sangue é a principal fonte de infecção, mas outras secreções como saliva, secreção nasal e uterina podem conter o vírus (Johnson e Kaneene, 1991a). A forma mais importante de transmissão é a horizontal, principalmente através da reutilização de fômites sem adequada desinfecção, em situações como aplicação de medicamentos, vacinação, descorna, castração, tatuagem ou qualquer procedimento cirúrgico (Johnson e Kaneene, 1991a). Insetos hematófagos podem transmitir o vírus desde que a infestação seja alta (Hopkins e DiGiacomo, 1997). Já a transmissão vertical representa menor importância na infecção, uma vez que a transmissão intrauterina ocorre em cerca de 10% dos animais, geralmente em vacas com linfocitose ou linfomas (DiGiacomo, 1992) e a transmissão através da transferência de embriões não ocorre (Wrathall et al., 2006). A infecção pode ocorrer através da ingestão de leite e colostro, embora em menor frequência que pelo contato direto, sendo que os anticorpos colostrais podem bloquear a infectividade viral e reduzir a possibilidade de transmissão (Ferrer e Piper, 1981). Apenas o sêmen contendo leucócitos infectados pode transmitir o vírus, geralmente resultante de traumas, inflamação ou coleta inadequada (Dus Santos et al., 2007).

Com o advento dos exames sorológicos para detecção de anticorpos para o BLV, o diagnóstico hematológico baseado em chaves leucocitárias (Modena, 1984) utilizado no passado caiu em desuso, visto que existem diversos fatores que podem interferir nos constituintes sangüíneos dos animais. Os métodos sorológicos baseiam-se principalmente na detecção de anticorpos para a glicoproteína do envelope viral gp51.

A Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) apresenta alta especificidade e ainda é amplamente utilizada, sendo uma técnica de fácil realização e baixo custo (Camargos, 2005). Os testes imunoenzimáticos (ELISA) apresentam maior sensibilidade frente ao IDGA e ainda podem ser utilizados em amostras de leite (Reichel et al., 1998). Entretanto, as técnicas sorológicas podem falhar em algumas situações, como durante o periparto e em infecções recentes, sendo necessária a utilização de técnicas para detecção direta do agente, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Essa técnica pode ser utilizada de forma complementar à análise sorológica (Martin et al., 2001).

O controle da LEB é difícil devido à sua grande distribuição, à presença de grande número de animais assintomáticos e à sua lenta evolução, além da falta de informação dos produtores. A identificação de animais positivos é fundamental para controlar a disseminação, sendo importante realizar exames sorológicos periódicos. As medidas mais efetivas baseiam-se no controle das formas de transmissão, através da limpeza e desinfecção de fômites, uso de luvas obstétricas descartáveis, controle de insetos, controle da introdução de novos animais, educação e informação dos produtores (Johnson e Kaneene, 1991b). Em rebanhos positivos é importante separar bezeros nascidos de vacas infectadas, além de fornecer colostro e leite de vacas não infectadas. Existem três medidas para erradicação da Leucose do rebanho, sendo elas: i) teste e sacrifício, que só deve ser utilizada em rebanhos cuja prevalência é baixa, mas apresenta custo elevado; ii) teste e segregação, que pode ser utilizada em rebanhos com alta prevalência, mas requer maior espaço; iii) teste e implantação de medidas corretivas, que tem baixo custo, mas necessita de várias mudanças de manejo e requer longo tempo para gerar resultados (Suh et al., 2005).

2.2. MANIFESTAÇÕES DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA

A patogenicidade da LEB depende de fatores do hospedeiro, e as manifestações clínicas podem ser diversas. A maioria dos animais infectados não apresenta sinais clínicos, e contém apenas 1% ou menos de células infectadas. Uma fração dos infectados, cerca de 30%, pode manifestar uma condição denominada linfocitose persistente, resultante do aumento no número de linfócitos B circulantes por períodos prolongados. A formação de linfomas pode ser observada em até 5% dos animais acometidos, geralmente após longo período de infecção, em animais acima de cinco anos de idade (Camargos et al., 2004).

As manifestações clínicas são resultantes da formação de tumores, e dependem da localização dessas massas tumorais. Linfomas podem ocorrer em diversos linfonodos, coração, pulmão, abomaso, baço, útero, rins e trato urinário. Os sinais clínicos mais frequentes são inapetência, indigestão, diarreia, perda de peso, partos distócicos, exoftalmia, paralisia de membros e alterações neurológicas por compressão de nervos (Camargos et al., 2004).

A Linfocitose Persistente é uma manifestação hematológica da doença, e provavelmente é um fator predisponente ao quadro clínico, já que cerca de 50 % dos animais com linfoma apresentam esta alteração antes da manifestação tumoral (Schwartz e Levy, 1994). O quadro é definido como o aumento no número de linfócitos circulantes em 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 são resultantes de um desequilíbrio entre a proliferação e a morte celular, seja pela capacidade do vírus em aumentar a proliferação celular (Debacq et al., 2002; Schwartz-Cornil et al., 1997) ou

reduzir a apoptose (Debacq et al., 2003; Dequiedt et al., 1999; Takahashi et al., 2005) dos linfócitos infectados. Estudos mostram que alelos do complexo de histocompatibilidade maior (MHC 1 e 2) estão associados à resistência ou susceptibilidade ao desenvolvimento da linfocitose persistente, variando de indivíduo para indivíduo (Lewin et al., 1988; Xu et al., 1993).

