

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DANIELLA SPONCHIADO

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI -VÍRUS DA LEUCOSE
ENZOÓTICA BOVINA EM REBANHOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E
BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ

CURITIBA

2008

DANIELLA SPONCHIADO

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-VÍRUS DA LEUCOSE
ENZOÓTICA BOVINA EM REBANHOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E
BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ

Dissertação apresentada como pré-requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre, pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná – UFPR.

Orientador: Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho

CURITIBA
2008

Sponchiado, Daniella

Prevalência de anticorpos séricos anti-Vírus da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos da raça Holandesa Preta e Branca, criados no Estado do Paraná / Daniella Sponchiado – Curitiba, 2008

101f

Orientador: Ivan Roque de Barros Filho.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

1. Leucose bovina – Paraná. 2. Raça holandesa. I. Título.

CDU 619.6- 006.4:636.2(816.2)

CDD 636.2

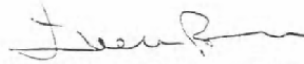
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS SÉRICOS ANTI-VÍRUS DA LEUCOSA ENZOÓTICA BOVINA EM REBANHOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA CRIADOS NO PARANÁ" apresentada pela Mestranda **DANIELLA SPONCHIADO**, declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03-CEPE/UFPR, que considerou a candidata aprovada para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

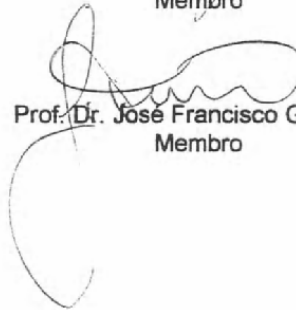
Curitiba, 27 de março de 2008.



Prof. Dr. Ivan Roque de Barros Filho
Presidente/Orientador



Prof. Dr. Joselito Nunes Costa
Membro



Prof. Dr. José Francisco G. Warth
Membro

A Delvino, meu pai, Lindamir, minha mãe.

As minhas tias do coração Jucélia, Rosi e Suely.

Aos meus verdadeiros amigos.

Por todo amor doado, por quem me tornei e por tudo que alcancei.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pela benção de nascer em uma família tão especial e por ter sua proteção todos os dias de minha vida.

A Minha Família que me apoiou e me apóia sempre, em especial ao meu pai Delvino, por me ensinar que a honestidade é uma das maiores virtudes de um homem. A minha mãe pelo carinho, pela comida quentinha, a roupa cheirosa e por me ajudar nunca desistir. E a minha querida irmã pelos momentos felizes que passamos juntas durante esses dois anos dessa nova conquista.

Ao meu amor, Marçal, por estar ao meu lado, mesmo à distância, e por sempre dizer que tudo iria dar certo.

Ao professor Dr. Ivan Roque de Barros Filho pela orientação, paciência, amizade e por principalmente acreditar em mim.

Aos professores Dr. Alexandre W. Biondo e Dra. Rosângela L. Dittrich pela coorientação e apoio durante o curso.

Ao Dr. Ernesto R. Krüger pela orientação dentro do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, por me mostrar o mundo da virologia, pela paciência durante os ensinamentos e pela dedicação.

Ao Instituto Tecnológico do Paraná (TECPAR) e ao responsável pela Divisão de Antígenos do mesmo, Jorge V. B. Agottani, pela doação dos Kits de Diagnóstico de Leucose Enzoótica Bovina para a realização do projeto de pesquisa.

Ao Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti e a Coordenadora do mesmo, Mara Eliza G. Joineau, por autorizar e apoiar a realização do projeto de pesquisa dentro do mesmo.

A todos os funcionários do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti pela ajuda e credibilidade. Em especial ao Jurandir pelo auxílio nos exames, Djalma e Milleo auxílio na lavagem de materiais, Anna Lúcia pelo ajuda na recepção de matérias e Dona Rosa pela dedicação em preparar o cafezinho.

A todos os funcionários do Departamento de Medicina Veterinária em especial Dorli, Dito e Ana pela atenção e dedicação.

A todos os proprietários que possibilitaram que fosse realizada a colheita das amostras em suas propriedades.

Aos colegas Noeli Gummy, Leandro C. Lipinski, Danilo Anadoni, Juahil, Luciana Faysano, Cirino, Cássia Dal Curtivo, Marcelo Silva, Christine H. Piekarz que auxiliaram nos contatos com os proprietários na colheita das amostras.

As alunas de iniciação científica Evelin Wammes e Alessandra Guimarães e ao aluno de graduação Fernando Dalla Costa pelo auxílio no processamento das amostras.

As professoras Dra. Rosângela L. Ditrich e Msc. Marilene M. Silva por permitirem o uso dos Laboratórios de Análises Clínicas do Hospital Veterinário de Curitiba e Palotina, e a residente Lia e técnica Mara pela ajuda no processamento dos materiais, respectivamente.

Ao Prof. Dr. Fabiano M. Ferreira pela ajuda na estatística.

Ao Prof. Dr. José Francisco G. Warth pelas sugestões e amizade.

A minha prima Suellen, por ajudar nas traduções e formatação do trabalho.

A Simone, bibliotecária do Setor Ciências Agrárias, pela dedicação e ajuda.

As amigadas que fiz no período do menestrado Mariana, Christine, Anna Lúcia, Cristina, Cidinha pelo apoio, compreensão e aos grandes e sábios conselhos.

A querida amiga Fernanda Benincá pelo apoio e por sua verdadeira amizade.

Aos colegas de pós-graduação Fabiane, Leandro, Marúcia, Marta, Mariana, Michele, Nicóli, Patrícia, Paulo e Zalmir pelos bons momentos que passamos juntos dentro e fora de sala de aula.

Ao Curso de Pós – Graduação em Ciências Veterinárias e em especial a secretária do mesmo, Maria José pelo seu apoio e dedicação.

A Universidade Federal do Paraná pela oportunidade.

Aos animais em especial aos bovinos, pois sem eles esse trabalho não passaria de um sonho.

A todas as pessoas colegas, amigos, proprietários, funcionários que me ajudaram na realização de um dos meus grandes sonhos, e acreditaram que eu iria conseguir.

A todos muito obrigada!

“Só existem dois dias no ano que nada pode ser feito. Um se chama ontem e o outro se chama amanhã, portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e principalmente viver”

(Dalai Lama)

“Um passo à frente e você não está mais no mesmo lugar...”

(Chico Science)

RESUMO

Determinou-se a prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da Leucose Enzoótica Bovina em 1089 amostras sangüíneas colhidas de 55 rebanhos de bovinos da raça Holandesa Preta e Branca (HPB), distribuídas em 25 municípios do Estado do Paraná. Utilizou-se como método de diagnóstico da infecção, a prova de Imunodifusão em gel de ágar, com o emprego do kit para Leucose Enzoótica Bovina, produzido pelo Instituto Tecnológico do Paraná (TECPAR). Foram encontrados animais soro-reagentes em 72,73% (40/55) dos rebanhos estudados, sendo a taxa de prevalência de anticorpos séricos anti-VLB na população examinada foi de 49,04% (534/1089). Os animais utilizados nesse estudo foram divididos por faixa etária, sexo, tipo de manejo e número de animais por rebanho, objetivando identificar as possíveis influências destes fatores sobre a prevalência da infecção. A maior prevalência foi encontrada em animais com idades superiores a sessenta meses de idade (61,98%), havendo aumento gradativo e significativo a partir dos 12 meses. Não houve diferenças significativas entre machos e fêmeas. As maiores prevalências ocorreram em animais criados em manejo semi-intensivo e intensivo e em rebanhos com mais de cem animais. Em 96,36% das propriedades havia reutilização de agulhas e seringas sem prévia desinfecção; 76,18% das propriedades reutilizam as luvas de palpação; 56,36% dos proprietários ou responsáveis pelas propriedades tinham alguma informação sobre a doença; 9,09% já realizaram provas da LEB na compra de animais; 14,55% dos proprietários afirmaram haver presença de animais positivos nas propriedades, 43,64% afirmaram não haver positivos e 41,82% não sabiam informar sobre animais soro-positivos.

Palavras Chave: Leucose bovina. Prevalência. Paraná.

ABSTRACT

It was determined the prevalence of serum antibodies anti-virus of the Bovine Leukosis in 1089 samples of blood taken from 55 herds of cattle from the Holstein Black and White (BPH), distributed in 25 municipalities in the Paraná state. It was used as a method of diagnosis of infection, proof of immunodiffusion in agar gel with the using the kit for Bovine Enzootic Leukosis, produced by the Technological Institute of Paraná (TECPAR). There were animal serum-reagents 72.73% (40/55) of the herds studied, the prevalence rate of serum antibodies anti-VLB in the population examined was 49.04% (534/1089). The animals used in this study were divided by age, sex, type of management and number of animals per herd, to identify possible influence of these factors on the prevalence of the infection. The highest prevalence was found in animals aged above of sixty months of age (61.98%), with gradual and significant increase from 12 months. There were no significant differences between males and females. The highest prevalence occurred in animals reared in semi-intensive management and intensive in herds with more than one hundred animals. In 96.36% of properties reuse of needles and syringes without disinfection; 76.18% of the properties reuse the gloves of palpation; 56.36% of the owners or responsible for the properties had some information about the disease; 9.09% LEB of evidence already made in the purchase of animals; 14.55% of the owners said there presence of positive animals on the properties, 43.64% said no positive and 41.82% did not know to inform about animals seropositive.

Key words: Bovine leukosis. Prevalence. Paraná.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1	– PRODUÇÃO DE LEITE NO ESTADO DO PARANÁ, LEVANDO EM CONSIDERAÇÃO O NÚMERO DE VACAS ORDENHADAS, PRODUTIVIDADE E DISPONIBILIDADE DO LEITE POR HABITANTE /ANO.....	20
FIGURA 1	– REPRESENTAÇÃO DE UM RETROVÍRUS, PROTEÍNAS DO ENVELOPE, CAPSÍDEO, RNA E ENZIMA TRANSCRIPTASE REVERSA	22
QUADRO 2	– TRANSMISSÃO DO VLB, PELA VIA VERTICAL, EM BEZERROS NO PERÍODO PRÉ-NATAL E PÓS-NATAL	25
QUADRO 3	– TRANSMISSÃO DO VLB, PELA VIA HORIZONTAL, NO PERÍODO PRÉ-NATAL E PÓS-NATAL.....	27
ESQUEMA 1	– REPRESENTAÇÕES DAS POSSÍVEIS CONSEQÜÊNCIAS APÓS A EXPOSIÇÃO DO ANIMAL AO VLB	29
FIGURA 2	– ILUSTRAÇÃO DO MAPA MUNDI, APRESENTAÇÃO DE ALGUNS TRABALHOS REALIZADOS SOBRE A PREVALÊNCIA DE LEUCOSE NO MUNDO SEGUNDO PAÍS, ANO, PERCENTUAL E AUTOR.....	37
FIGURA 3	– DEMONSTRAÇÃO DO MAPA DO BRASIL COM AS PREVALÊNCIAS DA LEB, EM PORCENTAGEM, NOS ESTADOS ONDE FORAM REALIZADOS LEVANTAMENTOS SOROLÒGICOS	44
QUADRO 4	– CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS PARA ESTABELECEER A PREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA, EM BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ. PARANÁ – 2008.....	53
QUADRO 5	– CONSTITUIÇÃO DA ESTRATIFICAÇÃO DO GRUPO EXPERIMENTAL I, PARA ESTABELECEER UMA MELHOR AVALIAÇÃO DOS PRIMEIROS 180 DIAS DE VIDA, DETERMINANDO A PREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, COM IDADE MENOR OU IGUAL A SEIS MESES. PARANÁ – 2008	53
FIGURA 4	– MAPA DO ESTADO DO PARANÁ, EM AZUL OS MUNICÍPIOS DE ONDE ERAM PROVENIENTES OS ANIMAIS UTILIZADOS NO PRESENTE TRABALHO. PARANÁ – 2008.....	54
GRÁFICO 1	– REPRESENTAÇÃO DO PERCENTUAL DE AMOSTRAS SORO-REAGENTES E NÃO REAGENTES PARA O TESTE DE IMUNODIFUSÃO EM GEL DE ÁGAR, NÚMEROS RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008	60
GRÁFICO 2	– DISTRIBUIÇÃO DE NÚMEROS RELATIVOS (%) DE BOVINOS DA RAÇA HPB, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ SORO-REAGENTES E NÃO REAGENTES PARA A IDGA. RESULTADOS DISTRIBUÍDOS SEGUNDO FAIXA ETÁRIA. PARANÁ 2008.....	64
GRÁFICO 3	– DISTRIBUIÇÃO DE NÚMEROS RELATIVOS (%) DE BOVINOS DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ SORO-REAGENTES E NÃO REAGENTES A IDGA RESULTADOS DISTRIBUÍDOS SEGUNDO ESTRATIFICAÇÃO DO PRIMEIRO GRUPO EXPERIMENTAL. PARANÁ – 2008	65

GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELO TESTE DE IDGA EM AMOSTRAS DE SORO SANGÜÍNEO, DE BOVINOS COM IDADE IGUAL OU MENOR QUE SEIS MESES DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, SEGUNDO SEXO, EXPRESSO EM NÚMEROS RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008 66

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	– OCORRÊNCIA DE LEUCOSE ENZOÓTICA EM BOVINOS NAS REGIÕES, SUL, SUDESTE, CENTRO-OESTE, NORDESTE E NORTE DO BRASIL, SEGUNDO AUTOR, ANO, LOCAL, TÉCNICA, RAÇAS OU APTIDÃO ZOOTÉCNICA DOS ANIMAIS (CONTINUA).....	45
TABELA 2	– NÚMEROS DE ANIMAIS SORO-REAGENTES E NÃO REAGENTES À IDGA, NÚMEROS ABSOLUTOS E RELATIVOS. PARANÁ – 2008	59
TABELA 3	– MUNICÍPIOS DE ORIGEM DOS REBANHOS DA RAÇA HOLANDÊSA PRETA E BRANCA (HPB), CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ E OS RESULTADOS OBTIDOS PELO IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, EXPRESSOS EM VALORES ABSOLUTOS E RELATIVOS. PARANÁ –2008 (CONTINUA)	61
TABELA 4	– RESULTADOS OBTIDOS PELO TESTE DE IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, DE BOVINOS HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, DISTRIBUIÇÃO SEGUNDO AS FAIXAS ETÁRIAS, EXPRESSADOS EM VALORES ABSOLUTOS (N ^o) E VALORES RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008.....	64
TABELA 5	– VALORES DA ESTATÍSTICA DE “P” E SUA SIGNIFICÂNCIA QUANDO UTILIZADO NO TESTE DE FISHER, PARA COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS ENTRE OS GRUPOS ETÁRIOS, DE BOVINOS HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, REAGENTES A IDGA. PARANÁ – 2008	64
TABELA 6	– RESULTADOS OBTIDOS PELO TESTE DE IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, DE BOVINOS HPB COM ATÉ 180 DIAS DE VIDA, DISTRIBUÍDOS EM FAIXAS ETÁRIAS DELINEADOS A PARTIR DA ESTRATIFICAÇÃO DO PRIMEIRO GRUPO EXPERIMENTAL, RESULTADOS EM NÚMEROS ABSOLUTOS (N ^o) E RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008.....	65
TABELA 7	– VALORES DA ESTATÍSTICA DE “P” E SUA SIGNIFICÂNCIA QUANDO UTILIZADO NO TESTE DE FISHER, PARA COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS DA ESTRATIFICAÇÃO DO GRUPO EXPERIMENTAL I, DE BOVINOS DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, SORO-REAGENTES A IDGA, PARANÁ – 2008	65
TABELA 8	– RESULTADOS OBTIDOS PELO TESTE DE IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, DE BOVINOS COM IDADE IGUAL OU MENOR QUE SEIS MESES, DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, DISTRIBUIÇÃO SEGUNDO SEXO, EXPRESSO EM NÚMEROS ABSOLUTOS (N ^o) E NÚMEROS RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008.....	66
TABELA 9	– VALOR DA ESTATÍSTICA DE “P” E SUA SIGNIFICÂNCIA QUANDO UTILIZADO NO TESTE DE FISHER, PARA COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS, DA DISTRIBUIÇÃO SEGUNDO SEXO, DE BEZERROS (AS) COM IDADE MENOR OU IGUAL A SEIS MESES, DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, SORO-REAGENTES A IDGA. PARANÁ – 2008	66
TABELA 10	– RESULTADO DAS INFORMAÇÕES DOS QUESTIONÁRIOS REALIZADOS DURANTE A COLHEITA DAS AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS DAS 55 PROPRIEDADES PESQUISADAS, VALORES ABSOLUTOS E RELATIVOS DAS QUESTÕES COMO: O PROPRIETÁRIO TEM INFORMAÇÕES DO QUE É LEB? NA COMPRA DE ANIMAIS FAZ EXAMES PRA SABER SE O ANIMAL TEM LEB? HÁ ANIMAIS POSITIVOS PARA LEB NA PROPRIEDADE? PARANÁ – 2008.....	67

TABELA 11	– RESULTADO DAS INFORMAÇÕES DOS QUESTIONÁRIOS REALIZADOS DURANTE A COLHEITA DAS AMOSTRAS DE SORO SANGUÍNEO DAS 55 PROPRIEDADES PESQUISADAS, VALORES ABSOLUTOS E RELATIVOS DAS QUESTÕES COMO: AGULHAS E SERINGAS SÃO REUTILIZADAS? AS LUVAS DE PALPAÇÃO SÃO REUTILIZADAS? QUAL TIPO DE MANEJO ZOTÉCNICO DA PROPRIEDADE? PARANÁ – 2008.....	67
TABELA 12	– PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VLB DE ACORDO COMO MANEJO ZOTÉCNICO, NÚMERO DE PROPRIEDADE POR NÚMERO DE ANIMAIS EM REBANHO DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ. PARANÁ – 2008.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac	- Anticorpo
IDGA	- Imunodifusão em gel de ágar
DNA	- Acido Desoxirribonucléico
ELISA	- Ensaio Imunoenzimático
GP	- Glicoproteína
HTLV-1	- Vírus de linfócito T humano tipo I
IgM	- Immunoglobulina M
IL-10	- Interleucina – 10
IL-2	- Interleucina – 2
IL-2R	- Receptor de interleucina – 2
LEB	- Leucose Enzoótica Bovina
LP	- Linfocitose Persistente
LTR	- Região L Terminal
MCH	- Complexo principal de histocompatibilidade
mRNAs	- Acido ribonucléico mensageiro
PBMC	- Células mononucleares do sangue periférico
RNA	- Ácido ribonucléico
q.s.p.	- Quantidade suficiente para
UV	- Ultravioleta
VLB	- Vírus da Leucemia Bovina

LISTA DE SIGLAS

EUA	- Estados Unidos da América
NAHMS	- National Animal Health Monitoring Surveillance
OIE	- Office International Des Epizooties
RS	- Rio Grande do Sul
TECPAR	- Instituto Tecnológico do Paraná
UFPR	- Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 ETIOLOGIA	21
2.2 TRANSMISSÃO	23
2.3 PATOGENIA.....	27
2.3.1 Ação do Sistema Imune contra o VLB	29
2.3.2 Ações dos genes virais	30
2.4 DIAGNÓSTICO	32
2.5 PREVALÊNCIA	34
2.6 PREJUÍZOS ECONÔMICOS.....	47
2.7 CONTROLE E PREVENÇÃO.....	49
3 MATERIAL E MÉTODOS	51
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	51
3.2 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE AMOSTRAS E FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS PARA ESTABELECEER A PREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, BEM COMO AVALIAR A INFLUÊNCIA DE FATORES ETÁRIOS	52
3.3 COLHEITAS DAS AMOSTRAS	55
3.5 AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DE ANTICORPOS ANTI-VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA	55
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
4 RESULTADOS.....	57
5 DISCUSSÃO	69
6 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS.....	78
ANEXO	98

1 INTRODUÇÃO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) foi descrita pela primeira vez por Leisering na Alemanha em 1871. Acredita-se que inicialmente a mesma concentrava-se na região oeste do rio Elba, e por isso era conhecida como “Ostenbische Krankheit” (doença do oeste de Elba) atingindo a Prússia Oriental, Pomerânia, Bradenburg e Saxônia. As migrações provocadas por conflitos, principalmente após a segunda Guerra Mundial, levaram a movimentação de bovinos, possibilitando a disseminação da doença para regiões ocidentais e orientais da Europa, atingindo os demais continentes (BIRGEL, 1982; GARCIA, 1989). A premunição contra *Babesia sp.* e *Anaplasma sp.* exerceu um grande papel na disseminação do vírus, pois na maioria das vezes não se realiza testes de LEB nos animais doadores de sangue (FLORES *et al.*, 1992).

É uma doença causada pelo Vírus da Leucemia Bovina (VLB), pertencente ao gênero *Deltaretrovirus* da família *Retroviridae* (MURPHY *et al.*, 1999). Também conhecido como Vírus da Leucose Bovina.

A LEB que é conhecida como uma doença infecto-contagiosa, podendo ser chamada de Leucemia dos Bovinos (RADOSTITS *et al.*, 2002). Porém, alguns autores que não concordam com o termo leucemia, justificando que o mesmo não é representativo de quadro clínico, levando em consideração que leucemia seria apenas um dos sinais clínico da doença, podendo ou não estar presente (MILLER; VAN DER MAATEN, 1982; STRAUB, 1984).

Segundo Alencar Filho (1981), o termo leucose significa, literalmente, doença dos glóbulos brancos, sendo preferível ao de leucemia que pressupõe aumento expressivo daqueles elementos no sangue periférico.

Do ponto de vista anatomopatológico a LEB é caracterizada por proliferação linfocitária nos órgãos hematocitopoiéticos (medula óssea, linfonodos e baço), bem como em órgãos ricos em tecidos reticulohistiocitários (abomaso, coração, rins, fígado, e músculos), ocorrendo assim, formações tumorais e infiltração de células mononucleares (linfócitos) (BIRGEL, 1982).

Cerca de 30% dos animais com anticorpos anti-VLB podem apresentar um quadro hematológico denominado de linfocitose persistente, considerado como uma proliferação benigna de linfócitos B (SCHALM *et al.*, 2000).

Sabe-se que aproximadamente 5% dos animais infectados com o VLB desenvolvem a forma tumoral (forma clínica) da doença, caracterizada por formações linfossarcoma, sendo esta fatal para o animal (COCKRELL; REYES, 2000).

A forma clínica da LEB, se manifesta principalmente em animais adultos (3 a 5 anos) destinados a produção leiteira. Este fato deve-se provavelmente, porque em rebanhos leiteiros existe uma maior quantidade de animais adultos, enquanto que em rebanhos de corte, os bovinos muitas vezes são abatidos antes de chegarem à fase adulta. Outro aspecto importante é tipo de manejo a que os animais são submetidos. Quanto mais intensivo o manejo maior o risco de transmissão da doença, justificando a maior prevalência de LEB em gado leiteiro do que em gado de corte (RADOSTITS *et al.*, 2002).

A LEB é considerada uma doença cosmopolita, por estar presente na maioria dos países, onde se destaca a produção de bovinos, principalmente naqueles que houve intensa importação de animais de origem européia (BIRGEL, 1982).

No Brasil o primeiro relato da doença foi feito por Rangel e Machado (1943). Desde então a doença foi diagnosticada por vários autores em quase todo espaço territorial do país, Merkt *et al.* (1959); Flores *et al.* (1988) no Rio Grande do Sul, Luders (2001) em Santa Catarina, Kantek *et al.* (1982/1983); Carvalho *et al.* (1996); Leuzzi Junior *et al.* (2003) no Paraná, Alencar Filho (1978); Birgel *et al.* (1988b); Birgel Junior *et al.* (1995); Megid *et al.* (2003); Birgel Junior *et al.* (2006) em São Paulo, Romero e Rowe (1981); Cunha *et al.* (1982) no Estado do Rio de Janeiro, Leite *et al.* (1984); Modena *et al.* (1984) em Minas Gerais, Andrade e Almeida (1991) em Goiás, Távora e Birgel, (1991); Matos *et al.* (2005) na Bahia, Melo *et al.* (1991) em Pernambuco, Simões (1998) na Paraíba, Silva (2001) no Piauí, Abreu *et al.* (1994) no Ceará, Simões *et al.* (2001) no Rio Grande do Norte, Birgel *et al.* (1999) em Alagoas, Abreu *et al.* (1990) em Rondônia e no Acre, Molnár *et al.* (1999) no Pará, Carneiro *et al.* (2003) na Amazônia.

Pela análise de literatura não foram encontrados registros de trabalhos relacionados à leucose bovina nos estados do Amapá, Mato Grosso, Maranhão, Roraima, Sergipe e Tocantins.

No Estado do Paraná há seis referências sobre Leucose Enzoótica Bovina. A primeira delas relatou segundo dados de necropsia, achados sugestivos de

Leucose Enzoótica Bovina, de animais importados do Canadá (DINIZ *et al.*, 1980). Posteriormente, foi realizado exame de 60 vacas importadas do Uruguai por uma cooperativa do Estado (KANTEK *et al.*, 1982). Em seguida os mesmos autores fizeram o primeiro levantamento sorológico do Estado verificando uma prevalência de 20,7% (KANTEK *et al.*, 1983). Passaram-se 13 anos e outra pesquisa foi realizada avaliando prevalência de anticorpos séricos anti-VLB em animais da raça holandesa preta e branca e em zebuínos do pólo regional de Londrina (CARVALHO *et al.*, 1996). Por fim, o trabalho mais recente, realizado na região norte do Paraná, avaliou a influência da idade e o tamanho do rebanho relacionado à soroprevalência da LEB (LEUZZI JUNIOR *et al.*, 2003).

Sabe-se que a pecuária leiteira paranaense destaca-se nacionalmente por sua qualidade e produtividade, por possuir animais de alto valor genético e por exportar esses animais, assim como o material genético dos mesmos. A Leucose Enzoótica Bovina pode ser responsável por prejudicar estas exportações, uma vez que, segundo a OIE (2007b), é proibida a exportação de animais soro-reagentes ao VLB e do material genético dos mesmos.

O QUADRO 1 detalha a produção de leite no Estado do Paraná, número de vacas ordenhadas, produtividade, disponibilidade por habitante – 1998 a 2003. Evidenciando a importância da bovinocultura leiteira no Estado.

ANO	PRODUÇÃO DE LEITE (MILHÕES DE LITROS)	VACAS ORDENHADAS (MIL CABEÇAS)	PRODUTIVIDADE (LITROS/VACA/ANO)	DISPONIBILIDADE (LITROS/HAB./ANO)
1998	1.795	1.355	1.324	201
1999	1.932	1.375	1.405	205
2000	2.082	1.392	1.495	218
2001	2.236	1.410	1.585	233
2002	2.370	1.427	1.660	243
2003	2.550	1.535	1.661	261

QUADRO 1 – PRODUÇÃO DE LEITE NO ESTADO DO PARANÁ, LEVANDO EM CONSIDERAÇÃO O NÚMERO DE VACAS ORDENHADAS, PRODUTIVIDADE E DISPONIBILIDADE DO LEITE POR HABITANTE /ANO
 FONTE: IBGE – SEAB/DERAL (2003)

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo geral de avaliar a atual prevalência da LEB, após 25 anos do primeiro levantamento sorológico da doença no Estado do Paraná. Correlacionando com fatores etários, sexo, sistema de manejo e número de animais por rebanhos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ETIOLOGIA

A Leucose Enzoótica Bovina como escrito anteriormente é causado por um vírus pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae*, gênero *Deltaretrovirus* e é um RNA vírus tumoral (MURPHY *et al.*,1999).

Pelas características morfológicas o vírus foi caracterizado como um oncovírus Tipo C, mas devido a características do complexo genotípico atualmente classificamos o mesmo, como sendo do grupo do vírus que infecta linfócitos T de seres humanos tipo I (HTLV-1) (COCKRELL; REYES, 2000).

Os vírus da família *Retroviridae* possuem um envelope de 80 a 100 nm de diâmetro, um capsídeo icosaédrico com aproximadamente 60 nm de diâmetro. O seu material genético é diplóide, ou seja, possui duas fitas de RNA simples de polaridade positiva. A enzima transcriptase reversa que todos os retrovírus possuem é responsável por transcrever o ácido ribonucléico (RNA) em ácido desoxirribonucléico (DNA) (FIGURA 1). Os vírus dessa família fazem sua replicação dentro do núcleo da célula hospedada, o VLB pode levar um período de 10 horas para que o ocorra todo processo de formação de um novo vírion (MURPHY *et al.*, 1999).

Todos os vírus da família *Retroviridae* possuem três genes em comum em seu material genético, *gag*, *pol* e *env*. O VLB e os outros membros do seu grupo possuem na região 3' chamada de região "X" a qual codifica proteína virais regulatórias conhecidas como *Tax*, *Rex*, *R3* e *G4* importantes no ciclo do vírus dentro da célula do hospedeiro. Levando em consideração que a fita de RNA pode ser dividida em três regiões bem definidas pelos genes citados acima (*gag*, *pol* e *env*), uma quarta região foi observada no VLB, onde foi localizado o gene *sarc* (sarcoma) ou *onc* (oncogene), característico desse vírus (JAWETZ *et al.*,1992; FERRER *et al.*,1993).

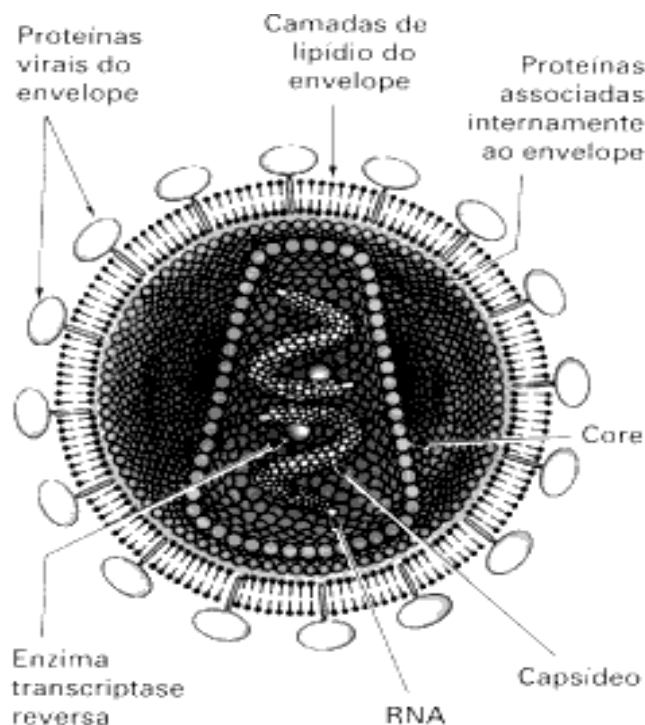


FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO DE UM RETROVÍRUS, PROTEÍNAS DO ENVELOPE, CAPSÍDEO, RNA E ENZIMA TRANSCRIPTASE REVERSA
 FONTE: http://www.libertaria.pro.br/d_emergentes_intro.htm

Cada componente da estrutura genômica foi considerado responsável pela formação das proteínas virais, sendo *gag* produz proteínas estruturais, *pol* a transcriptase reversa ou polimerase de DNA, *env* as glicoproteína do envelope e *sarc (onc)* fatores que interferem na alteração celular (JAWETZ *et al.*,1992; FERRER *et al.*,1993).

O envelope viral do VLB é formado por glicoproteínas (GP) e entre elas pode-se citar a GP51 e a GP30. Ambas auxiliam o vírus na sua fusão a célula alvo (SUZUKI; IKEDA, 1998). O mesmo é transcrito a partir do DNA presente no provírus. O DNA do provírus possui uma proteína percussora de envelope (Pr^{72}) a qual é responsável pela formação das glicoproteínas GP51, considerada uma proteína de superfície e a GP30 que é transmembrânica (ALTANER *et al.*,1993).

Quanto ao fato relacionado à resistência dos retrovírus pode-se dizer que os mesmos foram inativados por solventes e detergentes lipídicos (álcool, éter, clorofórmio), pela temperatura de 56°C durante 30 minutos. Porém foram mais resistentes ao raio UV e radiações-X do que os outros vírus. Uma possível explicação seria por possuírem um genoma diplóide (FERRER *et al.*,1993).

2.2 TRANSMISSÃO

O VLB permanece dentro de linfócitos B, uma vez que tem tropismo por essas células (AIDA *et al.*, 1989). Sendo assim, à forma de transmissão do vírus esta relacionada com a integridade dos linfócitos. Deste modo, duas formas de transmissão foram evidenciadas, a vertical, relacionada com a transmissão passiva e a forma horizontal, relacionada à transmissão ativa (JOHNSON; KANEENE, 1992).

Consideraram a forma vertical, as vias de infecção podem ser transplacentária (FERRER, 1979; VAN DER MAATEN *et al.*, 1981; LASSAUZET *et al.*, 1991a; HÜBNER *et al.*, 1997) e o colostro e/ou leite (ROMERO, *et al.*, 1983; FERRER; PIPER, 1981; MOLNÁR, *et al.*, 1998), e o sêmen (LUCAS *et al.*, 1980).

Na via transplacentária pode-se citar taxas de infecção de 20%, 1,2 a 6,4%, 4,8%, 4,8% segundo diferentes autores (FERRER, 1979; VAN DER MAATEN *et al.*, 1981; LASSAUZET *et al.*, 1991a; HÜBNER *et al.*, 1997).

Lassauzet *et al.* (1991a) afirmaram que a infecção intra-uterina ou durante período peri-parto pode ocorrer em 4,8% dos animais. Os autores estudaram durante três anos consecutivos um rebanho, cuja prevalência de LEB era de 37,8%. Este estudo revelou que bezerros nascidos de vacas que apresentavam linfocitose persistente e linfossarcoma durante a gestação eram soropositivos e que os bezerros nascidos de animais somente positivos (sororreagentes) não foram considerados positivos.

Em estudo realizado por Hübner *et al.* (1997), confirmou-se a ocorrência da infecção intra-uterina de 4,8%. Nesse estudo a prevalência da infecção intra-uterina foi comprovada pela análise de amostras de soro de bezerros, colhidas antes da ingestão do colostro e, após os intervalos pré-estabelecidos até 270 dias de idade. Os autores concluíram que o baixo índice obtido, viabilizaria a permanência dos bezerros nascidos de vacas positivas, até que a origem dos anticorpos seja encontrada.

Outra forma de transmissão vertical é a transferência do vírus para o lactente pelo colostro de vacas positivas, sendo essa uma via de transmissão importante (FERRER; PIPER; 1981; ROMERO, *et al.*, 1983; MOLNÁR, *et al.*, 1998).

Ferrer e Piper (1981) comprovaram a possibilidade do VLB ser transmitido pelo colostro e o leite. Os autores estudaram bezerros, cujas mães foram

consideradas soro-reagentes. Todos os bezerros foram testados e considerados negativos, antes da ingestão do colostro aos mesmos. Os animais do experimento foram divididos em três grupos, os pertencentes ao primeiro grupo permaneceram completamente isolados, os do segundo parcialmente isolados e do último grupo em contato direto. Os resultados obtidos foram que após ingerirem o colostro, 100% dos animais apresentaram anticorpos contra VLB dos 3 aos 6 meses de idade. Assim houve uma transferência passiva de anticorpos das mães para os bezerros, e que do 7 ao 9 meses de vida a maioria dos bezerros torna-se negativo para LEB.

Em um estudo onde foram testados bezerros entre 2 e 3 meses de idade 100% dos animais foram positivos para LEB pelo teste de ELISA. Após dois meses dos primeiros testes os animais foram retestados e apenas três apresentaram títulos baixos de anticorpos anti-VLB. Estes dados demonstraram que os bezerros foram soro-reagentes devido à ingestão do colostro, tornaram-se negativos com o desaparecimento dos anticorpos maternos. Já os animais que continuaram com anticorpos, porém com títulos baixos, deixaram dúvidas quanto à origem da soropositividade, se foi produzida por anticorpos maternos ou provocada por infecção ativa do VLB (MOLNÁR *et al.*, 1998).

O sêmen pode ser considerado uma fonte de infecção, quando ocorre a contaminação do mesmo com sangue durante a colheita. Essa contaminação é possível quando a massagem retal e das glândulas anexas do animal positivo é feita de maneira incorreta e grosseira (LUCAS *et al.*, 1980). Estudos relativamente recentes comprovam que com um manejo correto durante a colheita do sêmen de touros soropositivos, pode-se obter um ejaculado livre de VLB (CHOI *et al.*, 2002).

Acredita-se que a transmissão através de óvulos e embriões não seja possível. Em uma investigação foram examinadas 26 óvulos de 7 vacas infectadas com o VLB e 60 embriões de 20 vacas infectadas os resultados revelados foram que não houve evidências de ter VLB nos mesmos (BOUILLANT *et al.*, 1982).

No QUADRO 2 estão evidenciados os possíveis meios de transmissão vertical do VLB durante a gestação e/ou no período pós-parto.

FATORES	PERCENTUAL (%)	FATOR QUE AUMENTA A TRANSMISSÃO
Sêmen	0,00	-
Óvulo/embrião	0,00	-
No útero	4,00	Linfocitose persistente/linfossarcomas
Colostro/leite	4,00 a 16,00	Idade <4dias Ausência de anticorpos maternos

QUADRO 2 – TRANSMISSÃO DO VLB, PELA VIA VERTICAL, EM BEZERROS NO PERÍODO PRÉ-NATAL E PÓS-NATAL
 FONTE: HOPKINS E DIGIACOMO (1997)

Dentro da forma de transmissão horizontal, pode-se considerar a iatrogênica como muito importante. O vírus se mantém viável em linfócitos e a transmissão desses de uma maneira íntegra (via sangue), por materiais cirúrgicos, seringas, agulhas, tatuadores, luvas de palpação retal contaminados, foi possível ocorrer quando se reutilizam os materiais em questão sem um devido cuidado (JOHNSON; KANEENE, 1992). Em rebanhos com alta prevalência de LEB, a infecção iatrogênica foi um dos meios mais importantes (ROMERO; ROWE, 1981).

A transmissão do vírus pela palpação retal, pôde ser comprovada com o estudo realizado experimentalmente, onde os pesquisadores inoculavam uma quantidade de 2mL de sangue de animais infectados no reto de animais não infectados, simulando o diagnóstico de prenhes ou então a inseminação artificial, realizados rotineiramente nas fazendas. Todos os animais testados apresentaram anticorpos anti-VLB no sangue no período de 5 semanas da simulação (HOPKINS *et al.*, 1988).

Pode ocorrer também à transmissão pela picada de insetos hematófagos, morcegos hematófagos e carrapatos. Isto pode explicar maiores prevalências em países tropicais (CORDEIRO *et al.*, 1994).

Estudos experimentais revelaram que anticorpos contra o VLB podem ser encontrados em bovinos que foram inoculados intradermicamente com menos de 2.500 linfócitos de animais contaminados. Isso corresponde ao número de linfócitos presentes em uma quantidade muito pequena de sangue 0,0005 ml (FERRER, 1979).

Outra forma de infecção está relacionada com o contato direto de secreções de bovinos soropositivos com aqueles soronegativos. Concluiu-se que o menor período de contato de animais soro-negativos com soro-positivos, para que ocorra a soroconversão foi de dois meses. Este contágio de animal-animal pode ocorrer de

forma natural, porém requer um íntimo e prolongado contato entre os bovinos. Levando em consideração os animais que vivem separados por uma distância de aproximadamente dois metros ou mais não transmitem a infecção (STRAUB, 1978).