Como a infecção permanece por toda a vida do hospedeiro, o sistema imune é constantemente estimulado, levando à 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 et al., 2001). À medida que a infecção progride, pode ocorrer a redução nos níveis de citocinas (Kabeya et al., 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.

2.3. IMPACTO ECONÔMICO

Geralmente, os prejuízos da LEB são decorrentes da formação de linfomas nos animais acometidos. A infecção pelo BLV acarreta custos diretos, resultantes da morte ou descarte de animais, condenação de carcaças em matadouros, queda na produção, gastos com serviço veterinário e com tratamento de animais doentes (Pelzer, 1997; Thurmond et al., 1985). Como custos indiretos podem-se destacar as barreiras à exportação de animais e produtos de origem animal. Embora a transmissão do vírus não ocorra através da transferência de embriões ou pela utilização de sêmen de boa qualidade e coletado adequadamente, muitos países impõem barreiras à importação desse

material. Tais exigências dos países importadores podem gerar prejuízos não apenas para as centrais de inseminação, mas também para as indústrias do leite e da carne, já que derivados lácteos e cárneos também estão sujeitos a estas punições (Miller e Van Der Maaten, 1982).

Além de prejuízos relacionados à manifestação clínica da Leucose, os animais infectados sem sinais clínicos também podem gerar perdas econômicas para o produtor. Existem evidências em rebanhos leiteiros de que animais infectados assintomáticos apresentam maior taxa de descarte que animais não infectados (Brenner et al., 1989). Como nesse tipo de criação a permanência do animal no rebanho depende da sua produtividade, tais indícios sugerem um efeito negativo da infecção pelo BLV na produção de leite. Mas ainda existem dúvidas quanto ao real efeito da Leucose na produção láctea, uma vez que os resultados encontrados por vários autores diferem significativamente. Alguns autores não detectaram diferença na produção de leite ao comparar vacas positivas para a infecção com as negativas (Huber et al., 1981; Tiwari et al., 2007). Já outros relataram a maior produção de leite de vacas infectadas em relação às não infectadas, podendo ser consequência da maior susceptibilidade de animais de alta genética à infecção pelo BLV (Jacobs et al., 1991; Pollari et al., 1992). Entretanto, diversos autores observaram uma redução significativa na produção de leite de vacas positivas (Brenner et al., 1989; Da et al., 1993; D'Angelino et al., 1998; Ott et al., 2003). Apesar disso, a eficiência reprodutiva de vacas infectadas parece não estar afetada, no que diz respeito a intervalo entre partos, taxa de parição e dias em aberto (Brenner et al., 1989; D'Angelino et al., 1998; Huber et al., 1981).

O possível efeito na produção de leite pode ser resultante do efeito da LEB no organismo, ou ainda devido à alterações da

resposta imune do animal. Mas a produção de leite também pode ser afetada pela ação direta do vírus na glândula mamária, uma vez que o BLV já foi detectado tanto em linfócitos (Yoshikawa et al., 1997) quanto nas células epiteliais da glândula (Buehring et al., 1994), além de ter sido capaz de iniciar a transformação dessas células mamárias e levar à redução na produção de caseína *in vitro* (Motton e Buehring, 2003). Esses efeitos da Leucose, gerais e diretos na glândula mamária, podem também estar relacionados à maior incidência de mastite e maior contagem de células somáticas (CCS) observada por alguns autores em animais infectados (Wellenberg et al., 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS

Foram avaliadas 158 fêmeas bovinas adultas, Holandesas puras da variedade preta e branca (HPB) e mestiças oriundas de cruzamentos entre a raça Holandesa e raças

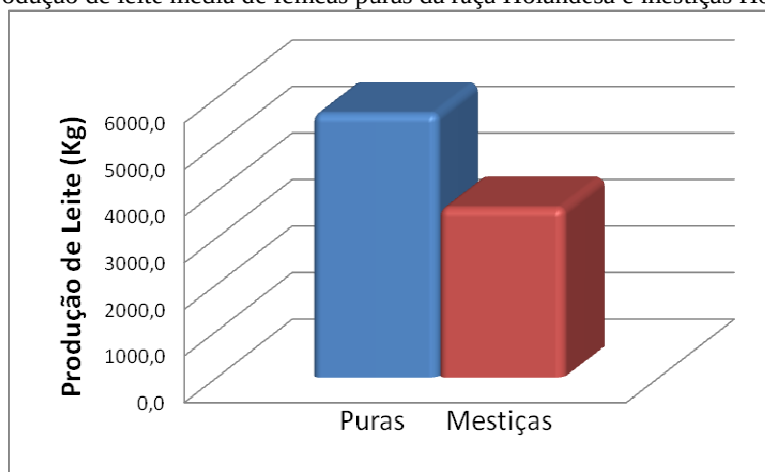
zebuínas (HPB/Z). As fêmeas apresentavam no mínimo uma lactação concluída até o encerramento do período de experimento e, portanto, todas possuíam idade superior a 48 meses. Os animais pertenciam a três rebanhos distintos, localizados no município de Coronel Pacheco, na Zona da Mata de Minas Gerais.