Em estudo realizado por Ferrer e Piper (1981), entre grupos de animais isolados completamente, parcialmente, e em contínuo contato. Os animais foram considerados soro-negativos previamente a ingestão do colostro. Após da ingestão do mesmo, apresentaram-se positivos para LEB. No decorrer do estudo, a maioria dos animais tornaram-se negativos novamente entre o 7 e 9 meses de idade. Porém o grupo de animais onde o contato foi contínuo (4/18) permaneceram positivos dos 7 ao 9 meses de vida e o número de animais positivos foi aumentando com o passar do tempo até chegar a 18/18 (100%) dos positivos entre 25 a 34 meses. Isso pode confirmar a transferência do vírus pelo contato contínuo entre eles.

Sabe-se que uma vez o vírus introduzido em um rebanho, os animais positivos passam a constituir-se uma fonte contínua de eliminação do agente causador da doença, e conseqüentemente infecção dos demais animais do rebanho (VAN DER MAATEN; MILLER, 1979).

Um estudo realizado na Califórnia examinou fatores de infecção associados ao contato entre os animais. Os bovinos foram divididos em grupos de vacas gestantes, não gestantes e em lactação. Demonstrou-se que vacas não gestantes apresentam 2,9 vezes mais risco de infecção do que as vacas gestantes (LASSAUZET *et al.*, 1991b).

A premunicação contra *Babesia sp.* e *Anaplasma sp.* exerceu um grande papel na disseminação do vírus, pois na maioria das vezes não se realiza testes de LEB nos animais doadores de sangue. Os autores ressaltaram ainda, que a realização de apenas um teste não assegurou que os animais sejam negativos para LEB. O ideal é manter os animais candidatos a doadores de sangue isolados pelo menos até a realização de dois testes de IDGA com intervalos de dois meses (FLORES *et al.*, 1992).

Os dados demonstrados no QUADRO 3 evidenciam os riscos de transmissão horizontal do vírus causador da Leucose Enzoótica Bovina.

RISCO	PROCEDIMENTOS	MANEJO REPRODUTIVO	ALOJAMENTO/CONFINAMENTO
Alto	Descorna com mesmos instrumentos. Outros procedimentos cirúrgicos permitindo a transferência de sangue. Reutilização de seringas e agulhas sem previa desinfecção.	Palpação retal com a mesma luva	Contato com sangue, tecidos, fluídos uterinos. Contato entre bezerros de rebanhos com alta prevalência de VLB.
Baixo	Brincos Tatuagens Injeções subcutâneas, intradérmicas ou intramusculares	Parto normal Inseminação artificial Transferência de embrião	Insetos hematófagos

QUADRO 3 – TRANSMISSÃO DO VLB, PELA VIA HORIZONTAL, NO PERÍODO PRÉ-NATAL E PÓS-NATAL
 FONTE: HOPKINS E DIGIACOMO (1997)

2.3 PATOGENIA

Considerando as portas de entrada do vírus, foram comprovadas por inoculação experimental as vias *oral*, intraperitoneal (MILLER *et al.*, 1972), intratraqueal, intra-uterina (ROBERTS *et al.*, 1982) intradérmica, intramuscular, subcutânea, intravenosa (ERVERMAN *et al.*, 1986), intra-retal (HOPKINS *et al.*, 1988). Assim as vias de eliminação contêm linfócitos íntegros e infectados pelo vírus, pode-se dizer que o sangue de animais soro-reagentes para LEB seguido pelo colostro e o leite faz um papel importante na transmissão VLB (JOHNSON; KANEENE, 1992).

Após a entrada do vírus no organismo do hospedeiro, o VLB tem tropismo pelos linfócitos B (AIDA *et al.*, 1989). Uma vez infectado, não se observa sinais de viremia, mesmo assim ocorre a produção de anticorpos contra as proteínas estruturais da cápsula viral (GARCIA *et al.*, 1995).

O vírus possui em seu envelope complexo glicoproteínas (GP), GP 51 e GP 30, que fazem um importante papel na infecção viral. A glicoproteína externa, GP51, uni o vírus à célula alvo (linfócito B). A glicoproteína transmembrânica, GP30, ancora o envelope do vírus na membrana plasmática da célula infectada. Ambos medeiam à fusão do vírus a célula alvo (SUZUKI; IKEDA, 1998).

Durante a infecção inicial, o DNA viral codificado (provírus) pode produzir vírions verdadeiros, escapar das células hospedeiras e infectar outras células. Porém depois da produção de anticorpos pelo organismo infectado, o vírus de uma forma se protege ficando no limbo linfocitário, pois os anticorpos do hospedeiro que circulam na corrente sanguínea podem soroneutralizar qualquer virion que escape e permaneça na mesma (REBHUN, 2000).

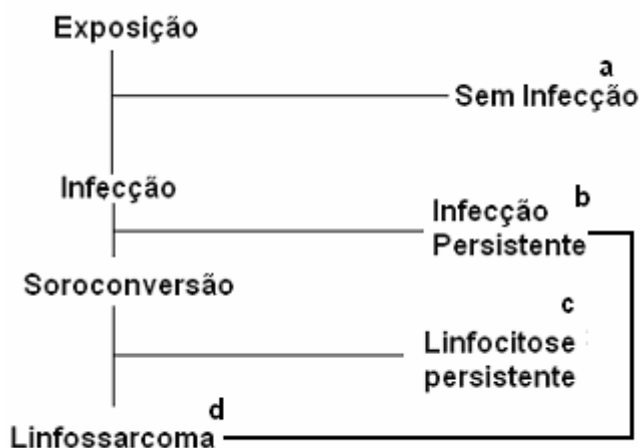
Assim o VLB estabelece uma infecção sem sinais clínicos, caracterizada pela presença de anticorpos anti-VLB, onde poucos linfócitos B são infectados. Menos de 5% das células mononucleares do sangue periférico (PBMC) possuem os provírus. A infecção persiste por toda a vida do animal, mas a evolução da doença não ocorre em 65% dos bovinos infectados (COCKRELL; REYES, 2000).

Durante os próximos 3 a 5 anos após o contato com o vírus, pode ocorrer a evolução da doença para linfocitose persistente (LP) em aproximadamente 30% dos animais. A LP é o aumento, policlonal, persistente de linfócitos B na circulação sanguínea, também considerada como uma forma benigna da doença (DEPELCHIN *et al.*, 1989).

Após 3 a 10 anos da infecção, aproximadamente 5% dos animais manifestam a forma tumoral da doença, que é fatal, ocorrendo uma proliferação monoclonal (oligoclonal) de linfócitos B, desenvolvendo os linfomas e/ou linfossarcomas (COCKRELL; REYES, 2000).

O ESQUEMA 1 exemplifica quais as conseqüências após a exposição do animal ao vírus:

- a) sem infecção, se o animal for geneticamente modificado;
- b) infecção persistente, soropositivo, sem linfocitose, sem tumores por causada resistência genética;
- c) linfocitose persistente, estado proliferativo benigno;
- d) linfossarcoma, neoplasia maligna (RADOSTITS *et al.*, 2002).



ESQUEMA 1 – REPRESENTAÇÕES DAS POSSÍVEIS CONSEQÜÊNCIAS APÓS A EXPOSIÇÃO DO ANIMAL AO VLB
 FONTE: Adaptado de RADOSTITS *et al.* (2002)

2.3.1 Ação do Sistema Imune contra o VLB

Como em qualquer infecção, o sistema imune tem uma reação contra o VLB, provocando uma resposta imune humoral e celular (LEITE *et al.*, 2004).

Os animais infectados pelo VLB e que desenvolveram Linfocitose Persistente e/ou linfossarcomas apresentaram uma menor resposta imune humoral e celular. As possíveis explicações elaboradas para explicar a menor proliferação destas células (linfócitos T), seriam que certas proteínas retrovirais atuariam como imunossupressoras e/ ou que níveis elevados de interleucina-10 (IL-10) observadas em animais com LP, teriam efeitos inibitórios nas funções das células T auxiliares e também provocariam uma alteração na relação entre linfócitos T/B (ORLIK; SPLITTER, 1996).

Na resposta humoral os anticorpos de animais infectados apresentam estruturas e reatividades biológicas alteradas, uma menor concentração de imunoglobulinas M (IgM) e também redução no número de células produtoras dessas imunoglobulinas no baço e linfonodos. O linfócito B infectado sofre uma alteração na composição de açúcares da membrana plasmática, sendo assim, os mesmos seriam eliminados durante o estágio inicial da maturação, sugerindo que isso possa interferir na produção das imunoglobulinas (BURNY, 1988).

Na LP ocorre um aumento policlonal de linfócitos B, explicando o desequilíbrio entre linfócito B e T. O aumento da população de linfócitos na infecção de bovinos pelo VLB com a LP, muda o fenótipo dos linfócitos B, pois eleva a expressão Complexo Histiocompatibilidade (MCH) classe II, IgM, CD5, receptores de interleucina 2 (IL-2R), indicando que esses elementos são ativados, no ciclo celular (MATHEISE *et al.*, 1992).

A interação entre moléculas da superfície viral a receptores celulares e os níveis elevados de interleucina 2 (IL-2), IL-2R e IL-10 observados em linfócitos isolados de animais com LP, parecem ser os desencadeadores de uma expressão gênica anormal que levaria a expressão de interleucinas e receptores celulares. Essas interleucinas estão envolvidas na proliferação e diferenciação de linfócitos B e seus níveis alteram as interações celulares levando a expansão de linfócitos B (TRUEBLLD *et al.*, 1998).

Segundo Garcia *et al.* (2002), os animais infectados pelo VLB e que não desenvolvem a forma tumoral da doença, não apresentam diminuição de sua resposta imune humoral.

2.3.2 Ações dos genes virais

Já citado anteriormente o VLB possui uma região "X" em seu material genético, onde foram codificadas quatro proteínas virais *Tax*, *Rex*, R3 e G4 (POWERS; RADKE, 1992).

A *Tax* (proteína trans-regulatória) uma proteína que ativa a transcrição viral a qual aumenta mRNAs viral, esse aumento ocorre devido ativação LTR (DERSE, 1987). Essa proteína faz um importante papel relacionado como VLB nas doenças linfoproliferativas por influenciar na expressão normal dos genes do hospedeiro (COCKRELL; REYES, 2000).

No vírus HTLV o produto do gene *Tax* ativa a transcrição de IL-2 e do IL-2R (TRUEBLLD *et al.*, 1998).

Segunda proteína citada, *Rex*, com ação pós-transcrição regula expressão viral para síntese estrutural dos genes (DERSE, 1988). Tanto a *Tax* quanto *Rex* foram indicadas como importantes na infecção viral. As outras duas proteínas R3 e G4 são consideradas genes acessórios para alguns autores, uma vez retirados do

genoma viral eles não conseguem eliminar o potencial de infecção dos provírus recombinantes (WILLEMS *et al.*, 1993).

Porém em um estudo realizado por KERKHOFS *et al.* (1998), a deleção da seqüência completa gene G4, elimina a habilidade do VLB a induzir leucemia e linfossarcoma em todos os animais infectados pelo vírus.

O modo pelo qual ocorre à transformação celular ainda não foi esclarecido, porém existem algumas hipóteses:

- a) a transformação seria a expressão transitória do gene TAX, codificando proteínas não estruturais reguladoras que funcionam, primariamente, aumentando a transcrição da região do LTR viral, mas que poderia também interferir no controle transcripcional dos genes celulares específicos envolvidos com o crescimento celular e então induzir a formação de tumores (TOMA *et al.*, 1990);
- b) a transformação celular também poderia estar relacionada com a alteração do DNA, como mutações, deleções, ampliações, translocações e outras anormalidades cromossômicas (TAVARES; PEREIRA, 1998);
- c) a transformação tumoral seria resultado da recombinação genética, que pode ocorrer durante a integração, entre o genoma viral e um oncogene celular que passaria a ser parte do genoma celular. Essa hipótese é a menos aceita, uma vez que a integração ao genoma celular ocorre aleatoriamente (TAVARES; PEREIRA, 1998).

Sabe-se também que a célula infectada pelo VLB esquiva-se da apoptose celular, promovendo assim a mutação do gene p53 (gene que promove a apoptose celular) e aumentando a expressão do gene bcl-2 (gene que previne a apoptose celular). A proteína Tax-viral que promove o aumento da expressão do proto-oncogene (gene que promove o crescimento celular), inativa as proteínas codificadas pelo gene supressor tumoral (gene que controla o crescimento celular), como já descrito anteriormente atua na transcrição de receptores de citocinas (IL-2) e aumenta a velocidade de transcrição viral pela ativação do LTR (SCHALM *et al.*, 2000).

2.4 DIAGNÓSTICO

Os primeiros estudos realizados para tentar estabelecer formas de diagnóstico e também de controle da doença foram realizados no continente Europeu (KNUTH; VOLKMANN, 1916). Estes autores ao estudarem as alterações hematológicas causadas pela doença, constataram que tanto os animais portadores de linfossarcomas, quanto os aparentemente saudáveis, apresentavam uma alteração no sangue com leucocitose e acentuada linfocitose, além do aparecimento de linfócitos atípicos no sangue periférico do animal. Tal fato permitiu um diagnóstico prévio da doença baseado em chaves leucométricas e em estudo de atipias linfocitárias.

Na Europa foram estabelecidas chaves leucométricas, que facilitaram o diagnóstico da doença pelos clínicos, e assim possibilitaram o controle da doença em países como a Alemanha e Dinamarca (GÖTZE *et al.*, 1954; BENDIXEN, 1961; TOLLE, 1965). Porém as mesmas não foram aplicadas em animais criados em condições climáticas subtropicais, como o Brasil, uma vez que, o quadro leucocitário sofre influências raciais, alimentares e de forma de manejo como, por exemplo, a premunição contra *Babesia* e *Anaplasma* realizadas freqüentemente no nosso país (BIRGEL *et al.*, 1974).

No Brasil o comportamento de leucogramas de bovinos positivos, foi inicialmente estudado por Alencar Filho (1970), Birgel *et al.* (1974) seguido de Modena (1981), Alencar Filho *et al.* (1981) entre outros autores. Com o passar dos anos os estudos foram se aprofundando e vários autores brasileiros estudaram o diagnóstico da LEB através de exames hematológicos em bovinos suspeitos (BIRGEL *et al.*, 1988a; GARCIA, 1989; GARCIA *et al.*, 1990/1991b).

Segundo Birgel (1982), as chaves leucométricas perdem valor de diagnóstico, pois detectam apenas 61,5% dos casos positivos. Este problema foi questionado por outros autores, pois muitas vezes não foram encontradas diferenças significativas entre o número de linfócitos de animais regentes e não regentes (SCARCI, 1980; RIBEIRO, 1987).

Todavia, quando Miller *et al.* (1969), isolaram pela primeira vez o VLB, houve possibilidade de novos estudos para que relacionado com pesquisas imunossorológicas dos anticorpos produzido pelo bovino contra proteínas estruturais

do VLB, como p24 e GP51, fossem realizados, possibilitando assim, novas formas de diagnóstico.

Então vários tipos de diagnósticos imunossorológicos surgiram relacionados com a produção de anticorpos contra o VLB. Entre eles pode-se citar: a Imunodifusão em gel de ágar – IDGA (MILLER; OLSON, 1972), fixação de complemento (MILLER; VANDER MAATEN, 1976), soroneutralização (FERRER et al., 1976), radio-imunoensaio (MACDONALD; FERRER, 1976) ensaio imunoenzimático- ELISA (ALTANER *et al.* 1982), PCR (AGRESTI *et al.* 1993).

Apesar de inúmeras técnicas citadas é importante ressaltar que as técnicas aceitas como teste padrão ouro de diagnóstico pelo “Office International Des Epizooties”, são os testes de IDGA utilizado em soro bovino e ELISA para soro e leite bovino (OIE, 2007b).

A primeira prova sorológica de diagnóstico para LEB foi a imunodifusão radial dupla de Ouchterlony com o antígeno p24 viral, porém a prova apresentava problemas de sensibilidade. Este fato não foi um empecilho para que a mesma fosse difundida em muitos países (MILLER; OLSON, 1972).

Segundo Ferrer *et al.*, (1977), muitos animais infectados não possuíam os anticorpos anti p24 levando a conclusão que estes animais não eram considerados positivos no IDGA. Ao mesmo tempo outros estudiosos pesquisavam uma alternativa para melhorar a sensibilidade do teste de IDGA. Apresentaram então, a purificação de outra proteína viral GP51 que apresentava uma maior sensibilidade que a p24 (ONUMA *et al.* 1975).

O teste de IDGA utilizando o antígeno da GP51, após a década de 80, foi difundido em todo o mundo, com finalidade de realizar estudos epidemiológicos e o controle da doença (JOHSON; KANEENE, 1992).

Alguns pontos negativos foram levantados sobre o diagnóstico da LEB pelo teste de IDGA: o teste não teria a sensibilidade de detectar animais com baixos títulos de anticorpos; animais infectados recentemente; vacas gestantes próximos de três semanas que antecedem o parto; vaca a duas semanas de puerpério, explicado por um desvio de imunoglobulinas para a glândula mamária (FERRER, 1979, BURRIDGE *et al.* 1982b, HÜBNER *et al.* 1996, ERVERMAN; JACKSON, 1997). Outro problema do teste foi que o mesmo, não teria a capacidade de diferenciar anticorpos transferido passivamente para os bezerros via colostro de anticorpos de uma infecção ativa (BURRIDGE *et al.*, 1982a; VAN DER MAATEN; MILLER, 1990).

Apesar das desvantagens, este método de diagnóstico é usado ainda hoje e por muitos pesquisadores, devido sua praticidade e menor custo quando comparamos com o teste de ELISA, por exemplo, que é também recomendado pela OIE.

2.5 PREVALÊNCIA

A Alemanha, onde a doença foi originalmente descrita, um estudo realizado em 1983 apresentou que a prevalência de LEB foi de 0,05%, porém atualmente a mesma está erradicada (TIERSEUCHENBERICHT, 1983; RADOSTITS *et al.*, 2002).

Outros países da Europa apresentaram estudo da prevalência da doença, Bélgica 28,60%, Mammerikcx *et al.*, (1978); França 0,06%, Nougayrede *et al.* (1978); Áustria 2,2%, Burki, (1982); Grécia 0,02%, Dimitriades e Artavanis (1984); Hungria 19,39%, Tekes *et al.* (1984); Bulgária 22,26%, Sandev *et al.* (2006). Alguns outros países como Irlanda, Itália, Grã-Bretanha, Portugal relataram a existência da doença (KAVANAGH, 1978; RUTILI *et al.*, 1978; CHASEY *et al.*, 1978; COSTA DURÃO, 1978).

No Oriente médio um trabalho feito em Israel apresentou uma prevalência de 24,00% dos animais estudados (BRENNER *et al.*, 1986). Em outro trabalho asiático realizado no Japão houve uma prevalência de 36,20% de soro-reagentes para VLB (ONUMA *et al.*, 1978/1979).

Na Oceania destacam-se os estudos feitos na Austrália com 13,00% de bovinos soro-reagentes (DIMMOCK *et al.*, 1991), na Nova Zelândia com 0,30% de animais reagentes (PARRISH *et al.*, 1982) e por fim Papua Nova Guiné com 5,50% de animais estudados positivos (WERNERY; SCHMIDT, 1985)

No que se refere à África, em estudo realizado na Etiópia, num total de 204 amostras colhidas, 43 (21,00%) apresentaram anticorpos contra VLB (HEINONEN; ASSEFA, 1995). Um estudo sorológico realizado na região do Alto Egito, devido aos animais apresentarem LEB (perda de peso, paresia dos membros pélvicos, exoftalmia), concluiu que 37,7% dos animais menores que dois anos, e 72,7% dos animais maiores que dois anos foram considerados positivos VLB (ZAGHAWA *et al.*, 2002).

Na América do Norte, em estudo realizado nos Estados Unidos a prevalência foi de 47,80% dos animais analisados (BURRIDGE *et al.*, 1981). Segundo o National Animal Health Monitoring Surveillance (NAHMS) dos EUA a prevalência da LEB aumentou de 10,00% em 1975 para 43,00% em 1997 (NAHMS, 1997). Já o México apresentou uma prevalência de LEB 36,20% dos animais analisados (SUZAN *et al.*, 1983).

Vanleeuwen *et al.*, (2001), realizaram estudos nos estados canadenses de New Brunswick (NB), Nova Scotia (NS), e Prince Edward Island (PEI), correspondente à região da Maritime, um trabalho relacionado aos agentes que causam limitações na produção leiteira, entre eles o VLB. Os resultados da soroprevalência foram 28,7%, 16,1% , 16,6% em NB, NS e PEI, respectivamente. Um segundo trabalho Canadense, porém com rebanhos leiteiros do Estado de Saskatchewan com 1530 amostras de 51 rebanhos, chegou a resultados que 37,4% dos animais eram soro-positivos para LEB. Sendo 89,1% dos rebanhos apresentavam no mínimo um animal positivo e 81,2% dos rebanhos analisados apresentavam no mínimo dois animais positivos (VANLEEUVEN *et al.*, 2005). Um terceiro trabalho realizado no Canadá por Vanleeuwen *et al.* (2006), com bovinos leiteiros e bovinos de corte de Manitoba, utilizando 1204 amostras de vacas leiteiras e 1425 amostras de vacas de corte, apresentou um índice de positividade para LEB de 60,8% e 10,3% respectivamente. Em outro trabalho realizado por Scott *et al.* (2006), analisaram 77 rebanhos leiteiros de Alberta no Canadá, totalizando 2.814 amostras. O índice de animais reagentes foi de 26,90%. Já o índice de animais submetidos à primeira e segunda lactação foi de 19,80% e 28,90%, respectivamente.

Na América Central um trabalho realizado na Costa Rica, obteve resultados da prevalência de 27,80% (DUCREAUX *et al.*,1987).

Em estudos Sul Americanos, segundo Brunel *et al.* (1981), a Argentina apresentou 50,00% de animais infectados pelo VLB e a Colômbia 45,28 % (ALFONSO *et al.* 1998). Na Venezuela 49,10% dos animais analisados foram positivos para LEB (MARIN *et al.* 1978).

Na FIGURA 2 está demonstrando alguns trabalhos de prevalência da doença distribuídos no mapa Mundi segundo país, ano, percentual, e autor.

No Brasil o primeiro relato da doença foi feito por Rangel e Machado (1943) e nesse trabalho os autores descreveram neoplasias em animais domésticos no estado de Minas Gerais, relatando assim, 4 casos de linfossarcomas em bovinos.

Um relato publicado por Merkt *et al.* (1959), no estado do Rio Grande do Sul, pode ser o primeiro relato publicado oficialmente de um diagnóstico clínico da LEB em uma vaca criada em rebanho brasileiro. No mesmo ano Santos *et al.* (1959), descreveram a ocorrência de um caso de linfossarcoma em um bovino importado, no estado do Rio de Janeiro.

Lima *et. at.* (1980), no Rio Grande do Sul analisaram amostras soros sanguíneos e de sangue total com EDTA de animais importados do Uruguai e da Argentina. O diagnóstico da doença foi realizado de duas maneiras, pelas Chaves Leucométricas e pelo teste de imunodifusão em placa. Os autores chegaram à conclusão que, das 106 amostras testadas pelo método hematológico 54,7% foram negativas, 22,7% o resultado foi duvidoso e 22,7 % das amostras foram positivas. No método de imunodifusão 67% das amostras foram consideradas negativas e 33% das amostras positivas. Concluíram também, que a maior positividade ocorreu com método sorológico.

No mesmo ano outro trabalho foi realizado no Rio Grande do Sul, os autores ao testar 385 amostras de soro sanguíneo através do método de diagnóstico de imunodifusão em gel de ágar, encontraram 73/385 (18,9%) dos soros testados foram considerados soro-reagentes (SCARCI *et al.*, 1980).

No Rio Grande do Sul em estudo realizado por Gomes *et al.* (1985), foi constatado que 229/702 (32,62%) eram positivos, estando assim, a infecção presente em 89/970 (82,35%) das propriedades testadas e 23/24 (96%) dos municípios testados.

Em levantamento feito em Santa Maria - RS, foram testadas 639 amostradas sanguíneas de bovinos de propriedades leiteiras, pela técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), sendo que 91/639 (14,2%) das amostras mostraram-se positivas e 32/76 (42,1%) das propriedades testadas positivas (FLORES *et al.*, 1988).

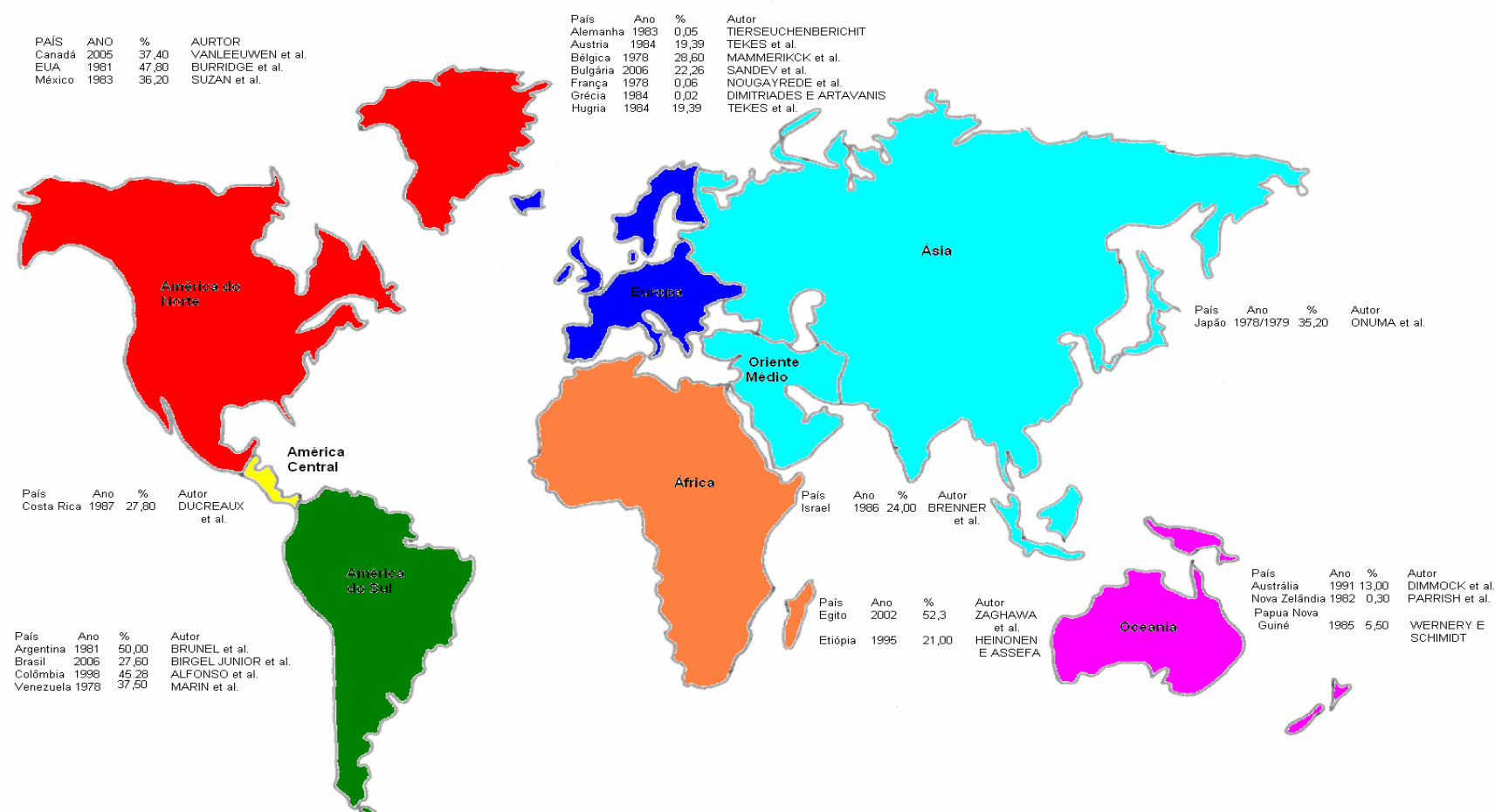


FIGURA 2 – ILUSTRAÇÃO DO MAPA MUNDI, APRESENTAÇÃO DE ALGUNS TRABALHOS REALIZADOS SOBRE A PREVALÊNCIA DE LEUCOSE NO MUNDO SEGUNDO PAÍS, ANO, PERCENTUAL E AUTOR
 FONTE: O AUTOR (2008)

Flores *et al.* (1990), efetuaram um levantamento epidemiológico na região central do estado do Rio Grande do Sul, e analisaram 1038 amostras sanguíneas de 135 propriedades de 18 municípios. Identificaram 215/1038 (20,71%) de amostras positivas para LEB e 59/135 (43,7%) das propriedades testadas foram consideradas positivas. Os níveis de positividade variaram de zero a 89,2% do rebanho adulto. Em 20 propriedades positivas foi feita uma segunda coleta 80 dias após a primeira e 32 animais que correspondem a 6,9%, soroconverteram e o índice de positividade aumentou de 27,2% para 34,7%.

Flores *et al.* (1992), realizaram um estudo com animais provenientes da República Oriental do Uruguai. Concluíram que 103/1278 (8,06%) eram positivas para à IDGA.

Moraes *et al.* (1996), fizeram um levantamento sorológico nos rebanhos leiteiros do estado do Rio Grande do Sul, com um total de 39.799 amostras coletadas em 4.200 propriedades de 172 municípios, distribuídos em 9 regiões geográficas. Concluíram que 3.645/4.200 (9,2%) das amostras foram positivas, porém levando-se em conta a prevalência média do estado, quando foi considerado no trabalho, 1% da população bovina de cada região, 1.295/10.357 (12%) e 385/1.321 (29,1%) das propriedades apresentaram pelo menos um animal positivo.

Van Der Maaten *et al.* (1999), confirmaram os resultados anteriores realizados por Flores *et al.* (1992), analisando 19.779 amostras de soro de animais provenientes do Uruguai. Encontraram um resultado de 3.225/19.779 (6,3%) de animais positivos, indicando a necessidade de assegurar a importação de animais negativos para VLB e implantação de medidas de controle no Brasil.

Em um estudo realizado em rebanhos leiteiros do município de Passo Fundo-RS para avaliar a presença de agentes virais e bacterianos. Uma das doenças avaliadas foi a Leucose Enzoótica Bovina. Os resultados obtidos foram que em 22/28 (92,85%) das propriedades avaliadas apresentaram animais sororreagentes em seu rebanho. Dos 204 animais avaliados 48 (23,53%) dos animais foram soro-reagentes (POLETTTO *et al.*, 2004).

Cordeiro *et al.* (1994), no Estado de Santa Catarina, analisaram 34 amostras de soro bovino de animais com aptidão leiteira e 12/34 (35,0%) apresentaram-se positivos pelo exame de imunodifusão em gel de ágar.

Luders (2001) relatou a prevalência dos anticorpos contra o VLB no município de Mafra no estado de Santa Catarina. Das 129 propriedades testadas, 14

foram consideradas positivas, o que correspondem a 10,85% delas. Das amostras testadas, 19/250 (7,6%) apresentaram anticorpos contra o VLB, sendo que as amostras foram coletadas de animais com 2 anos de idades e descendentes de vacas importadas do Uruguai.

Os primeiros relatos da doença no Paraná foram descritos por Diniz *et al.* (1980), ao descrever achados anatomopatológicos de necropsias realizadas em bovinos de origem canadense. Dois anos após, Kantek *et al.* (1982), de um total de 482 animais importados do Uruguai, analisaram 60 vacas. Concluíram que 11/60 (18,3%) das vacas apresentavam anticorpos anti-VLB.

Kantek *et al.* (1983), realizaram um trabalho com 695 amostras e encontraram índices de 144/695 (20,7%) na prevalência da doença, e 75/184 (40,7%) das propriedades testadas foram consideradas positivas. As maiores prevalências ocorreram em regiões onde a bovinocultura leiteira tem maior influência econômica no estado. O índice foi maior nos animais mais velhos e naqueles da raça Holandesa.

No mesmo estado Carvalho *et al.* (1996), analisaram a prevalência em animais da raça Holandesa Preta e Branca e zebuínos da raça Nelore criados no pólo regional de Londrina. A prevalência obtida dos animais da raça Holandesa Preta e Branca foi de 69/374 (18,4%), e nos rebanhos da raça Nelore nenhum animal reagiu positivamente. Analisando as propriedades, 5/14 (35,7%) foram positivas. A prevalência foi maior em rebanhos produtores de leite tipo B 54/197 (27,4%) comparando com rebanhos de leite tipo C 15/177 (8,5%).

Na avaliação de 624 soros de animais produtores de leite tipo B na região Norte do estado do Paraná, 254/624 (40,7%) dos animais testados para LEB foram positivos, distribuídos em 23/23 (100%) dos rebanhos analisados. Animais com idade superior a 2 anos, apresentavam risco de infecção de 2,7 vezes maior que animais com idades inferiores. Ao avaliarem o tamanho do rebanho os autores concluíram que em rebanhos com menos de 100 animais a prevalência é estatisticamente superior (LEUZZI JÚNIOR *et al.*, 2003).

Modena *et al.* (1983), realizaram trabalho com animais importados dos Estados Unidos e do Canadá, com finalidade de melhoramento genético. Os 100 animais importados considerados livres de VLB pelos países de origem, ao chegar foram divididos em dois grupos um de 60 animais que foi destinado ao estado de São Paulo e que não participou do presente trabalho e outro com 40 animais foram

enviados ao estado de Minas Gerais e esses foram testados para LEB. O resultado observado na primeira coleta de que 5/40 (12,5%) eram positivos, contrariava assim os resultados dos países de origem, portanto os animais foram submetidos a mais três coletas subseqüentes. Os autores observaram o aumento positividade a cada coleta 37,85% para 43,2% e para 80% de animais. Este fato comprovou que animais importados podem ser fontes de infecção para os rebanhos do Brasil.

LEITE *et al.* (1984), acompanharam durante um ano, 230 bovinos da raça Holandesa Preta Branca do estado de Minas Gerais. Verificaram que 163 (70,9%) dos animais eram positivos para a LEB e 4 manifestaram a forma clínica da doença durante o período do estudo.

No mesmo ano do estudo anterior MODENA *et al.* (1984), estudaram 11 rebanhos bovinos de alta linhagem no estado de Minas Gerais. Das 2.926 amostras, 26,69% foram consideradas positivas. De 8 rebanhos leiteiros 527/1274 (41,37%) dos bovinos foram positivos, e de 3 rebanhos de animais de corte 254/1652 (15,38%) foram positivos.

Na região Zona da Mata de Minas Gerais, 317 soros foram testados pelo teste de IDGA e das 7 microrregiões estudadas. Obtiveram prevalências de 11,76% a 52,38%, tendo uma média de 28,39% de soros positivos (Santos *et al.*, 1985).

Camargos *et al.* (2002), determinaram a prevalência da LEB de bovinos em diferentes idades e aptidões, proveniente de 23 fazendas do estado de Minas Gerais, observando uma prevalência de 38,7% de animais positivos no sistema de produção de leite tipo C. Em sistemas de produção de leite tipo A/B, a freqüência geral foi de 56,8% e em animais de corte a freqüência geral é de 2,5%. Sendo as freqüências mais altas nos animais de maiores ou iguais a 30 meses, fato este, que ocorreu em todos os sistemas de produção.

No Rio de Janeiro os relatos de levantamentos sorológicos são do início da década de oitenta. Romero e Rowe (1981) utilizaram 1.290 fêmeas e 154 machos de 12 propriedades leiteiras do estado, observando que 701/1290 (54,34%) fêmeas e 68/154 (44,2%) machos positivos para LEB. Cunha *et al.* (1982) testaram 746 soros na prova de imunodifusão, concluindo que 201 soros testados foram positivos para LEB, demonstrando que a doença está disseminada em diferentes microrregiões do estado.

Foram analisados 40 soros de vacas holandesas dos municípios de Santa Rita de Passa Quatro, Nova Odessa e São Miguel Arcanjo no estado de São Paulo.

Os resultados foram 24/40 (60%) dos animais positivos e durante o trabalho um dos animais manifestou a doença clinicamente (ALENCAR FILHO, 1978).

Alencar Filho *et al.* (1979), testaram 1013 soros e a maioria dos soros eram de animais da raça Holandesa Puro de Origem (P.O.) Preto e Branco, mestiço de Holandês Vermelho e Branco com Zebu (Mantiqueira) e alguns animais da raça Fleckvieh, Gelbevieh, Chianina, Schwitz, Santa Gertrudes (mestiços), Nelore, Gir e Guzerá. Trezentas e sessenta e uma amostras foram consideradas reagentes o que representou 361/1013 (35,6%) das amostras, sendo que em uma propriedade onde ocorreram casos clínicos da doença a infecção atingiu 16/20 (80%) dos animais.

Birgel *et al.*, (1983), analisaram 292 amostras de soro sanguíneo de bovinos de aptidão leiteira e animais adultos. Os resultados obtidos foram que 157/292 (53,8%) dos animais eram soro-reagentes à IDGA.

Cinco anos após foram publicados no Estado de São Paulo dois trabalhos, cujo tema era a leucose bovina (BIRGEL *et al.*, 1988a; BIRGEL *et al.*, 1988b). No primeiro os autores analisaram 462 amostras de soro sanguíneo pertencente a animais produtores de leite tipo B, no qual 243 (52,6%) dos animais foram considerados soro-reagentes. No outro 1.722 animais foram analisados e 774 (44,9%) apresentaram-se positivo ao teste de IDGA.

Em outro estudo feito em São Paulo, Birgel *et al.* (1991), concluíram que 42,9% dos bovinos leiteiros da raça Holandesa infectados. Em outra pesquisa Birgel *et al.* (1994), com bovinos da raça Nelore do estado de São Paulo, chegaram ao resultado 20/482 (4,15%) de animais positivos submetidos ao exame sorológico de IDGA. Os autores concluíram que o manejo dos animais influencia na incidência da doença, visto que os animais com um manejo mais intensivo (bovinos leiteiros) apresentam uma maior prevalência da doença, comparando com os que têm manejo extensivo (bovinos de corte).

Birgel Júnior *et al.* (1995), determinaram a prevalência da infecção do VLB em animais da raça Jersey no estado de São Paulo. Dos soros testados por IDGA, 360/709 (50,8%) foram considerados positivos, observaram também que os animais de maiores prevalências tinham mais que 72 meses de idade.

Oliveira *et al.* (1997), analisaram 1448 soros, concluíram que até os seis meses os machos 3/14 (21,42%) apresentavam uma prevalência maior que as fêmeas 4/60 (6,66%), ocorreram aumento na soropositividade aos 54, 78, 108 meses para os machos e 18, 36, 54 e 114 meses para as fêmeas.

Com uma amostragem de 978 soros sanguíneos de vacas da raça Holandesa de fazendas leiteiras do estado de São Paulo, D'Angelino *et al.* (1998), dividiram os animais em grupos por idade e por origem (nacional ou importado). Obtiveram uma média geral de 523/978 (54%) de amostras positivas e uma variação 22/84 (26%) dos animais até 6 meses de idade e 120/170 (71%) nos animais com idade maior ou igual a 60 meses. Na divisão por origem os animais importados 25/38 (66%) apresentaram uma soropositividade maior que a dos animais nacionais 420/788 (53%).

Em um trabalho realizado por Megid *et al.* (2003), na microrregião da Serra de Botucatu (SP), de 1196 amostras analisadas, 618 foram reagentes para o VLB. Em Laranjal Paulista, um dos municípios analisados, 55/142 (39%) foram sororreagentes, e a variação de propriedades positivas nessa cidade foi de 0 -100%, sendo o único município que apresentou propriedade negativa.

Birgel Junior *et al.* (2006), realizaram um trabalho com animais da raça Simental no Estado de São Paulo, 476 amostras foram analisadas pelo método de IDGA utilizando o antígeno glicoprotéico (GP51) do envelope viral. A taxa de prevalência de portadores de anticorpos anti-Vírus da Leucose Enzoótica Bovina foi de 44/476 (9,24%), sendo 6/7(85,7%) dos rebanhos estudados apresentaram animais sororreagentes.