As fêmeas foram divididas em dois grupos raciais: HPB e HPB/Z, como exposto na Tab. 1, pois foi observada diferença significativa na produção de leite entre esses dois grupos ($P=0,001$) (Fig. 1). Em cada grupo racial os animais eram submetidos às mesmas medidas de manejo e nutrição e apresentavam boa condição corporal.

Tabela 1. Divisão dos animais estudados de acordo com o grau de sangue.

Raça	Animais
Puras HPB	42
Mestiças HPB/Z	116
Total	158

Figura 1. Produção de leite média de fêmeas puras da raça Holandesa e mestiças Holandês/Zebu.



3.2. COLETA DE MATERIAL

Foram coletadas amostras de sangue de cada animal, através de venopunção coccígea, utilizando-se um sistema a vácuo. As amostras foram coletadas em tubos sem anticoagulante para a realização do sorodiagnóstico e em tubos contendo solução tamponada de citrato trissódico para a realização do leucograma.

Imediatamente após cada coleta, foi confeccionado um esfregaço sanguíneo para cada animal.

Foram realizadas cinco coletas com intervalos mínimos de 90 dias entre elas, durante o período de dezembro de 2005 a setembro de 2007 (21 meses).

Os dados de produção de leite e reprodução eram registrados freqüentemente utilizando-se um sistema informatizado.

3.3. ANÁLISE SOROLÓGICA

Após a separação do soro, a detecção de anticorpos séricos contra a glicoproteína gp51 do BLV foi realizada através da técnica de IDGA adaptada de Miller e Van der Maaten (1977), utilizando-se gel de ágar noble com diluição de 0,8% depositado em lâminas de microscopia, antígeno glicoprotéico (gp51) produzido no próprio laboratório e soro positivo como controle.

3.4. ANÁLISE HEMATOLÓGICA

O número total de leucócitos foi mensurado utilizando-se o método de hemocitômetro (Câmara de Neubauer). Os esfregaços sanguíneos foram corados pela técnica May Grunwald-Giemsa (MGG) e em seguida foi realizada a contagem diferencial de leucócitos em microscópio óptico, com aumento de 100X (Thrall et al., 2007).

Diferentes condições ambientais e de manejo podem causar variações nos

constituintes sanguíneos de animais de uma mesma espécie e raça. Por esse motivo, foram considerados como referência para as contagens leucocitárias, os valores obtidos na contagem dos animais com resultado negativo no exame sorológico para LEB pelo método de IDGA no presente experimento.

3.5. DIVISÃO DE GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais, em cada grupo racial, foram divididos em três grupos experimentais segundo o resultado encontrado no teste sorológico e no leucograma, seguindo observações de Modena (1984):

- Animais soronegativos – Grupo SN
- Animais soropositivos sem linfocitose persistente - Grupo SP
- Animais soropositivos com linfocitose persistente - Grupo LP

3.6. ANÁLISE E COMPARAÇÃO DE DADOS

Os grupos experimentais foram analisados, comparando-se entre eles a produção de leite corrigida para 305 dias e os índices reprodutivos, cujos dados foram obtidos na escrituração da propriedade.

Os índices reprodutivos avaliados neste trabalho foram Intervalo entre Partos (IEP), Período de Serviço ou Dias em Aberto (PS) e Dias em Lactação (DEL). O IEP é o período (em dias) entre um parto e o próximo parto, englobando o período de gestação e o período de serviço. O PS é o período (em dias) entre o parto e a próxima concepção fértil confirmada pela gestação da fêmea, e os DEL são os dias em que a fêmea permanece em lactação (Ferreira, 1993).

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O percentual de infecção em animais puros e mestiços foi comparado utilizando-se o teste

do *Qui* quadrado e os resultados obtidos expostos em tabela de contingência. A idade média dos animais infectados e não infectados foi comparada de acordo com a raça, utilizando o teste t de Student. Para comparação dos dados de produção de leite, estes receberam tratamento estatístico pela regressão linear. Fixou-se o valor de 5 % para rejeição da hipótese nula.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ANÁLISE SOROLÓGICA

Do total de 158 animais avaliados pela técnica de IDGA, 126 apresentaram resultado positivo, enquanto que 32

apresentaram resultado negativo, como demonstrado na Tab. 2.

Animais HPB não apresentaram diferença ($P>0,05$) no percentual de infecção (85,7%) em relação aos mestiços HPB/Z (77,6%), embora maiores taxas de infecção tenham sido associadas a animais com maior potencial genético para produção de leite, devido à maior facilidade de disseminação do agente ocasionada pelas medidas de manejo às quais eles geralmente são submetidos (Wu et al., 1989). Dessa forma, ao selecionar os animais com maior produção de leite, os produtores podem estar selecionando animais mais susceptíveis à infecção, possibilitando a permanência do agente no rebanho.

Tabela 2. Resultados encontrados na técnica de IDGA para detecção de anticorpos contra o BLV, distribuição de acordo com a raça.