Na Região Centro-Oeste do país em trabalho realizado em Goiás por Andrade e Almeida (1991), foram examinadas 670 amostras de soros sanguíneos de bovinos de 55 propriedades, localizadas em 18 municípios da bacia leiteira de Goiânia. Os resultados encontrados foram 46% de animais reagentes para raça Holandesa, 36,5% para mestiços Holandês/Zebu, 39,1% para "gado comum", 25% para Gir e 13,2% para Nelore, os animais da raça Simental e Caracu não apresentaram reação para VLB.

No estado do Amazonas, amostras colhidas em 16 rebanhos leiteiros em quatro municípios da Microrregião de Manaus, a prevalência da doença foi de 8,9% em animais acima de 6 meses e 9,6% em animais abaixo de 6 meses. O aumento da prevalência em animais mais jovens nesse estudo, segundo a discussão dos autores, foi devido à passagem de anticorpos via colostro e/ou leite (CARNEIRO *et al.*, 2003).

Molnár *et al.* (1999), realizaram estudo no Estado do Pará pelo método de IDGA e ensaio imunoenzimático (ELISA) indireto, paralelamente. Concluíram que

174/668 (26%) dos animais foram considerados positivos pelo teste da IDGA e 359/721 (49,8%) pelo teste de ELISA, nos 14 grupos estudados pelo ELISA indireto foram positivos, enquanto que em 2 grupos o IDGA não apresentou soropositividade.

Em outro trabalho realizado na região norte com 1060 bovinos em Rondônia e 1060 no Acre, com animais de corte, leite e misto, Abreu *et al.* (1990), os resultados obtidos foram de 23% e 9,7% de positividade respectivamente.

Nos estados do Nordeste podemos relatar o trabalho realizado em rebanhos leiteiros criados na região do Pólo de Itabuna no estado da Bahia. A maioria das amostras coletadas era de animais de raças zebuínas e algumas amostras de rebanhos de raça européias, somando assim 10 rebanhos de bovinos analisados. No total de 7.093 animais presentes nos rebanhos, 1084 foram escolhidos aleatoriamente para serem analisados. A infecção pelo VLB foi detectada em 7 (70%) dos rebanhos e a prevalência de 174/1084 (16,1%) dos animais testados (TÁVORA; BIRGEL, 1991).

Matos *et al.* (2005), realizaram um trabalho em animais de aptidão leiteira, criados na Bahia, dos 796 animais analisados 326 (41,0%) foram soro-reagentes para o VLB.

Melo *et al.* (1991), observaram a prevalência de 195/45 (23,1%) em animais da raça Holandesa e 323/27 (8,4%) em animais mestiços Holandês/Zebu, no estado de Pernambuco.

Simões (1998), no estado de Paraíba, encontrou a prevalência de 65 /780 (8,3%) de soropositividade em bovinos de aptidão leiteira.

No estado do Ceará Abreu *et al.* (1994), testaram 3.430 amostras pra LEB de animais Zebu cruzado com raças taurinas e obteve uma positividade de 244 (24,5%) das amostras.

Silva (2001), em sua tese de doutorado analisou 1.976 amostras sangues de bovinos mestiço holandês / zebu e raça pé-duro do estado do Piauí, tendo 333/1976 (16,9%) de positividade. Observou também que 100% dos rebanhos de animais mestiço holandês/ zebuínos e 40% dos rebanhos da raça pé-duro foram positivos para LEB.

A FIGURA 3 demonstra os estados que apresentam estudos da prevalência da LEB, os que têm focos da doença e os que não tem informações.

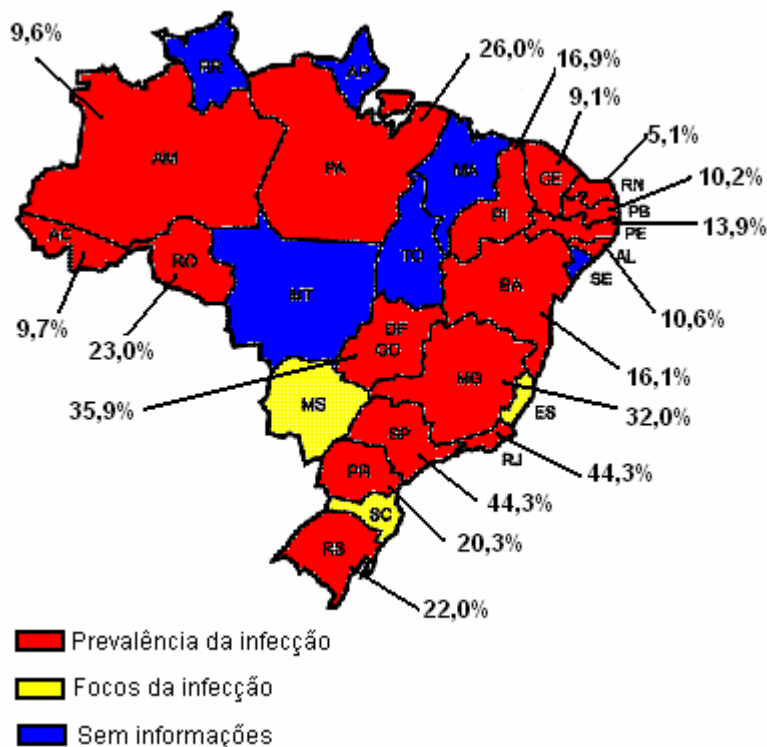


FIGURA 3 – DEMONSTRAÇÃO DO MAPA DO BRASIL COM AS PREVALÊNCIAS DA LEB, EM PORCENTAGEM, NOS ESTADOS ONDE FORAM REALIZADOS LEVANTAMENTOS SOROLÓGICOS

FONTE: Adaptado de BIRGEL JUNIOR *et al.* (2006)

Na TABELA 1 representa um resumo dos trabalhos de prevalência realizados no Brasil até 2006.

TABELA 1 – OCORRÊNCIA DE LEUCOSE ENZOÓTICA EM BOVINOS NAS REGIÕES, SUL, SUDESTE, CENTRO-OESTE, NORDESTE E NORTE DO BRASIL, SEGUNDO AUTOR, ANO, LOCAL, TÉCNICA, RAÇAS OU APTIDÃO ZOOTÉCNICA DOS ANIMAIS (CONTINUA)

Autores/Região	Ano	Estado	nº total de soros	Total de negativos	% de negativos	Total de Positivos	% de positivos	Técnica	Raça ou aptidão Zootécnica dos animais
Região Sul									
KANTEK <i>et al.</i>	1982	PR	60	49	81,67	11	18,3	IDGA	Leiteira
KANTEK <i>et al.</i>	1983	PR	695	551	79,3	144	20,7	IDGA	Leiteira
CARVALHO <i>et al.</i>	1996	PR	374	305	81,6	69	18,4	IDGA	Holandês
			611	611	100	0	0,0	IDGA	Nelore
LEUZZI JUNIOR <i>et al.</i>	2003	PR	624	370	59,3	254	40,7	IDGA	Leiteira tipo B
CORDEIRO <i>et al.</i>	1994	SC	34	22	65,0	12	35,0	IDGA	Leiteira
LUDERS	2001	SC	250	231	92,4	19	7,6	IDGA	Holandês e mestiço
LIMA <i>et al.</i>	1980	RS	106	71	63,0	35	33,0	IDGA	Holandês
SCARCI <i>et al.</i>	1980	RS	385	312	81,0	73	18,9	IDGA	Não foi citado
GOMES <i>et al.</i>	1985	RS	702	473	67,4	229	32,6	IDGA	Leiteira
FLORES <i>et al.</i>	1988	RS	639	548	85,8	91	14,2	IDGA	Leiteira
FLORES <i>et al.</i>	1990	RS	1.038	823	79,3	215	20,7	IDGA	Leiteira
FLORES <i>et al.</i>	1992	RS	1.278	1.175	91,9	103	8,1	ADID	Leiteira e Corte
MORAES <i>et al.</i>	1996	RS	39.799	36.154	90,8	3.645	9,2	IDGA	Leiteira
VAN DER LAAN <i>et al.</i>	1999	RS	19.774	16.549	83,7	3.225	16,3	IDGA	Leiteira
POLLETO <i>et al.</i>	2004	RS	204	156	76,5	48	23,5	IDGA	Leiteira
Região Sudeste									
LEITE <i>et al.</i>	1980	MG	201	60	29,86	141	70,14	IDGA	Leiteira
LEITE <i>et al.</i>	1984	MG	230	67	29,1	163	70,9	IDGA	Leiteira
MODENA <i>et al.</i>	1984	MG	2926	2145	73,31	781	26,69	IDGA	Leiteira e corte
SANTOS <i>et al.</i>	1985	MG	317	227	71,6	90	28,4	IDGA	-----
CAMARGOS <i>et al.</i>	2002	MG	1059	751	70,92	308	29,08	ADIG	Leiteira tipo C, A/B e Corte
ROMERO e ROWE	1981	RJ	1.444	675	46,7	769	53,3	IDGA	Leiteira
CUNHA <i>et al.</i>	1982	RJ	746	545	73,1	201	26,9	IDGA	Mestiço holandês/Zebu
ALENCAR FILHO	1978	SP	40	16	60	24	60,0	IDGA	Holandês
ALENCAR FILHO <i>et al.</i>	1979	SP	1.013	652	64,4	361	35,6	IDGA	Leite e corte
BIRGEL <i>et al.</i>	1983	SP	292	135	46,2	157	53,8	IDGA	Leiteira
BIRGEL <i>et al.</i>	1988a	SP	462	219	47,4	243	52,6	IDGA	Leiteira tipo B
BIRGEL <i>et al.</i>	1988b	SP	1.722	948	55,1	774	44,9	IDGA	Leiteira
BIRGEL <i>et al.</i>	1991	SP	2.708	1.546	57,1	1.162	42,9	IDGA	Leiteira

TABELA 1 – OCORRÊNCIA DE LEUCOSE EZOÓTICA EM BOVINOS NAS REGIÕES, SUL, SUDESTE, CENTRO-OESTE, NORDESTE E NORTE DO BRASIL, SEGUNDO AUTOR, ANO, LOCAL, TÉCNICA, RAÇAS OU APTIDÃO ZOOTÉCNICA DOS ANIMAIS (CONCLUSÃO)

Autores/Região	Ano	Estado	nº total de soros	Total de negativos	% de negativos	Total de positivos	% de positivos	Técnica	Raça ou aptidão Zootécnica dos animais
Região Sudeste									
ARITA <i>et al.</i>	1992	SP	2.187	1.832	83,8	355	16,2	IDGA	Leiteira
BIRGEL <i>et al.</i>	1994	SP	482	462	95,85	20	4,15	IDGA	Nelore
BIRGEL JUNIOR <i>et al.</i>	1995	SP	709	360	50,8	349	49,2	IDGA	Jersey
BIRGEL JUNIOR <i>et al.</i>	2006	SP	476	432	90,76	44	9,24	IDGA	Simental
OLIVEIRA <i>et al.</i>	1997	SP	1.448	987	68,2	461	31,8	IDGA	Holandês
D'ANGELINO <i>et al.</i>	1998	SP	978	455	46,0	523	54,0	IDGA	Holandês
MEGID <i>et al.</i>	2003	SP	1.193	575	48,2	618	51,8	IDGA	Mestiço holandês/zebu
Região Centro-Oeste									
ANDRADE e ALMEIDA	1991	GO	63	34	54,0	29	46,0	IDGA	Holandês
			416	264	63,5	152	36,5	IDGA	Mestiços holandês/zebu
			45	28	62,1	17	37,9	IDGA	Gir
			87	53	60,8	34	39,2	IDGA	Comum
			53	46	86,8	7	13,2	IDGA	Nelore
			5	5	100	0	0	IDGA	Simental
			1	1	100	0	0	IDGA	Caracu
Região Nordeste									
TÁVORA e BIRGEL	1991	BA	1.084	910	83,9	174	16,1	IDGA	Leiteira
MATOS <i>et al.</i>	2005	BA	796	470	59,0	326	41,0	IDGA	Leiteira
MELO <i>et al.</i>	1991	PE	195	150	76,9	45	23,1	IDGA	Holandês
			323	296	91,6	27	8,4	IDGA	Mestiço holandês/zebu
SIMÕES	1998	PB	780	715	81,7	65	8,3	IDGA	Leiteira
SILVA	2001	PI	1.976	1643	83,1	333	16,9	IDGA	Mestiço holandês/ zebu
ABREU <i>et al.</i>	1994	CE	3.430	2588	75,5	842	24,5	IDGA	Raça pé duro
									Zebu / Raças taurinas
Região Norte									
ABREU <i>et al.</i>	1990	RO	1.060	816	77,0	244	23,0	IDGA	Carne, leite e misto
		AC	1.060	957	90,3	103	9,7	IDGA	Carne,leite e misto
MOLNÁR <i>et al.</i>	1999	PA	668	494	74,0	174	26,0	IDGA	Leiteira e corte
		PA	721	362	50,2	359	49,8	ELISA**	Leiteira e corte
CARNEIRO <i>et al.</i>	2003	AM	604	546	90,4	58	9,6	IDGA	Leiteira

*IDGA= Imunodifusão em gel de ágar **ELISA= Ensaio Imunoenzimático

FONTE: ADAPTADO DEL FAVA E PITUCO (2003)

2.6 PREJUÍZOS ECONÔMICOS

Os prejuízos vão além do descarte dos animais pela doença clínica (linfossarcomas). Compreendem também as barreiras internacionais de comércio de animais, sêmen e embriões de animais soropositivos, a diminuição da produção de leite e da gordura do leite, condenações de carcaças em abatedouros, gastos com medicamentos, atendimento veterinário (OIE, 2007a).

Estudos realizados nos Estados Unidos, sobre o impacto econômico que a doença causa para a indústria leiteira, revelaram que os casos de linfossarcomas nos animais podem causar um prejuízo de mais de 16 milhões de dólares por ano. Esse valor inclui as perdas com serviços veterinários, medicamentos, tempo e exames diagnósticos. Não leva em consideração a exportação de sêmen e embriões para outros países (PELZER, 1997).

Em outro estudo realizado nos Estados Unidos, considerando a diminuição da produção leiteira relacionada com VLB foram analisados 1006 rebanhos de 20 estados, sendo que cada rebanho tinha no mínimo 30 vacas leiteiras para serem testadas. Quando comparados com rebanhos livres da doença, as vacas soropositivas produziram 218 kg de leite a menos que as vacas soro-negativas. Calculou-se que a perda em dinheiro, em que o vírus estaria associado, seria de 285 milhões de dólares para os produtores e 240 milhões para os consumidores. Chegando assim a 525 milhões de dólares que a indústria leiteira perde com a diminuição de produção de leite das vacas soropositivas (OTT *et al.*, 2003).

Quando relacionamos a doença com a diminuição na produção de gordura no leite podemos citar em um estudo realizado por BRENNER *et al.* (1990), no qual os resultados obtidos foram que não houve diferença nem na produção de leite entre vacas soropositivas e soronegativa e nem na produção do nível de gordura do leite. Em outro estudo realizado com vacas soro-positivas e com LP, concluiu-se que ocorreu uma diminuição na produção de leite e uma diminuição equivalente na produção do nível de gordura no leite desses animais (POLLARI *et al.*, 1992).

Outros estudos que correlacionaram à produção de leite e de gordura obtiveram resultados ainda diferentes, onde o nível de gordura não sofreu alteração, mas o nível de produtividade do leite apresentou-se alterado (OTT *et al.*, 2003;

BRENNER et al., 1989). Dois trabalhos obtiveram os resultados relacionando a forma de manifestação da LEB, animais que eram soropositivos com LP, apresentaram a uma maior diminuição de gordura, quando comparados com animais apenas soropositivos. (DA et al., 1993; WU et al., 1989).

Um estudo retrospectivo de três anos em um rebanho do Estado de Valdivia no Chile, concluiu que os animais soropositivos produziram 156 Kg de leite a menos que os animais soronegativos, correspondendo a 3,5% em 305 dias de lactação. Estes resultados, estatisticamente, não têm significância, porém de forma prática pode ser levado em consideração (REINHARDT et al., 1988).

Um trabalho realizado no Brasil, onde o autor levou em consideração fatores como produção diária de leite em animais de segunda, terceira e quarta lactação, relação da doença com a reprodução e o descarte de animais devido a mesma. As conclusões chegada foram: a média diária de produção leiteira apresentou-se significativamente menor (11%) quando comparada com as dos animais não reagentes, da mesma foram menores as médias diárias de produção leiteira de animais em segunda, terceira e quarta lactação; a infecção pelo vírus não teve nenhuma influência nos fatores reprodutivos, como alterações nos intervalos entre partos, e o coeficiente de natalidade, assim como não influenciou no descarte dos animais (D'ANGELINO, 1991).

Com relação ao efeito da LEB sobre outras doenças, um trabalho realizado no Brasil avaliou a ocorrência de mastite em animais positivos para VLB. Houve uma tendência para animais positivos a apresentarem maior incidência de mastite (GARCIA et al., 1995).

Um trabalho realizado no Canadá envolvendo impacto econômico causado pela LEB chegou ao resultado, que em um rebanho positivo com 50 vacas, levando em consideração a mortalidade de animais, abortos, diminuição da fertilidade, serviços veterinários, medicamentos, e mão-de-obra (prejuízo direto), o custo seria de 807 dólares ano para a propriedade (VANLEEWEN, 2004).

2.7 CONTROLE E PREVENÇÃO

Alguns países como a Dinamarca, Alemanha (RADOSTIS et al., 2002), Finlândia (NUOTION et al., 2003) erradicaram a LEB, outros estão em processo de erradicação, como o Canadá (VANLEEUEWEN, 2004), Estados Unidos (BUNNER et al., 1997) e ainda há país que não tem programa de certificação de propriedades livres do VLB como o Brasil (DEL FAVA; PITUCO, 2003).

Os países que controlam e/ou que erradicam a doença possuem programas que evidenciam o controle pela sorologia dos animais, associados à política de isolamentos dos bovinos positivos (OIE, 2007b).

Nos Estados Unidos, mais especificamente o Estado de Nova York possui um programa de erradicação e certificação de propriedades livres do VLB. Esse programa foi estabelecido em 1985. Este programa conta com um diagnóstico laboratorial em conjunto com o Departamento de Agricultura e Mercado do Estado de Nova York, visando assim estabelecer primariamente a assistência dos produtores e a certificação de um rebanho livre do vírus (BRUNNER et al., 1997).

A Finlândia levou 30 anos para que a erradicação fosse realizada. A doença foi erradicada primeiramente na porção no continental do país em 1996, e depois no distrito Ahvenanmaa da ilha da Finlândia em 1999 onde, anualmente são feitos os monitoramentos da LEB (NUOTION et al., 2003).

O Canadá possui um programa de controle que além da LEB, associa *Neospora caninum*, *Mycobacterium avium* subspécie *paratuberculosis* e a Diarréia Viral bovina, uma vez que essas doenças juntas ou de forma individuais podem causar prejuízos econômicos diretos e indiretos para os produtores de bovinos (VANLEEUEWEN, 2004).

Existem alguns programas propostos para controle e prevenção da doença.

- Levantamento e Monitoramento sorológico ou PCR dos animais da propriedade (DEL FAVA; PITUCO, 2003; CORDEIRO et al., 1994).

- Quando a prevalência for alta (60-80%), se possível, dividir o rebanho em positivo e negativo, dificultando assim a transmissão do VLB. Quando o índice é baixo o ideal seria eliminar os animais positivos (BRUNNER et al., 1997)

- Realizar exame de LEB em todos os animais que entram na propriedade deixando-os de quarentena, uma vez que em uma infecção recente o animal possa não ter anticorpos contra o VLB (MODENA et al., 1983).

- Fornecer colostro e leite de vacas negativas (JOHNSON; KANEENE, 1992).
- Em caso de não poder realizar a operação acima, recomenda-se então fazer um tratamento do colostro e do leite de vacas positivas, realizando o aquecimento dos mesmos a 56°C durante 30 minutos, para que ocorra a eliminação do vírus (DIGLIO; FERRER, 1976).
- Utilização de seringas, agulhas e luvas descartáveis (DEL FAVA; PITTUCO, 2003).
- Sempre que utilizar material cirúrgico, tatuadores, aplicadores de brincos, instrumento de orquiectomia e descorna fazer sua desinfecção antes do uso. Pode-se utilizar detergente a base de iodo ou cloro que o vírus é sensível aos mesmos (JOHNSON; KANEENE, 1992).
- Não utilizar animais positivos, como receptores de transferência de embrião (STOKKA et al., 1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este trabalho foi delineado com a finalidade de se estudar a prevalência da Leucose Enzoótica Bovina em bovinos da raça Holandesa Preta e Branca no estado do Paraná, bem como avaliar a influência de fatores etários, sexo, manejo e número animais na propriedade.

Foram colhidas amostras de sangue de animais criados em regime semi-intensivo, intensivo e extensivo em propriedades com finalidade de produção leiteira, no período de julho de 2006 a dezembro de 2007. Todas as fazendas possuíam acompanhamento médico veterinário rotineiro e os animais dos rebanhos apresentavam boas condições de saúde, assim como controle de brucelose e tuberculose.

As propriedades utilizadas na presente pesquisa situavam-se no Estado do Paraná, nos seguintes municípios: Bandeirantes (1), Brasilândia do Sul (1), Campina Grande do Sul (1), Carambeí (3), Cascavel (3), Flor da Serra do Sul (9), Francisco Beltrão (3), Guaporema (1), Icaraíma (1), Mangueirinha (1), Marechal Cândido Rondon (1), Maripá (1), Marmeleiro (6), Nova Olímpia (2), Palmeira (2), Palotina (2), Pinhais (1), Piraí do Sul (3), Renascença (3), Rondon (1), Santo Antônio da Platina (2), São João (1), Teixeira Soares (2), Terra Roxa (2), Vitorino (1). O número entre parênteses indica o número de propriedades que foi colhida amostras de sangue de cada cidade, totalizando 25 cidades com 55 propriedades.

Juntamente com a colheita das amostras foi realizado um questionário para cada propriedade com as seguintes perguntas: 1) O proprietário ou responsável tinha informações do que era a Leucose Enzoótica Bovina? 2) Na compra de animais para a propriedade era realizado teste pra saber se os mesmos tinham LEB? 3) O proprietário ou responsável sabe informar se já houve algum caso da doença na propriedade? 4) As seringas e agulhas são reutilizadas, sem uma previa desinfecção? 5) As luvas de palpação são reutilizadas? 6) Qual é o tipo de manejo é realizado na propriedade?

3.2 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE AMOSTRAS E FORMAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS PARA ESTABELEÇER A PREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, BEM COMO AVALIAR A INFLUÊNCIA DE FATORES ETÁRIOS

As amostras foram determinadas segundo os procedimentos preconizados pelo Centro Panamericano de Zoonose (CENPAZO, 1979). Estimou-se em 27% a prevalência do VLB na população a ser estudada, tendo como base a média das prevalências dos trabalhos realizados no Estado do Paraná por Kantek *et al.* (1983) em todo Estado do Paraná, Carvalho *et al.* (1996) no Pólo regional de Londrina e Leuzzi Junior *et al.* (2003) na região do norte do Estado do Paraná. Admitiu-se a margem de erro de 20% e depositando-se nesse resultado um grau de confiança de 95%.

A amostragem foi determinada pela utilização da seguinte fórmula:

$$n = \frac{p \cdot (100-p) \cdot g^2}{(p \cdot e/100)^2}$$

onde:

n = número de amostras a serem utilizadas

g^2 = fator determinante do grau de confiança ($1,96^2 \approx 4$)

p = prevalência estimada

e = margem de erro admissível (20,00%)

$$n = \frac{27 (100 - 27) 4}{(27 \times 20/100)^2}$$

$$n = \frac{27 \times 73 \times 4}{(27 \times 20/100)^2}$$

$$n = \frac{7884}{29,16}$$

$$n = 270$$

Com a finalidade de ter-se uma maior confiabilidade dos resultados, foi incluído mais 819 amostras, completando, então, 1089 amostras.

Para avaliação da prevalência da Leucose bovina em bovinos da raça Holandesa Preta e Branca do Estado do Paraná foram utilizadas 1089 amostras sanguíneas, colhidas de (1077) fêmeas e (12) machos. O número de animais machos foi reduzido, pois a maioria das propriedades descartava os machos logo

após o nascimento e também porque na maioria das propriedades realizava-se o manejo de inseminação artificial.

Para estudo da influência do fator etário sobre a prevalência da Leucose Bovina, os animais foram reunidos em oito grupos experimentais que são demonstrados no QUADRO 4 .

GRUPOS EXPERIMENTAIS	IDADE (MESES)	NÚMERO DE ANIMAIS
I	≤6	75
II	6-12	59
III	12-24	158
IV	24-36	149
V	36-60	285
VI	>60	363
Total	--	1089

QUADRO 4 – CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS PARA ESTABELECEER A PREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA, EM BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ. PARANÁ – 2008

FONTE: O AUTOR (2008)

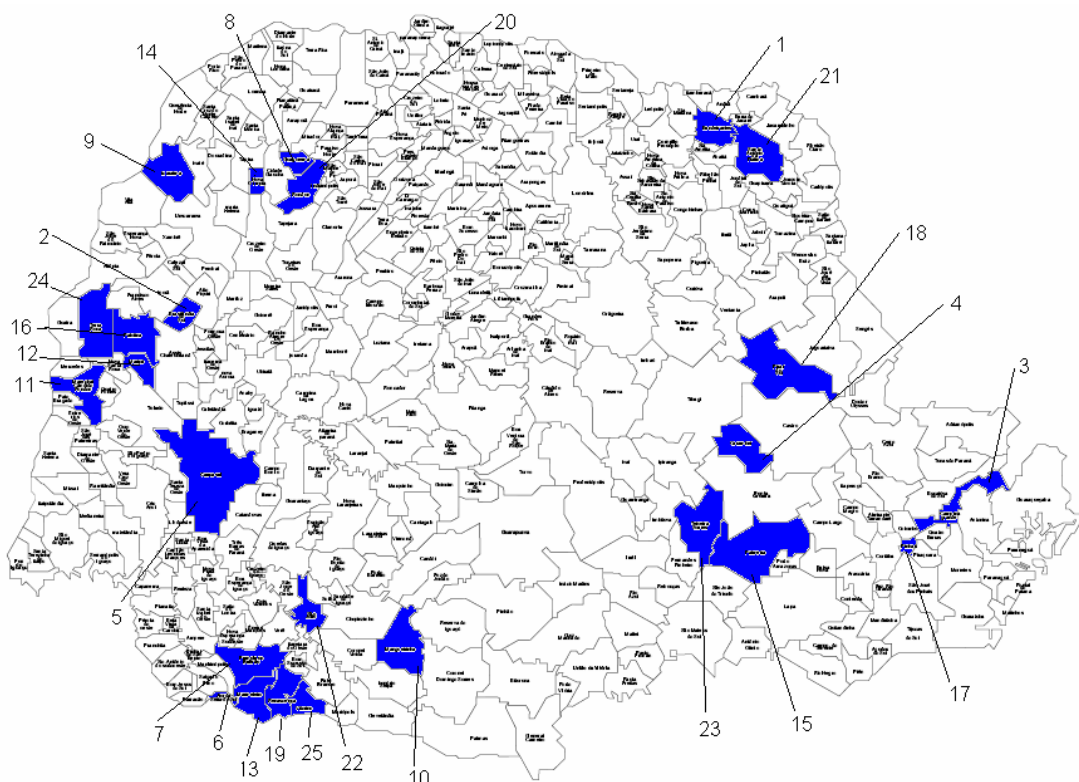
Para uma melhor avaliação da influência do fator etário nos seis primeiros meses de vida dos animais, fez-se a estratificação do grupo primeiro grupo experimental, representado pelo QUADRO 5.

GRUPO EXPERIMENTAL	CLASSES	IDADE (DIAS)	NÚMERO DE ANIMAIS
I	1	0-30	11
	2	30-60	14
	3	60-120	33
	4	120-180	17
Total	--	--	75

QUADRO 5 – CONSTITUIÇÃO DA ESTRATIFICAÇÃO DO GRUPO EXPERIMENTAL I, PARA ESTABELECEER UMA MELHOR AVALIAÇÃO DOS PRIMEIROS 180 DIAS DE VIDA, DETERMINANDO A PREVALÊNCIA DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, COM IDADE MENOR OU IGUAL A SEIS MESES. PARANÁ – 2008

FONTE: O AUTOR (2008)

A FIGURA 4 demonstra o mapa do Estado do Paraná com a localização dos municípios onde foram realizadas as colheitas de amostras sanguíneas para realização da Imunodifusão em gel de ágar (IDGA), objetivando detectar animais positivos para Leucose Enzoótica Bovina.



- | | | |
|-------------------------|----------------------------|------------------------------|
| 1-Bandeirantes | 10-Mangueirinha | 19-Renascença |
| 2-Brasilândia do Sul | 11-Marechal Cândido Rondon | 20- Rondon |
| 3-Campina Grande do Sul | 12- Maripá | 21- Santo Antônio da Platina |
| 4-Carambeí | 13-Marmeleiro | 22- São João |
| 5-Cascavel | 14-Nova Olímpia | 23- Teixeira Soares |
| 6-Flor da Serra do Sul | 15-Palmeira | 24- Terra Roxa |
| 7-Francisco Beltrão | 16-Palotina | 25- Vitorino |
| 8-Guaporema | 17-Pinhais | |
| 9-Icaraíma | 18- Piraí do Sul | |

FIGURA 4 – MAPA DO ESTADO DO PARANÁ, EM AZUL OS MUNICÍPIOS DE ONDE ERAM PROVENIENTES OS ANIMAIS UTILIZADOS NO PRESENTE TRABALHO. PARANÁ – 2008

FONTE: O AUTOR (2008)

3.3 COLHEITAS DAS AMOSTRAS

Em cada propriedade estudada, os animais foram escolhidos aleatoriamente para comporem a amostragem da pesquisa. Foram colhidas amostras de sangue total por punção da veia jugular dos animais menores de doze meses, e por punção da veia ou artéria coccígena dos animais maiores de doze meses, utilizando-se agulhas 40x12 mm e o sangue armazenado em tubos de vidro com a capacidade de 15 ml.

As amostras foram mantidas em temperatura ambiente para facilitar a retração do coágulo. Posteriormente as amostras eram conduzidas para o Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UFPR em Curitiba ou para o Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UFPR do Campus de Palotina, onde eram centrifugadas durante 15 minutos em uma velocidade de 1000 G.

O soro obtido era separado em três alíquotas de 1,5 ml por uma micropipeta com ponteiros individuais e armazenados em tubos de plástico com capacidade de 1,5 ml.

Após a separação e identificação de cada amostra, as mesmas eram conservadas em congelador a -20°C no Laboratório de Virologia do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti (CDME) até a realização do teste.

3.5 AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DE ANTICORPOS ANTI-VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA

A prova de diagnóstico utilizada para realização da identificação dos animais portadores de anticorpos anti-vírus da Leucose Enzoótica Bovina foi a Imunodifusão em gel de ágar adaptada de MILLER e VAN DER MAATEN (1976), utilizando o kit comercializado pelo Instituto Tecnológico do Paraná (TECPAR).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram baseadas no estudo descritivo transversal, uma vez que esse tipo de estudo mede a prevalência da doença, sendo útil assim, para gerar hipóteses e planejar ações de saúde.

A prevalência é a proporção de animais que apresentam a doença em um determinado momento. É medida pela análise de um grupo de animais, onde alguns dos quais estão doentes e outros estão saudáveis.

Para fazer as análises estatísticas foi utilizado o teste de Fisher, considerando o grau de significância de 5%, onde $p < 0,05$. O teste foi feito via on-line pelo site: www.quantitativeskills.com/sisa/statistics/fisher.htm

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos, após a realização do teste de Imunodifusão em gel de ágar (IDGA), utilizando o kit da leucose bovina do TECPAR, na amostragem total 1089 de animais da raça Holandesa Preta e Branca (HPB), criados em diferentes rebanhos do Estado do Paraná, estão expostos na TABELA 2 e no GRÁFICO 1. Observou-se que reagiram positivamente 534/1089 (49,04%) e não reagiram 555/1089 (50,96%) das amostras de soro sanguíneo colhidas de bovinos da raça HPB do Estado do Paraná.

Na TABELA 3 estão indicados os números absolutos e relativos de amostras soro reagentes e não reagentes à IDGA colhidas dos animais da raça HPB do Estado do Paraná, distribuídos segundo os municípios de origem, detalhando assim o número de amostras colhidas por município e por propriedade. Uma total de 40/55 (72,73%) propriedades foram consideradas positivas para LEB, apresentando assim pelo menos um animal positivo.

Conforme evidencia a TABELA 3 o percentual de animais soro-reagentes à IDGA em diferentes municípios estudados, ocorreram oscilações desde resultados negativos até 100,00% de animais infectados pelo VLB. Observaram-se também nos municípios onde o número de propriedades colhidas foi igual a uma propriedade as oscilações foram de zero a 100% de animais soro-reagentes. Nos municípios onde o número de propriedades colhidas foi igual a duas, apresentou oscilações zero a 83,33% de animais soro-reagentes a IDGA. Nos municípios que foram colhidas amostras em 3 propriedades as variações foram de zero a 90,91% de animais positivos para LEB. E nos municípios que foram colhidas as amostras em mais de 3 propriedades as oscilações variaram de zero a 56,10%.

Estão descritos na TABELA 4 os resultados das 1089 amostras de soro bovino da raça HPB criados no Estado do Paraná, avaliados no teste de IDGA, com distribuição da população em seis faixas etárias. Os resultados detalham os números de animais soro-reagentes e não reagentes expressos em números absolutos e relativos. Os resultados dos animais soro-reagentes foram os seguintes: animais menores ou iguais a 6 meses de idade 29/75 (38,67%), >6 e ≤12 meses 18/59 (30,51%), >12 e ≤24 meses 47/158 (29,75 %), >24e ≤36 meses 65/149 (43,62 %), >36 e ≤60 meses 150/285 (52,63%), >60 meses 225/363 (61,98%). Observa-se

um aumento gradativo das amostras soro-reagentes a partir do terceiro grupo experimental, uma vez que entre o terceiro grupo e o quarto houve diferença significativa, e essa diferença foi aumentando com o evoluir da idade, tornando-se mais evidente nos animais com idade maiores que 60 meses. Os resultados estatísticos estão representados na TABELA 5 e o GRÁFICO 2 possibilita a visualização dos resultados em percentual.

Na TABELA 6 estão os resultados da estratificação do primeiro grupo experimental que incluí os animais menores ou iguais a seis meses, segunda os faixas etárias: de 0 a 30 dias, maiores que 30 dias a 60 dias, maiores que 60 a 120 dias, maiores que 120 a 180 dias. Na primeira classe observa-se que a taxa de soro-reagentes à prova de IDGA, foi de 72,73% havendo um declínio da segunda e terceira classe para 21,42 e 27,27%, respectivamente, e um aumento da quarta classe para 52,94%. Não houve diferença significativa (TABELA 7 e GRÁFICO 3) entre as classes da estratificação do grupo experimental I, porém pode-se considerar que os animais menores ou iguais a 30 dias apresentaram um percentual elevado de animais soro-reagentes .

A comparação dos resultados entre sexo ficou limitada aos animais menores ou iguais a seis meses de idade, uma vez que, das 12 amostras de soros sangüíneos de machos colhidas na presente pesquisa, 11 foram de animais pertencentes ao Grupo Experimental I. Os resultados obtidos pela imunodifusão em gel de ágar para o VLB nas amostras de soro sangüíneo de dois grupos de animais formados por machos e fêmeas com idade menores ou iguais a 6 meses, apresentados na TABELA 8 e 9, revelaram que 4/11 (36,36%) machos foram soro-reagentes e 25/64 (38,67%) fêmeas foram reagentes à IDGA, não apresentando diferença significativa entre sexo, segundo o teste de Fisher, onde $p < 0,05$.

Os resultados obtidos pela aplicação do questionário nas 55 propriedades estudadas estão expressos nas TABELAS 10 e 11. Das perguntas diretamente relacionadas à doença como: 1) O proprietário ou responsável tinha informações do que era a Leucose Enzoótica Bovina (LEB)? 56,36% (31/55) responderam que sim. 2) Na compra de animais é realizada a prova da LEB nos mesmos? 9,09% (5/55) responderam sim. Se o proprietário ou responsável sabe se houve casos positivos da doença na propriedade? 14,55 % (8/55) responderam sim, 43,64% (24/55) responderam não, e 41,82% (23/55) não souberam informar. Das

perguntas relacionadas com a epidemiologia da doença como: 1) As seringas e agulhas são reutilizadas? 96,36% (53/55) responderam sim. 2) As luvas de palpação são reutilizadas? 78,18 % (43/55) responderam sim. 3) Qual o tipo de manejo é realizado na propriedade? 3,64% (2/55) manejo intensivo, 65,45% (36/55) manejo semi-intensivo e 30,91% (17/55) manejo extensivo.

Na TABELA 12 observa-se o a distribuição das amostras segundo manejo zootécnico das propriedades, o tamanho de rebanho e o número de amostras distribuídas em cada rebanho, evidenciando os resultados de animais reagentes absolutos e relativos. Nos animais criados no sistema semi-intensivo (parte do alimento é fornecido no cocho) a prevalência da LEB teve um aumento gradativo, os resultados em propriedades com menor ou igual 50 animais, >50 e \leq 100 animais, >100 animais, foram respectivamente, 47,52%, 51,72%, 58,95%. Nas propriedades onde o sistema de manejo era extensivo (alimentação à pasto) os resultados observados em propriedades com menor ou igual a 50 animais, >50 e \leq 100 animais, >100 animais, foram respectivamente, 1,37%, 29,03%, 55,56%. Nas propriedades que os animais eram criados em sistema intensivo (alimento fornecido exclusivamente no cocho) apresentaram uma prevalência de 48,86 % de animais positivos para LEB, nas duas propriedades estudadas os rebanhos eram maiores de 100 animais.