Resultado do IDGA	Número de animais	Raça	
		Puras HPB	Mestiças HPB/Z
Positivo	126 (79,7%)	36 (85,7% ^a)	90 (77,6% ^a)
Negativo	32 (20,3%)	6 (14,3% ^b)	26 (22,4% ^b)
Total	158 (100%)	42 (100%)	116 (100%)

Valores de percentual com diferentes letras minúsculas na mesma linha ou coluna diferem estatisticamente pelo Teste do *Qui* quadrado ($P<0,05$).

Os animais com resultado positivo no presente estudo apresentaram idade média superior àqueles com resultado negativo, tanto mestiços ($P=0,001$) quanto puros ($P=0,033$), como exposto na Tab. 3, concordando com observações de outros

autores (Hopkins e DiGiacomo, 1997), que relatam a maior taxa de infecção pelo BLV em fêmeas em fase avançada da vida produtiva, resultado do conseqüente aumento do contato íntimo entre animais e de práticas intensivas de manejo.

Tabela 3. Idade media dos animais avaliados de acordo com a raça.

Resultado do IDGA	Raça	
	Puras HPB	Mestiças HPB/Z
Positive	81,5 ^a	87,3 ^a
Negative	63,4 ^b	62,2 ^b

Valores com diferentes letras minúsculas na mesma coluna diferem estatisticamente pelo Teste t de Student ($P<0,05$).

4.2. ANÁLISE HEMATOLÓGICA

Em regiões tropicais e subtropicais, nas quais o Brasil está localizado, o perfil hematológico dos animais geralmente apresenta uma leucocitose por linfocitose em comparação com os parâmetros de regiões temperadas, resultante da premunição para *Anaplasma sp* e *Babesia sp* (Birgel Jr et al., 2001). Desta forma, optou-se por utilizar como referência os valores encontrados para os animais soronegativos, e não os parâmetros internacionais, por se tratar de animais criados sob mesmo clima e técnicas de manejo que os soropositivos. No entanto, os valores médios observados nos animais do grupo controle (soronegativos) se encontravam dentro dos parâmetros internacionais, que consistem no intervalo de 4.000 a 12.000 leucócitos/ μ L e 2.500 a 7.500 linfócitos/ μ L (Feldman et al., 2000). Como encontrado por Garcia et al. (1991), os animais soropositivos apresentaram contagem total de leucócitos ($P=0,015$) e linfócitos ($P=0,04$) superior aos soronegativos (Tab. 4), o que pode ser consequência do efeito direto da infecção pelo BLV no leucograma dos animais infectados.

Tabela 4. Valores das médias (células/ μ L) e desvios padrões - entre parênteses-, encontrados no leucograma de animais reagentes e não reagentes na IDGA para LEB.

Resultado do IDGA	Leucócitos	Linfócitos
Positivos	13.592,4 ^a (6.031,4)	9.760,6 ^a (5.609,0)
Negativos	10.278,5 ^b (2.396,3)	7.072,1 ^b (2.017,9)

Valores com letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem estatisticamente ($P<0,05$).

Os animais soropositivos foram classificados como pertencentes ao grupo com Linfocitose Persistente (LP) quando apresentaram contagem de linfócitos totais superior a 13.125,8 células/ μ L, ou seja,

somando-se à média o valor de três desvios padrões, em pelo menos duas coletas consecutivas, de acordo com Modena (1984).

4.3. DIVISÃO DE GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os grupos experimentais para comparação entre os índices produtivos e reprodutivos foram divididos de acordo com os resultados obtidos na análise sorológica e no leucograma (Tab. 5).

Tabela 5. Grupos experimentais estabelecidos de acordo com resultados da sorologia e do leucograma.

Grupo Experimental	Nº de Animais	
	Puros HPB	Mestiços HPB/Z
Grupo SN	6 (14,3%)	26 (22,4%)
Grupo SP	25 (59,5%)	58 (50,0%)
Grupo LP	11 (26,2%)	32 (27,6%)
Total	42 (100%)	116 (100%)

Nos animais infectados, a Linfocitose Persistente foi observada em 30,6% dos animais puros HPB e em 35,5% dos HPB/Z. Os percentuais observados assemelham-se àqueles encontrados na literatura, que relata uma porcentagem de cerca de 30% de animais infectados que podem evoluir para esse quadro hematológico, enquanto a maioria dos animais, cerca de 70%, permanece assintomática (Camargos et al., 2004).

4.4. ANÁLISE E COMPARAÇÃO DE DADOS

Para cada tipo racial, foi comparada a produção de leite dos animais pertencentes aos três grupos experimentais, e os resultados estão expostos na Tab. 6. A produção de leite destes animais sofreu influência da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina, comportando-se de forma semelhante em todas as faixas etárias (Fig. 2).

Tabela 6. Produção de leite média (litros) por lactação de 305 dias de animais Holandeses e mestiços Holandês/Zebu, de acordo com o grupo experimental a que pertencem.