TABELA 2 – NÚMEROS DE ANIMAIS SORO-REAGENTES E NÃO REAGENTES À IDGA, NÚMEROS ABSOLUTOS E RELATIVOS. PARANÁ – 2008

SORO-REAÇÃO	n^o ABSOLUTO	n^o RELATIVO (%)
Soro- reagentes	534	49,04
Não reagentes	555	50,96
TOTAL	1089	100,00

FONTE: O AUTOR (2008)

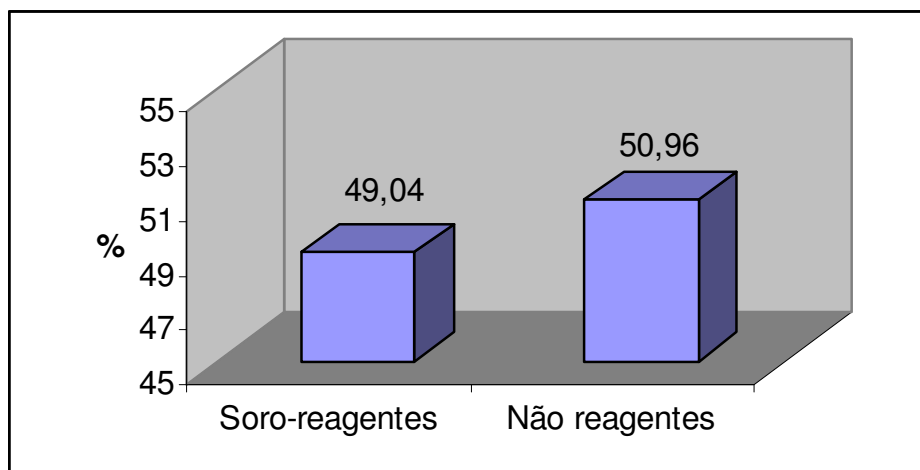


GRÁFICO 1 – REPRESENTAÇÃO DO PERCENTUAL DE AMOSTRAS SORO-REAGENTES E NÃO REAGENTES PARA O TESTE DE IMUNODIFUSÃO EM GEL DE ÁGAR, NÚMEROS RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008
FONTE O AUTOR (2008)

TABELA 3 – MUNICÍPIOS DE ORIGEM DOS REBANHOS DA RAÇA HOLANDÊSA PRETA E BRANCA (HPB), CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ E OS RESULTADOS OBTIDOS PELO IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, EXPRESSOS EM VALORES ABSOLUTOS E RELATIVOS. PARANÁ –2008 (CONTINUA)

CIDADES	NÚMERO DE PROPRIEDADE		NÚMERO DE AMOSTRAS COLHIDAS		AMOSTRAS SORO-REAGENTES		AMOSTRAS NÃO REAGENTES	
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
Bandeirantes	1	1,82	12	1,10	11	91,67	1	8,33
Brasilândia do Sul	1	1,82	3	0,30	0	0,00	3	100,00
Campina Grande do Sul	1	1,82	37	3,40	24	64,86	13	35,14
			40	3,67	13	32,50	27	67,50
Carambeí	3	5,45	26	2,39	15	57,69	11	42,31
			38	3,49	32	84,21	6	15,79
			10	0,18	6	60,00	4	40,00
Cascavel	3	5,45	34	1,93	19	55,88	15	44,12
			38	0,28	33	86,84	5	13,16
			2	0,91	0	0,00	2	100,00
			21	0,46	0	0,00	21	100,00
			3	0,09	0	0,00	3	100,00
			10	0,91	0	0,00	10	100,00
			5	0,46	0	0,00	5	100,00
Flor da Serra do Sul	10	16,36	1	0,09	0	0,00	1	100,00
			3	0,28	0	0,00	3	100,00
			9	0,83	0	0,00	9	100,00
			7	0,64	1	14,29	6	85,71
			1	0,09	0	0,00	1	100,00

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 3 – MUNICÍPIOS DE ORIGEM DOS REBANHOS DA RAÇA HOLANDÊSA PRETA E BRANCA (HPB), CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ E OS RESULTADOS OBTIDOS PELA IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, EXPRESSOS EM VALORES ABSOLUTOS E RELATIVOS. PARANÁ –2008 (CONTINUAÇÃO)

CIDADES	NÚMERO DE PROPRIEDADES		NÚMERO DE AMOSTRAS COLHIDAS		AMOSTRAS SORO-REAGENTES		AMOSTRAS NÃO REAGENTES	
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
Francisco Beltrão	3	5,45	22	2,02	20	90,91	2	9,09
			23	2,11	19	82,61	4	17,39
			8	0,73	0	0,00	8	100,00
Guaporema	1	1,82	2	0,18	2	100,00	0	0,00
Icaraíma	1	1,82	8	0,73	2	25,00	6	75,00
Mangueirinha	1	1,82	34	3,12	23	67,65	11	32,35
Marechal Cândido Rondon	1	1,82	15	1,38	14	93,33	1	6,67
Maripá	1	1,82	15	1,38	8	53,33	7	46,67
			60	5,51	0	0,00	60	100,00
			41	3,76	23	56,10	18	43,90
			20	1,84	2	10,00	18	90,00
Marmeleiro	5	10,90	2	0,18	0	0,00	2	100,00
			1	0,09	0	0,00	1	100,00
			1	0,18	1	100,00	0	0,00
Nova olímpia	2	3,64	3	0,28	1	33,33	2	66,67
			72	6,61	41	56,94	31	43,06
Palmeira	2	3,64	46	4,22	9	19,57	37	80,43
			14	1,29	10	71,43	4	28,57
Palotina	2	3,64	14	1,29	11	78,57	3	21,43
Pinhais	1	1,82	51	4,68	38	74,51	13	25,49

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 3 – MUNICÍPIOS DE ORIGEM DOS REBANHOS DA RAÇA HOLANDÊSA PRETA E BRANCA (HPB), CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ E OS RESULTADOS OBTIDOS PELA IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, EXPRESSOS EM VALORES ABSOLUTOS E RELATIVOS. PARANÁ –2008 (CONCLUSÃO)

CIDADES	NÚMERO DE PROPRIEDADES		NÚMERO DE AMOSTRAS COLHIDAS		AMOSTRAS SORO-REAGENTES		AMOSTRAS NÃO REAGENTES	
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
Piraí do Sul	3	5,45	25	2,30	10	40,00	15	60,00
			28	2,57	15	53,57	13	46,43
			48	4,41	30	62,50	18	37,50
			54	4,96	27	50,00	27	50,00
Renascença	3	5,45	18	1,65	10	55,55	8	44,45
			11	1,01	7	63,64	4	36,36
Rondon	1	1,82	2	0,18	2	100,00	0	0,00
Santo Antônio da Platina	2	3,64	20	1,84	14	70,00	6	30,00
			18	1,65	15	83,33	3	16,67
São João	1	1,82	11	1,01	1	9,09	10	90,91
Teixeira Soares	2	3,64	31	2,85	1	3,23	30	96,77
			26	2,39	10	38,46	16	61,54
Terra Roxa	2	3,64	14	1,29	0	0,00	14	100,00
			13	1,19	7	53,85	6	46,15
Vitorino	2	3,64	9	0,83	4	44,44	5	55,56
			9	0,83	3	33,33	6	66,67
TOTAL	55	100,00	1089	100,00	534	49,04	555	50,96

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 4 – RESULTADOS OBTIDOS PELO TESTE DE IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, DE BOVINOS HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, DISTRIBUIÇÃO SEGUNDO AS FAIXAS ETÁRIAS, EXPRESSADOS EM VALORES ABSOLUTOS (N^o) E VALORES RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008

FAIXA ETÁRIA (MESES)	AMOSTRAS COLHIDAS		AMOSTRAS SORO-REAGENTES		AMOSTRAS NÃO-REAGENTES	
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
≤6	75	6,89	29	38,67	46	61,33
6 12	59	5,42	18	30,51	41	69,49
12 24	158	14,51	47	29,75	111	70,25
24 36	149	13,68	65	43,62	84	56,38
36 60	285	26,17	150	52,63	135	47,37
>60	363	33,33	225	61,98	138	38,02
TOTAL	1089	100,00	534	49,04	555	50,96

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 5 – VALORES DA ESTATÍSTICA DE “P” E SUA SIGNIFICÂNCIA QUANDO UTILIZADO NO TESTE DE FISHER, PARA COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS ENTRE OS GRUPOS ETÁRIOS, DE BOVINOS HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, REAGENTES À IDGA. PARANÁ – 2008

S= SIGNIFICATIVO (p<0,05); NS= NÃO SIGNIFICATIVO

IDADE (DIAS)	6 12	12 24	24 36	36 60	≥60
≤6	0,305 NS	0,206NS	0,374 NS	0,120 NS	0,026 S
6 12	-	0,526 NS	0,153 NS	0,035 S	0,006 S
12 24	-	-	0,053 S	0,001 S	0,000S
24 36	-	-	-	0,169 NS	0,023 S
36 60	-	-	-	-	0,119 NS

FONTE: O AUTOR (2008)

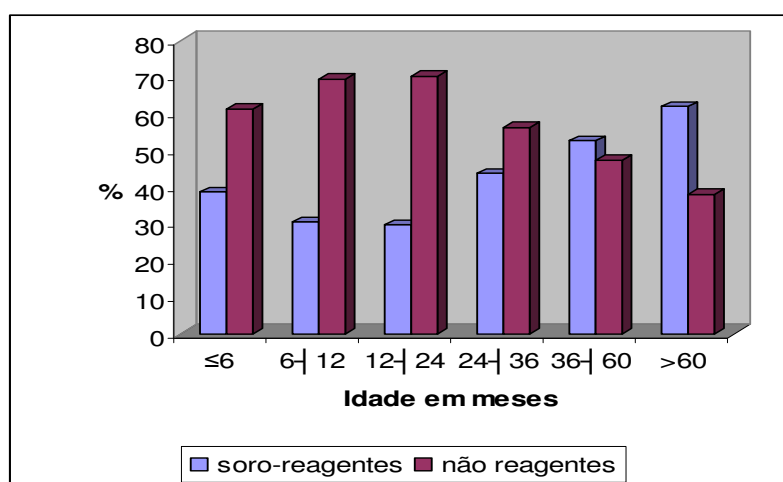


GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DE NÚMEROS RELATIVOS (%) DE BOVINOS DA RAÇA HPB, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ SORO-REAGENTES E NÃO REAGENTES PARA A IDGA. RESULTADOS DISTRIBUÍDOS SEGUNDO FAIXA ETÁRIA. PARANÁ – 2008

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 6 – RESULTADOS OBTIDOS PELO TESTE DE IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS, DE BOVINOS HPB COM ATE 180 DIAS DE VIDA, DISTRIBUÍDOS EM FAIXAS ETÁRIAS DELINEADOS A PARTIR DA ESTRATIFICAÇÃO DO PRIMEIRO GRUPO EXPERIMENTAL, RESULTADOS EM NÚMEROS ABSOLUTOS (N^o) E RELATIVOS (%), PARANÁ – 2008

FAIXA ETÁRIA (DIAS)	AMOSTRAS COLHIDAS		AMOSTRAS SORO-REAGENTES		AMOSTRAS NÃO-REAGENTES	
	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
0 30	11	14,66	8	72,73	3	27,27
30 60	14	18,67	3	21,42	11	78,47
60 120	33	44,00	9	27,27	24	72,73
120 180	17	22,67	9	52,94	8	47,06
Total	75	100,00	29	38,67	46	61,33

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 7 – VALORES DA ESTATÍSTICA DE “P” E SUA SIGNIFICÂNCIA QUANDO UTILIZADO NO TESTE DE FISHER, PARA COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS DA ESTRATIFICAÇÃO DO GRUPO EXPERIMENTAL I, DE BOVINOS DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, SORO-REAGENTES A IDGA, PARANÁ – 2008

IDADE (DIAS)	30 60	60 120	120 180
0 30	0,109 NS	0,088 NS	0,419 NS
30 60	-	0,746 NS	0,194 NS
60 120	-	-	0,179 NS

S= SIGNIFICATIVO ($p < 0,05$); NS= NÃO SIGNIFICATIVO

FONTE: O AUTOR (2008)

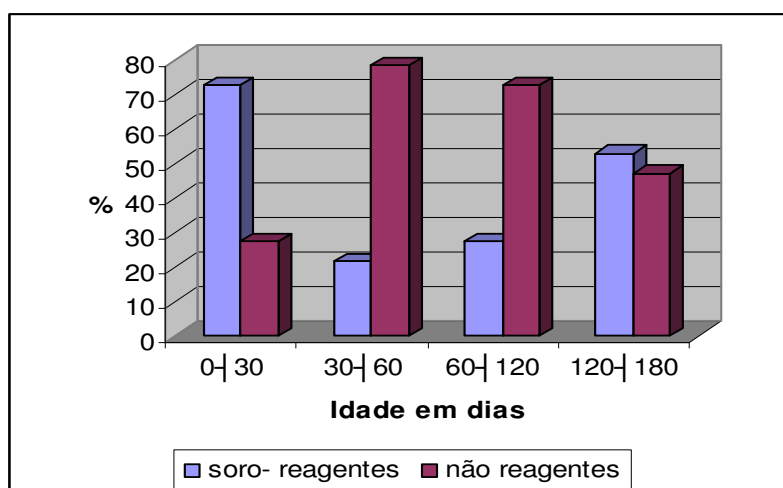


GRÁFICO 3 – DISTRIBUIÇÃO DE NÚMEROS RELATIVOS (%) DE BOVINOS DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ SORO-REAGENTES E NÃO REAGENTES A IDGA RESULTADOS DISTRIBUÍDOS SEGUNDO ESTRATIFICAÇÃO DO PRIMEIRO GRUPO EXPERIMENTAL. PARANÁ – 2008

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 8 – RESULTADOS OBTIDOS PELO TESTE DE IDGA EM AMOSTRAS DE SOROS SANGÜÍNEOS, DE BOVINOS COM IDADE IGUAL OU MENOR QUE SEIS MESES, DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, DISTRIBUIÇÃO SEGUNDO SEXO, EXPRESSO EM NÚMEROS ABSOLUTOS (n°) E NÚMEROS RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008

SEXO/ IDADE ≤6 MESES	AMOSTRAS COLHIDAS		AMOSTRAS SORO-REAGENTES		AMOSTRAS NÃO REAGENTES	
	n°	%	n°	%	n°	%
Machos	11	14,67	4	36,36	7	63,64
Fêmeas	64	85,33	25	39,06	39	60,04
Total	75	100,00	29	38,67	46	61,33

FONTE: O AUTOR (2006)

TABELA 9 – VALOR DA ESTATÍSTICA DE “P” E SUA SIGNIFICÂNCIA QUANDO UTILIZADO NO TESTE DE FISHER, PARA COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS, DA DISTRIBUIÇÃO SEGUNDO SEXO, DE BEZERROS (AS) COM IDADE MENOR OU IGUAL A SEIS MESES, DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, SORO-REAGENTES A IDGA. PARANÁ – 2008

SEXO	MACHOS
fêmeas	0,653 NS

NS=NÃO SIGNIFICATIVO
FONTE: O AUTOR (2008)

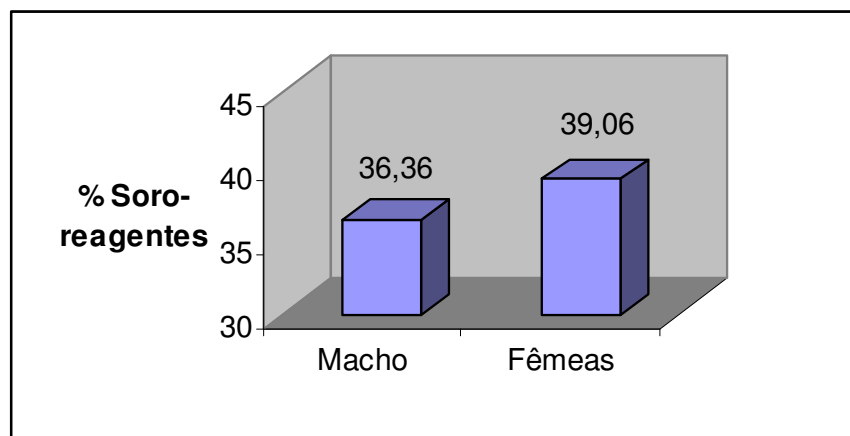


GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELO TESTE DE IDGA EM AMOSTRAS DE SORO SANGÜÍNEO, DE BOVINOS COM IDADE IGUAL OU MENOR QUE SEIS MESES DA RAÇA HPB CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ, SEGUNDO SEXO, EXPRESSO EM NÚMEROS RELATIVOS (%). PARANÁ – 2008

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 10 – RESULTADO DAS INFORMAÇÕES DOS QUESTIONÁRIOS REALIZADOS DURANTE A COLHEITA DAS AMOSTRAS DE SOROS SANGUÍNEOS DAS 55 PROPRIEDADES PESQUISADAS, VALORES ABSOLUTOS E RELATIVOS DAS QUESTÕES COMO: O PROPRIETÁRIO TEM INFORMAÇÕES DO QUE É LEB? NA COMPRA DE ANIMAIS FAZ EXAMES PRA SABER SE O ANIMAL TEM LEB? HÁ ANIMAIS POSITIVOS PARA LEB NA PROPRIEDADE? PARANÁ – 2008

INFORMAÇÕES SOBRE LEB				PROVA DE LEB				ANIMAIS POSITIVOS					
Sim		Não		Sim		Não		Sim		Não		Não sabe informar	
n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
31	56,36	24	43,64	5	9,09	50	90,91	8	14,55	24	43,64	23	41,82

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 11 – RESULTADO DAS INFORMAÇÕES DOS QUESTIONÁRIOS REALIZADOS DURANTE A COLHEITA DAS AMOSTRAS DE SORO SANGUÍNEO DAS 55 PROPRIEDADES PESQUISADAS, VALORES ABSOLUTOS E RELATIVOS DAS QUESTÕES COMO: AGULHAS E SERINGAS SÃO REUTILIZADAS? AS LUVAS DE PALPAÇÃO SÃO REUTILIZADAS? QUAL TIPO DE MANEJO ZOTÉCNICO DA PROPRIEDADE? PARANÁ – 2008

SERINGAS E AGULHAS REUTILIZADAS				LUVAS DE PALPAÇÃO REUTILIZADAS				TIPO DE MANEJO					
Sim		Não		Sim		Não		Intensivo		Semi Intensivo		Extensivo	
n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%	n ^o	%
53	96,36	2	3,64	43	78,18	12	21,18	2	3,64	36	65,45	17	30,91

FONTE: O AUTOR (2008)

TABELA 12 – PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VLB DE ACORDO COMO MANEJO ZOOTÉCNICO, NÚMERO DE PROPRIEDADE POR NÚMERO DE ANIMAIS EM REBANHO DA RAÇA HOLANDESA PRETA E BRANCA, CRIADOS NO ESTADO DO PARANÁ. PARANÁ – 2008

MANEJO	NÚMERO DE PROPRIEDADES	TAMANHO DO REBANHO	NÚMERO DE REBANHOS POR TAMANHO	NÚMERO DE AMOSTRAS	NÚMERO DE AMOSTRAS (%)	
					SORO-REAGENTES	NÃO REAGENTES
Intensivo	2	>100 animais	2	88	43 (48,86)	45 (51,14)
		≤50 animais	6	101	48 (47,52)	53 (52,48)
Semi- Intensivo	37	>50 e ≤100 animais	18	493	255 (51,72)	238 (48,28)
		>100 animais	13	285	168 (58,95)	117 (41,05)
Extensivo	16	≤50 animais	13	73	1 (1,37)	72 (98,63)
		>50 e ≤100 animais	2	31	9 (29,03)	22 (70,97)
		>100 animais	1	18	10 (55,56)	8 (44,44)
TOTAL	55	-	-	1089	534 (49,04)	555 (50,96)

FONTE: O AUTOR (2008)

5 DISCUSSÃO

Ao analisar a literatura brasileira e a estrangeira a respeito da Leucose Enzoótica Bovina, podemos concluir que há muito tempo, a doença esta presente e disseminada por todo mundo, inclusive no Brasil, apresentado prevalência maior no gado leiteiro, independente de sua raça. A disseminação da LEB ocorreu devido às migrações das populações, levando consigo seus animais principalmente nos períodos pós-guerras e também devido às importações de animais de países onde a LEB estava presente em seus rebanhos, sem prévia pesquisa da doença nos mesmos. Estes foram fatos que culminaram com a endemia da doença em nossos rebanhos (BIRGEL, 1982; D'AGELINO,1991).

Inicialmente a doença foi ligada a fatores hereditários e tóxicos, pois os cientistas se baseavam em casos tumorais limitados. Com o passar dos anos cogitou-se a possibilidade da etiologia da doença estar ligada a um agente transmissível, sendo assim, o vírus da leucose bovina foi descoberto. No momento sabe-se que a doença é causada por um agente viral, a mesma pode se manifestar de forma aleucêmica (presença de anticorpos), pela forma benigna (linfocitose persistente) e evoluir para forma tumoral, como os linfossarcomas ou ainda, pode evoluir diretamente para forma fatal. Há informações de que em uma pequena porção dos bovinos manifestam a forma tumoral e que o animal pode viver muitos anos com a forma benigna da doença sem apresentar outros sinais (RADOSTITS *et al.*,2002).

Estudos mais detalhados sobre a patogenia da doença, podem auxiliar de forma a sanar dúvidas ligadas a vários aspectos epidemiológicos, uma vez que isso pode auxiliar o controle e a prevenção.