Grupo	Raça			
	Puras HPB		Mestiças HPB/Z	
	Número de Animais	Produção (litros)	Número de Animais	Produção (litros)
Grupo SN	6	6207,9 ^a	26	3304,6 ^c
Grupo SP	25	5586,4 ^b	58	3771,3 ^d
Grupo LP	11	5564,7 ^b	32	3698,6 ^d

Comparação da produção de leite para mesmo grau de sangue e grupo experimental, os valores com diferentes letras minúsculas diferem estatisticamente ($P < 0,05$) pela Regressão Linear.

Os animais HPB infectados pelo BLV apresentaram produção de leite inferior à dos animais não infectados ($P=0,028$), com a redução média de 628,2 litros de leite por lactação (10,1%). Esses resultados concordam com aqueles encontrados por D'Angelino et al. (1998), que observaram produção de leite diária inferior em 11,0%

nos animais puros da raça Holandesa infectados pelo BLV e criados no Estado de São Paulo. A produção de leite inferior encontrada nos animais soropositivos pode ser resultante da infecção pelo vírus nas células da glândula mamária, resultando em menor produção de caseína por essas células (Motton e Buehring, 2003).

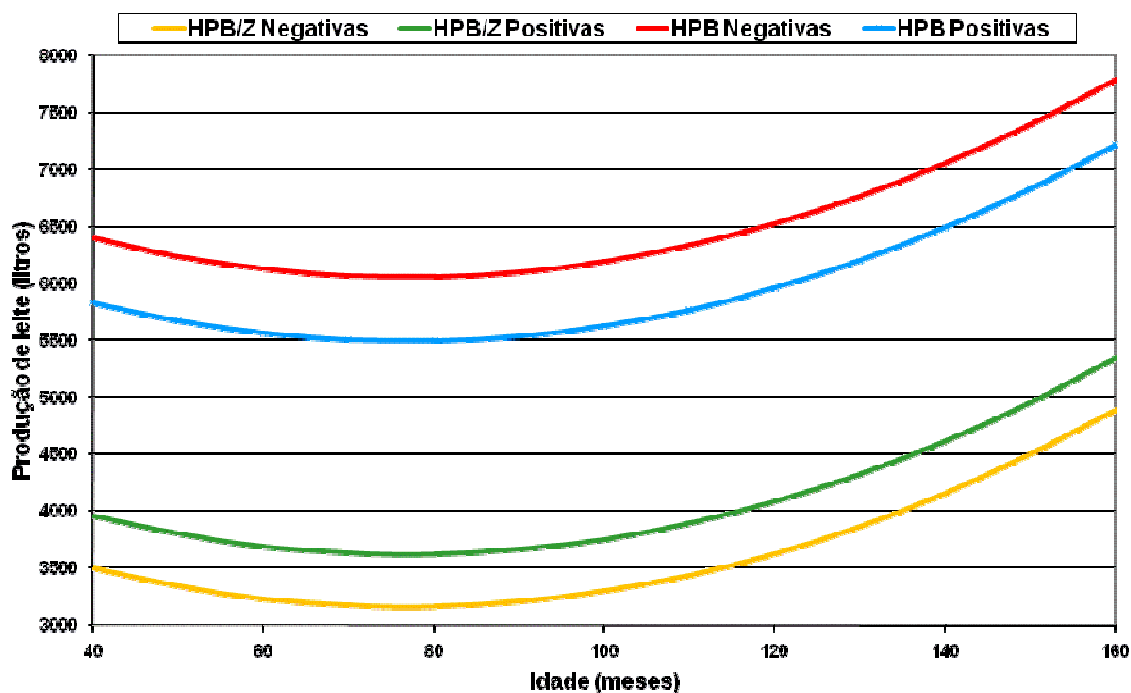


Figura 2. Produção de leite (litros) por lactação de 305 dias dos animais estudados, de acordo com resultado da sorologia e com a idade em meses.

A menor produção de leite observada nas fêmeas HPB positivas pode acarretar em perdas consideráveis para o produtor.

Adotando-se o valor médio pago ao produtor pelo litro de leite no período de 2005 a 2007 de R\$0,53, o prejuízo estimado por lactação

de cada animal infectado seria de R\$332,95, baseando-se na redução média observada na produção de leite desses animais.

Os animais mestiços positivos na IDGA apresentaram produção de leite superior à produção dos negativos, com aumento médio de 440,8 litros ($P=0,045$). A produção de leite em animais mestiços tem aumento curvilíneo, de acordo com a idade da fêmea, o que resulta em idade para produção máxima mais elevada que em animais europeus (Nobre, 1983). No presente estudo, a produção láctea observada nos animais mestiços crescia com o aumento da idade ($P=0,002$). Como os animais positivos apresentaram idade média superior a dos animais negativos, a produção de leite superior encontrada em animais mestiços infectados pode ser ocasionada pela idade mais elevada destes animais, somando-se ainda a sua maior resistência ambiental aos efeitos da Leucose quando comparados aos animais HPB. Essa diferença encontrada nos resultados entre animais HPB e HPB/Z pode sugerir também uma maior adaptação do BLV aos animais Holandeses e, portanto, um efeito mais expressivo na fisiologia destes animais.

No grupo dos animais positivos, puros ou mestiços, a produção de leite não apresentou diferença significativa entre aqueles que manifestavam linfocitose persistente e os que não manifestavam ($P=0,95$). Da et al. (1993) relatam uma redução mais expressiva na produção de leite causada pela linfocitose persistente após a manifestação desse quadro hematológico pelo período mínimo de dois anos. Dessa forma, o acompanhamento desses animais por períodos superiores a dois anos é importante para determinar o real efeito da linfocitose na produção de leite.

Não foi observada diferença significativa nos parâmetros reprodutivos avaliados dos animais pertencentes aos três grupos experimentais, seja para Período de Serviço

($P>0,29$), Intervalo entre Partos ($P>0,10$) e Dias em Lactação ($P>0,25$), para ambos os graus de sangue. Esses resultados concordam com outros autores, que, ao avaliar o efeito da infecção pelo vírus na reprodução de vacas leiteiras, não encontraram qualquer alteração nos índices reprodutivos dos animais infectados estudados (Brenner et al., 1989; D'Angelino et al., 1998; Huber et al., 1981).

A Leucose Enzoótica Bovina está amplamente disseminada pelo rebanho nacional, com altas taxas de prevalência nos rebanhos leiteiros. As práticas de manejo e a manipulação freqüente pelo homem aplicadas nesse tipo de criação facilitam a disseminação do BLV e dificultam o controle da infecção. O impacto econômico que a LEB causa na produção de leite nacional, tanto para o produtor como para a indústria, é pouco conhecido. A falta de conhecimento sobre os reais prejuízos da infecção pode contribuir para a maior disseminação da doença, uma vez que medidas de controle não são tomadas. Os resultados obtidos no presente trabalho indicam uma relação entre a infecção pelo BLV e a ocorrência de alterações na produção de leite e na eficiência reprodutiva do rebanho leiteiro. Foi observada a menor produção de leite em animais puros de alta produção infectados quando comparados com os não infectados. Tais animais podem não estar atingindo seu potencial produtivo, gerando prejuízos para o produtor e resultando em seu abate precoce. Dessa forma, os efeitos resultantes da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina podem ser causas importantes de prejuízos para os rebanhos leiteiros infectados.

5. CONCLUSÕES

Animais puros da raça Holandesa infectados pelo vírus da leucose enzoótica bovina apresentam produção de leite inferior quando comparados a animais não infectados, mesmo sem apresentar

manifestações clínicas da doença. Esse efeito na produção acarretaria em prejuízo de R\$332,95 por lactação de cada animal acometido. Animais mestiços Holandês/Zebu infectados não apresentaram efeito na produção de leite.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEDO, M. R. Influência da leucose enzoótica bovina na atividade oxidativa de leucócitos. 2007. 151f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; D'ANGELINO, J. L.; BENESI, F. J. et al. Valores de referência do leucograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 38, n. 3, p. 136-141, 2001.

BRENNER, J.; VAN-HAM, M.; SAVIR, D. et al. The Implication of BLV Infection in the Productivity, Reproductive Capacity and Survival Rate of a Dairy Cow. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 22, p. 299-305, 1989.

BUEHRING, G. C.; KRAMME, P. M.; SCHULTZ, R. D. Evidence for bovine leukemia virus in mammary epithelial cells of infected cows. *Lab. Invest.*, v. 71, p. 359-365, 1994.

CAMARGOS, M. F.; MELO, C. B.; LEITE, R. C. et al. Frequência de soropositividade para a Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos de Minas Gerais. *Cien. Vet. Trop.*, v. 5, p. 20-26, 2002.

CAMARGOS, M. F.; REIS, J. K. P.; LEITE, R. C. Bovine Leukemia Virus. *Virus Rev. Res.*, v. 9, n. 1, p. 44-59, 2004.

CAMARGOS, M. F. *Vírus da Leucemia Bovina: Epidemiologia molecular e diagnóstico*. 2005. 95f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

DA, Y.; SHANKS, R. D.; STEWART, J. A.; et al. Milk and fat yields decline in bovine

leukemia virus-infected Holstein cattle with persistent lymphocytosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, v. 90, n. 14, p. 6538-6541, 1993.

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

DEBACQ, C.; ASQUITH, B.; KERKHOFS, P. et al. Increased cell proliferation, but not reduced cell death, induces lymphocytosis in bovine leukemia virus-infected sheep. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 99, n. 15, p. 10048-10053, 2002.

DEBACQ, C.; ASQUITH, B.; REICHERT, M. et al. Reduced Cell Turnover in Bovine Leukemia Virus-Infected, Persistently Lymphocytotic Cattle. *J. Virol.*, v. 77, n. 24, p. 13073-13083, 2003.

DEQUIEDT, F.; CANTOR, G. H.; HAMILTON, V. T. et al. Bovine Leukemia Virus-Infected Persistent Lymphocytosis in Cattle does not Correlate with Increased Ex Vivo Survival of B Lymphocytes. *J. Virol.*, v. 73, n. 2, p. 1127-1137, 1999.

DIGIACOMO, R. F. Vertical transmission of the bovine leukemia virus. *Vet. Med.*, v.87, n. 3, p. 258-262, 1992.

DUS SANTOS, M. J.; TRONO, K.; LAGER, I. et al. Development of a PCR to diagnose BLV genome in frozen semen samples. *Vet. Microbiol.*, v. 119, p. 10-18, 2007.

FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5ª ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344 p.

FERNANDES, C. H. C. Leucose Enzoótica dos bovinos: soroprevalência, fatores de risco e níveis séricos de lisozima em bovinos leiteiros do Estado do Tocantins, Brasil. 2007. 89 f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

FERREIRA, A. M. *Fatores que influenciam na fertilidade do rebanho bovino*. Coronel Pacheco:

- EMBRAPA CNPGL, 1993. 16 p. (Documentos, 53).
- FERRER, J. F.; PIPER, C. E. Role of Colostrum and Milk in the Natural Transmission of the Bovine Leukemia Virus. *Cancer Res.*, v. 41, p. 4906-4909, 1981.
- GARCIA, M.; D'ANGELINO, J. L.; BENESI, F. J. et al. Avaliação do leucograma de fêmeas da raça Holandesa naturalmente infectadas pelo Vírus da Leucose Bovina. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 11, p. 61-64, 1991.
- GILLET, N.; FLORINS, A.; BOXUS, M. et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*, v. 4, n. 18, 2007. Disponível em: <<http://www.retrovirology.com/content/4/1/18>>. Acesso em: 10 mai. 2007.
- GOFF, S. P. Retroviridae: The Retroviruses and Their Replication. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. *Fields Virology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2007. v. 2, p. 1999-2069.
- HOPKINS, S. G.; DIGIACOMO, R. F. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 13, p. 107-128, 1997.
- HUBER, N. L.; DIGIACOMO, R. F.; EVERMANN, J. F. et al. Bovine leukemia virus infection in a large Holstein herd: prospective comparison of production and reproductive performance in antibody-negative and antibody-positive cows. *Am. J. Vet. Res.*, v. 42, n. 9, p. 1477-1481, 1981.
- JACOBS, R. M.; HEENEY, J. L.; GODKIN, M. A. et al. Production and Related Variables in Bovine Leukaemia Virus-Infected Cows. *Vet. Res. Commun.*, v. 15, p. 463-474, 1991.
- JOHNSON, R.; KANEENE, J. B. Bovine Leukemia Virus: Part II. Risk factors of transmission. *Comp. Cont. Educ. Pract. Food Anim.*, v. 13, n. 4, p. 681-691, 1991a.
- JOHNSON, R.; KANEENE, J. B. Bovine Leukemia Virus: Part IV. Economic Impact and Control Measures. *Comp. Cont. Educ. Pract. Food Anim.*, v. 13, n. 11, p. 1727-1737, 1991b.
- KABEYA, H.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Host Immune Response in the Course of Bovine Leukemia Virus Infection. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 63, n. 7, p. 703-708, 2001.
- LEISERING, A. Hypertrophy der Malpighischen Körperchen der milz. *Berl. Vet. Wes. Kgr.*, v. 16, p. 15-16, 1871.
- LEWIN, H. A.; WU, M. C.; STEWART, J. A. et al. Association between BoLA and subclinical bovine leukemia virus infection in a herd of Holstein-Friesian cows. *Immunogenetics*, v. 27, p. 338-344, 1988.
- MARTIN, D.; ARJONA, A.; SOTO, I. et al. Comparative Study of PCR as a Direct Assay and ELISA and AGID as Indirect Assays for the detection of Bovine Leukaemia Virus. *J. Vet. Med. B*, v. 48, p. 97-106, 2001.
- MATOS, P. F.; BIRGEL JÚNIOR, E. H.; BIRGEL, E. H. Leucose enzoótica dos bovinos: prevalência de anticorpos séricos em bovinos criados na Bahia e comparação entre os resultados do teste de ELISA e da imunodifusão em gel de ágar. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 42, p. 171-179, 2005.
- MEGID, J.; NOZAKI, C. N.; KURODA, T. F. et al. Ocorrência de leucose enzoótica bovina na microrregião da Serra de Botucatu, São Paulo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 55, p. 645-646, 2003.
- MILLER, J. M.; VAN DER MAATEN, M. J. Use of glycoprotein antigen in the immunodiffusion test for bovine leukemia virus antibodies. *Eur. J. Cancer*, v. 13, n. 12, p. 1369-1371, 1977.
- MILLER, J. M.; VAN DER MAATEN, M. J. Bovine Leukosis – Its Importance to the Dairy Industry in the United States. *J. Dairy Sci.*, v. 65, p. 2194-2203, 1982.
- MODENA, C. M. Leucose Enzoótica Bovina: I – comparação entre as técnicas de diagnóstico de imunodifusão em gel de agar e chave linfocitária

- de Bendixen. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v. 12, p. 99-107, 1984.
- MOTTON, D. D.; BUEHRING, G. C. Bovine Leukemia Virus Alters Growth Properties and Casein Synthesis in Mammary Epithelial Cells. *J. Dairy Sci.*, v. 86, p.2826–2838, 2003.
- NOBRE, P.R.C. *Fatores genéticos e de meio em características produtivas e reprodutivas do rebanho leiteiro da UFV, Estado de Minas Gerais*. 1983. 113f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- OTT, S. L.; JOHNSON, R.; WELLS, S. J. Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. *Prev. Vet. Med.*, v. 61, p. 249-262, 2003.
- PELZER, K. D. Economics of Bovine Leukemia Virus Infection. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 13, n. 1, p. 129-141, 1997.
- POLLARI F. L.; WANGSUPHACHART, V. L.; DIGIACOMO, R. F. et al. Effects of bovine leukemia virus infection on production and reproduction in dairy cattle. *Can. J. Vet. Res.*, v. 56, n. 4, p. 289–295, 1992.
- POLETO, R.; KREUTZ, L. C.; GONZALES, J. C. et al. Prevalência de Brucelose, Tuberculose e Infecções Víricas em Bovinos Leiteiros do Município de Passo Fundo, RS. *Ciência Rural*, v. 34, p. 595-598, 2004.
- RANGEL, N. M.; MACHADO, A. V. Contribuição à oncologia comparada em Minas Gerais. *Arq. Esc. Sup. Vet. MG*, v. 1, p. 83-96, 1943.
- REICHEL, M. P.; THAM, K. M.; BARNES, S. et al. Evaluation of alternative methods for the detection of bovine leukaemia virus in cattle. *N. Z. Vet. J.*, v. 46, n. 4, p. 140-146, 1998.
- ROMERO, C. H.; ROWE, C. A. Enzootic bovine leukosis virus in Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 13, p. 107-111, 1981.
- SCHWARTZ, I.; LEVY, D. Pathobiology of bovine leukemia virus. *Vet. Res.*, v. 25, p. 521-536, 1994.
- SCHWARTZ-CORNIL, I.; CHEVALLIER, N.; BELLOC, C. et al. Bovine Leukaemia virus-induced lymphocytosis in sheep is associated with reduction of spontaneous B cell apoptosis. *J. Gen. Virol.*, v. 78, p. 153-162, 1997.
- SCOTT, H. M.; SORESENSEN, O.; WU, J. T. et al. Seroprevalence of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, Neospora caninum, Bovine leukemia virus, and Bovine viral diarrhea virus infection among dairy cattle and herds in Alberta and agroecological risk factors associated with seropositivity. *Can. Vet. J.*, v. 47, n. 10, p. 981-991, 2006.
- SUH, G.H.; LEE, J. C.; LEE, C. Y. et al. Establishment of a bovine leukemia virus-free dairy herd in Korea. *J. Vet. Sci.*, v. 6, n. 3, p. 227–230, 2005.
- TAKAHASHI, M.; TAJIMA, S.; OKADA, K. et al. Involvement of bovine leukemia virus in induction and inhibition of apoptosis. *Microbes Infect.*, v. 7, p. 19-28, 2005.
- THURMOND, M. C.; LAPUZ, G. R.; FARVER, T. B. et al. Retrospective study of four years of carcass condemnation rates for malignant lymphoma in California cows. *Am. J. Vet. Res.*, v. 46, n. 6, p. 1387-1391, 1985.
- THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W. et al. (Ed). *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. São Paulo: Roca, 2007. 582p.
- TIWARI A.; VANLEEUEWEN, J. A.; DOHOO, I. R. et al. Production effects of pathogens causing bovine leukosis, bovine viral diarrhea, paratuberculosis, and neosporosis. *J. Dairy Sci.*, v. 90, p. 659-69, 2007.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, APHIS. High Prevalence of Bovine Leukosis Virus (BLV) in U.S. Dairy Herds. *NAHMS Dairy Studies*, Info Sheet, fev. 1997. 2 p.

USUI, T.; MEAS, S.; KONNAI, S. et al. Seroprevalence of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in dairy and beef cattle in Hokkaido. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 65, n. 2, p. 287-289, 2003.

UYSAL, A.; YILMAZ, H.; BILAL, T. et al. Seroprevalence of enzootic bovine leukosis in Trakya district (Marmara region) in Turkey. *Prev. Vet. Med.*, v. 37, p. 121-128, 1998.

WELLENBERG, G. J.; VAN DER POEL, W. H. M.; VAN OIRSCHOT, J. T. Viral infections and bovine mastitis: a review. *Vet. Microbiol.*, v. 88, p. 27-45, 2002.

WERLING, D.; HOWARD, C. J.; NIEDERER, S. et al. Analysis of the phenotype and phagocytic activity of monocytes/macrophages from cattle infected with the bovine leukaemia virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.62, p. 185-195, 1998.

WRATHALL, A. E.; SIMMONS, H. A.; VAN SOOM, A. Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilisation with virus infected semen. *Theriogenology*, v. 65, p. 247-274, 2006.

WU, M. C.; SHANKS, R. D.; LEWIN, H. A. Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical bovine leukemia virus infection. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, n. 86, p. 993-996, 1989.

XU, A.; VAN EIJK, M. J. T.; PARK, C. et al. Polymorphism in BoLA-DRB3 exon 2 correlates with resistance to persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia virus. *J. Immunol.*, v. 151, p. 6977-6985, 1993.

YOSHIKAWA, H.; XIE, B.; OYAMADA, T. et al. Detection of Bovine Leukemia Viruses (BLV) in Mammary Tissues of BLV Antibody-Positive Cows Affected by Subclinical Mastitis. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 59, n. 4, p. 301-302, 1997.