No Brasil a doença está disseminada na maioria de seus Estados, porém o país não tem um programa que possa ao menos controlar a LEB. Países como a Dinamarca e Alemanha iniciaram um controle da LEB através das chaves leucométricas e posteriormente erradicaram a doença com uso das provas imunoserológicas. O Brasil poderia seguir esse caminho, para que seu rebanho tenha a possibilidade de algum dia se tornar livre da doença, podendo evitar assim muitas outras enfermidades, pois alguns autores relataram a possibilidade do VLB ser responsável por uma depressão no sistema imunológico do animal, propiciando

o mesmo para manifestação de doenças infecciosas e parasitárias (ORLIK; SPLITTER, 1996; BURNY, 1988). Contudo a prevenção e o controle da LEB só serão alcançados quando medidas sanitárias profiláticas forem aplicadas de uma forma que englobe todos os rebanhos bovinos, principalmente os leiteiros, nas quais a prevalência da doença chega alcançar altos índices. As medidas preventivas estariam baseadas em um diagnóstico precoce da doença pelos testes sorológicos e uma supervisão sanitária permanente dos rebanhos.

Os resultados obtidos após a realização do IDGA nas amostras da presente pesquisa, demonstraram a ocorrência de Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos de bovinos leiteiros da raça Holandesa Preta e Branca, criados no Estado do Paraná. Comprovando que a doença está disseminada por todo o Estado do Paraná, complementando assim os estudos realizados por Diniz *et al.* (1980), Kantek *et al.* (1982/1983), Carvalho *et al.* (1996) e Leuzzi Junior *et al.* (2003).

A prevalência de animais soro-reagentes foi de 534/1089 (49,04%) e dos rebanhos 40/55 (72,73%) sendo considerada maior que a média da prevalência brasileira, estabelecida por Birgel Junior *et al.* (2006) através da combinação de resultados obtidos em todo território nacional. Ao realizar o trabalho os autores reuniram dados de todo território nacional, sem considerar a raça dos bovinos estudados, realizaram assim a média de diversas pesquisas brasileiras onde pode estabelecer uma taxa de prevalência de animais infectados pela LEB igual a 8013/29.057 (27,6%), e 656/1.113 (58,9%) dos rebanhos estudados foram positivos ao teste de diagnóstico (BIRGEL JUNIOR *et al.*, 2006).

Levando em consideração que o primeiro levantamento epidemiológico da LEB no Estado do Paraná foi realizado por Kantek *et al.* (1983), pode-se dizer que até o presente momento passaram-se 25 anos. Fazendo assim uma análise comparativa com o trabalho atual, observa-se um aumento de 136,91% da prevalência de animais soro-reagentes e um aumento de 78,26% de rebanhos positivos. Considerando, então, o trabalho mais recente realizado no Estado do Paraná foi o de Leuzzi Junior *et al.*, (2003) e comparando as prevalências, chega-se a conclusão que a prevalência de Leucose Enzoótica Bovina aumentou 20,5% nos últimos cinco anos. Deve-se, nesse caso, levar em consideração que os animais estudados por Leuzzi Junior *et al.* (2003) eram provenientes da região de Londrina e estes, de 25 municípios do Estado.

Analisando e estabelecendo a prevalência da Leucose Enzoótica Bovina no Estado do Paraná, pela combinação dos resultados já obtidos no Estado, observa-se que 103/221 (46,61%) dos rebanhos avaliados apresentavam pelo menos um animal soropositivo e que, em termos médios, 467/2304 (20,27%) dos animais eram sororeagentes para anticorpos anti-Vírus LEB. Os resultados da presente pesquisa apresentaram-se maiores da média do Estado.

Os resultados obtidos da prevalência dos rebanhos (72,73%), comparados com resultados já obtidos no Estado do Paraná, foram menores que os apresentados por Leuzzi Junior *et al.* (2003), porém maiores que os resultados apresentados por Kantek *et al.* (1983) e Carvalho *et al.* (1996).

A análise de uma forma isolada da prevalência da infecção pelo vírus da Leucose nos bovinos da raça Holandesa Preta e Branca, mostra que os resultados da presente pesquisa ficaram mais próximos aos resultados obtidos por Leuzzi Junior, *et al.* (2003), onde a prevalência foi de 254/624 (40,70%) de animais sororeagentes. Fazendo uma comparação com os outros trabalhos realizados no Paraná, podemos dizer que a prevalência de animais e de rebanhos da raça Holandesa Preta e Branca criados no Estado do Paraná infectados pelo VLB, foram superiores aos estudos realizados por Kantek *et al.* (1983) e Carvalho *et al.* (1996).

Ampliando essa comparação com trabalhos realizados em todo Brasil não levando consideração a raça dos animais, os resultados do presente trabalho já citados anteriormente, foram superiores aos trabalhos realizados nos seguintes Estados: Acre – 9,7% Abreu *et al.* (1990), Amazonas – 8,9% Carneiro *et al.* (2003), Bahia – 16,1% Távora e Birgel (1991), Ceará – 24,5% Abreu *et al.* (1994), Goiás – 35,9% Andrade e Almeida (1991), Minas Gerais – 26,69% e 28,39% Modena *et al.* (1984) e Santos *et al.* (1985), Pernambuco – 13,89% Melo *et al.* (1991), Rio Grande do Sul – 32,6%, 14,20%, 20,7% , 9,2%, 16,3% e 23,5% Gomes *et al.* (1985) Flores *et al.* (1988), Flores *et al.* (1990) e Moraes *et al.* (1996), Van Der Laaten *et al.* (1999), Polleto *et al.* (2004), Rio de Janeiro – 26,9% Cunha *et al.* (1982), Rondônia – 23,00% Abreu *et al.* (1990), São Paulo – 35,60%, 16,20%, 4,15%, 31,8% e 9,24 Alencar Filho *et al.* (1979), Arita *et al.* (1992), Birgel *et al.* (1994), Oliveira *et al.* (1997), Birgel Junior *et al.* (2006).

Ao comparar os resultados da pesquisa, com trabalhos realizados com bovinos da raça Holandesa Preta e Branca, pode-se dizer que os resultados foram semelhantes aos de Andrade e Almeida (1991), D'Angelino *et al.* (1998), maiores

que os dos autores Lima et al. (1980), Kantek et al. (1982/1983), Melo et al. (1991), Carvalho et al. (1996), Oliveira et al. (1997) e menores que os de Alencar Filho (1978).

Os valores obtidos nesse trabalho foram inferiores aos relatados em Minas Gerais – 70,14% , 70,90% Leite et al. (1980), Leite *et al.* (1984), dados de São Paulo – 60,00% Alencar Filho (1978), podendo ser considerados próximos ou até mesmo semelhantes à prevalência encontrada na Bahia – 41,00% Matos *et al.* (2005), Minas Gerais – 41,36% e 44,57% Modena *et al.* (1984), Camargos *et al.* (2002), Rio de Janeiro – 53,30% Romero e Rowe (1981), São Paulo – 53,8%, 52,6%, 44,9%, 42,9%, 49,2% 54,0%, 51,8% Birgel et al. (1983) Birgel *et al.* (1988a), Birgel *et al.* (1988b), Birgel *et al.* (1991), Birgel Junior et al. (1995), D'Angelino *et al.* (1998), Megid *et al.* (2003).

Até o momento os rebanhos infectados de LEB foram descritos nos seguintes municípios do Estado do Paraná: Grandes Rios, Faxinal, Londrina, Sabaúdia, Sertanópolis, Cambé, Rolândia, Arapongas, Apucarana, Tamarana, Mandaguari, São Sebastião da Amoreira, Cambará, Jaguapitã, Guaraci, Assai, Palmeira, Marechal Cândido Rondon, Guairá, Atalaia, Cruzeiro do Sul, Nova Esperança, Uniflor, Santa Fé, Alto Paraná, Paranavaí, Guairaça, Ponta Grossa, Castro, Arapoti, Teixeira Soares, Irati, Rebouças, Mandirituba, São José dos Pinhais, Antonia, Curitiba, Bolsa Nova, Lapa, Adrianópolis, Céu Azul, Piraquara, Araucária, Campo Largo, Colombo (KANTEK *et al.*, 1983; CARVALHO *et al.*, 1996; LEUZZI JUNIOR *et al.*, 2003). Com a realização da presente pesquisa demonstrou-se a ocorrência da doença em mais 22 municípios do Estado do Paraná: Bandeirantes, Campina Grande do Sul, Carambeí, Cascavel, Flor da Serra do Sul, Francisco Beltrão, Guaporema, Icaraíma, Mangueirinha, Maripá, Marmeleiro, Nova Olímpia, Palotina, Pinhais, Piraí do Sul, Renascença, Rondon, Santo Antônio da Platina, São João, Teixeira Soares, Terra Roxa, Vitorino. Em todos os municípios estudados nessa pesquisa, houve a ocorrência de pelo menos um animal soro-reagente a IDGA, sendo assim 25/25 (100%) dos municípios estudados foram considerados positivos.

Os resultados apresentados nas TABELA 6, TABELA 7 e GRÁFICO 2, referentes a influência dos fatores etários na prevalência de anticorpos anti-Vírus da LEB, demonstraram haver concordância entre a dinâmica desses anticorpos, pois tanto nas pesquisas realizadas e incluindo esta, o número de animais soro-

reagentes positivos aumenta conforme aumenta a idade dos animais (LEITE *et al.*, 1984; BIRGEL *et al.*, 1988b; TÁVORA; BIRGEL, 1991; BIRGEL *et al.*, 1994; BIRGEL JUNIOR *et al.*, 1995; D'ANGELINO *et al.*, 1998; MOLNAR *et al.*, 1998). A prevalência de anticorpos contra o VLB ocorre de uma maneira gradativa significativa em animais com idade maior que 12 meses, sendo mais significativa com relação a este estudo após os 60 meses de idade.

Apesar dos resultados expostos nas TABELAS 8 e 9 (GRÁFICO 3), referentes a estratificação do grupo experimental I, não terem apresentado diferença significativas entre si, os animais na faixa etária de menores ou iguais 30 dias, >30 e ≤ 60 dias, >60 e ≤ 120 dias, > 120 e ≤ 180 dias obtiveram prevalências de 72,73%, 21,42%, 27,27%, 52,94%, respectivamente. Este resultado pode estar relacionado com a alta prevalência nos rebanhos estudados ou então, segundo Romero, *et al.* (1983) bezerros recém-nascidos podem apresentar anticorpos contra o VLB, pela ingestão do colostro proveniente de vacas infectadas. Outra justificativa para este resultado seria o fato da possibilidade da transferência passiva de vírus via placenta (HÜBNER *et al.*, 1997). Estas duas situações explicariam a alta prevalência 8/11 (72,73%) de animais infectados com ≤ 30 dias de idade nessa pesquisa ou a média da prevalência dos animais ≤ 180 dias foi de 38,67%, o fato da presença de anticorpos contra o VLB em bezerros também comprovado por outros pesquisadores (BIRGEL *et al.*, 1988; TÁVORA; BIRGEL, 1991; BIRGEL *et al.*, 1994; BIRGEL JUNIOR *et al.*, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 1997, D'ANGELINO, 1991; D'ANGELINO *et al.*, 1998).

Outra questão das oscilações apresentadas nos animais ≤ 6 meses de idade, além da ação dos anticorpos maternos seria o aumento dos anticorpos após 120 dias de vida, isso pode estar relacionado com o manejo desses animais, uma vez que, nessa idade o contato com animais adulto e possíveis transmissores da doença é maior.

Ao compararmos a prevalência em bezerros com idade ≤ 6 meses 38,67% do presente estudo, com o trabalho realizado por Carvalho *et al.*, (1996) em animais da mesma idade que apresentou prevalência 8,7%, observou-se que os resultados obtidos foram mais elevados. Isso pode ter ocorrido devido à alta infecção dos rebanhos estudados. Um trabalho realizado por Birgel Junior *et al.*, (2006) demonstrou a ausência de anticorpos em animais ≤ 6 meses contrariando o resultado do presente trabalho. Uma possível explicação seria que os animais da

raça Simental no Brasil são criados extensivamente como os da raça Nelore, que tendem a ter uma prevalência menor (BIRGEL *et al.*, 1994).

Analisando os fatores relacionados ao sexo dos animais (TABELA 8 e 9), os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram que não houve diferença significativa entre a prevalência de machos e fêmeas, concordando com os trabalhos realizados nos Estados do Amazonas, Piauí e Ceará (CARNEIRO *et al.*, 2003; SILVA, 2001; ABREU *et al.*, 1994).

Dois manejos relacionados à transmissão da LEB foram estudados através dos questionários de uma forma indireta. Os resultados obtidos na TABELA 10 revelam que em 96,36% das propriedades estudadas tinham como forma de manejo a reutilização das agulhas e seringas sem previa desinfecção e que em 78,18% das propriedades reutilizavam luvas de palpação. Estes dados causaram preocupação, pois se sabe que a reutilização de agulhas e seringas e a palpação retal de vários animais com a mesma luva podem ser responsáveis pela transmissão do vírus dos animais positivo para os susceptíveis (JOHNSON; KANEENE, 1992).

Com relação às informações sobre a doença, provas realizadas e animais positivos nas propriedades (TABELA 11) pode-se comprovar que 56,36% dos proprietários têm algumas informações sobre a doença; 9,09% das propriedades faziam a prova de LEB nos animais que compraram de outras propriedades; 14,55% propriedades afirmaram que houve caso de animais positivos para LEB; 43,64% afirmaram que não havia casos animais positivos nas propriedades e 41,82% afirmaram não saber se havia ou não animais positivos nas propriedades. Com exceção de uma propriedade localizada em Palmeira, todas as outras estudadas não faziam nenhum tipo de prevenção da doença, mesmo sabendo de algumas informações sobre a LEB. Isso explicaria o aumento de 136,91% da prevalência dos animais em 25 anos após o primeiro levantamento epidemiológico da doença no Estado, pois apesar das informações que os médicos veterinários e responsáveis pela fazendas têm sobre a doença, as medidas de prevenção não são empregadas satisfatoriamente.

Os rebanhos estudados foram divididos segundo o tipo de manejo e número de animais por rebanho apresentados na TABELA 12. Observa-se que a prevalência dos animais que apresentam o manejo intensivo foi de 43/88 (48,86%), manejo semi-intensivo 849/471 (55,47%) e no manejo extensivo 20/122 (16,39%).

Quando relacionamos o número de animais em cada propriedade e o manejo realizado nas mesmas, observa-se que em propriedades dentro de um mesmo sistema o aumento da prevalência está relacionado com o aumento de animais nos rebanhos. Sendo assim, propriedades com o manejo extensivo com rebanhos com número menor ou igual a 50 animais, >50 e \leq 100 animais e >100 animais, apresentaram uma prevalência de 1,37%, 29,03%, 55,56%, respectivamente. As propriedades com manejo semi-intensivo em propriedades de \leq 50 animais, >50 e \leq 100 animais e >100 animais apresentaram uma prevalência de 47,52%, 51,72% e 58,95%, respectivamente. As duas propriedades de manejo intensivo eram com mais de 100 animais apresentaram prevalência de 48,86% semelhante à prevalência geral do presente trabalho. O trabalho realizado por Leuzzi Junior *et al.* (2003) no Estado do Paraná, apresentou resultados diferentes do presente estudo, uma vez que, as propriedades com rebanhos menores que cem animais tinham uma prevalência maior que as propriedades com rebanhos maiores que cem bovinos.

As observações da presente dissertação a respeito de manejo e número de animais por propriedade foram relatadas em outros trabalhos anteriores. Segundo Carvalho *et al.* (1996) que comparam propriedades de leite tipo B e tipo C, observaram que as propriedades de leite tipo B apresentavam prevalências maiores que as de tipo C. Concluindo então que as maiores taxas de prevalências foram encontradas nos rebanhos com mais tecnificação, confirmando a relação entre o sistema de criação e a prevalência da Leucose Enzoótica Bovina. Os autores ainda relataram que a alta prevalência da doença estaria ligada com a compra de animais de alto padrão genético com finalidade de melhoras a genética e a possibilidade dos mesmos estarem infectados pelo vírus. Outro trabalho realizado no Estado do Rio Grande do Sul relatou que quanto maior a tecnificação da propriedade maior seria a prevalência da doença, pois mais intensas são as práticas de manejo realizado nos animais aumentando assim o risco de transmissão da doença (FLORES *et al.*, 1992).

Fica evidente que houve um aumento de animais soro-reagentes ao vírus causador da Leucose Enzoótica Bovina em bovinos da raça Holandesa Preta e Branca, criados no Estado do Paraná. Este fato pode ter ocorrido devido à falta de informação sobre a doença ou em muitos casos ao descaso dos próprios médicos veterinários e proprietários, uma vez que, a doença não causa perdas econômicas

visíveis e diretas como o que ocorre com outras doenças como Brucelose e Tuberculose.

É necessário que haja um programa de controle e erradicação para LEB no Estado do Paraná, pois nos últimos anos o mesmo passou de importador para exportador da doença.

6 CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos através da metodologia empregada e da amostragem constituída de animais de 55 propriedades de produção leiteira, da raça Holandesa Preta e Branca, criada no Estado do Paraná permitiu chegar às conclusões, a seguir detalhadas.

A prevalência de Leucose Enzoótica Bovina em bovinos da raça Holandesa Preta e Branca, avaliadas de junho de 2006 a dezembro de 2007, teve uma média geral de 49,04% de animais reagentes.

As taxas de prevalências da infecção pelo VLB, nos animais dos rebanhos estudados aumentaram gradativamente e significativamente nos animais maiores que 12 meses, tornando-se mais significativo em animais com idades maiores que 60 meses.

A dinâmica de anticorpos anti-VLB nos bezerros com idades menores ou iguais a 6 meses de idade demonstraram a degradação entre 30 e 120 dias, para a partir de 120 a 180 dias demonstrar um crescimento gradativo com o desenvolvimento etário como conseqüência às possíveis infecções ativas.

Não houve diferença significativa entre machos e fêmeas.

Apesar dos responsáveis pelos animais terem informações sobre a LEB, não dão a devida atenção aos métodos de prevenção e controle.

As propriedades de manejo extensivo apresentaram uma menor prevalência que as propriedades de manejo semi-intensivo e intensivo.

Quanto maior o número de animais nas propriedades maior foi a prevalência de doença.

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**, Belo Horizonte, 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**, Salvador, v. 17, n. 1, p. 67-90, 1994.
- AGRESTI, A.; PONTI, W.; ROCCHI, M.; MENEVERI, R.; MAROZZI, A.; CAVALLERI, D.; PERI, E.; POLI, G.; GINELLI, E. Use of polymerase chain reaction to diagnose leukemia virus infection calves at birth. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 54, n. 3, p. 373-378, 1993.
- AIDA, Y.; MIYASAKA, M.; OKADA, K.; ONUMA, M.; KOGURE, S.; SUZUKY, M.; MINOPRIO, P.; LEVY, D.; IKAWA, Y. Further phenotypic characterization of target cells for bovine leukemia virus experimental infection in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 50, p. 1946-1951, 1989.
- ALENCAR FILHO, R. A. Leucograma de bovinos nacionais e estrangeiros com vista ao estudo da Leucose. **O Biológico**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 181-184, 1970.
- ALENCAR FILHO, R. A. Imunodifusão como recurso diagnóstico da leucemia linfática crônica em bovinos. **O Biológico**, São Paulo, v. 44, p. 27-28, 1978.
- ALENCAR FILHO, R. A.; MAZANTI, M. T.; SAAD, A. D.; POHL, R. Levantamento preliminar da infecção pelo vírus da Leucemia Linfática Crônica (L.L.C.) dos bovinos no estado de São Paulo. **O Biológico**, São Paulo, v. 44, n. 3/4, p. 47-54, 1979.
- ALENCAR FILHO, R. A. Leucose dos Bovinos. **O Biológico**, São Paulo, v. 47, p. 207-212, 1981.
- ALENCAR FILHO, R. A.; RODRIGUES, F. M.; VIANNA, W.O. Alterações do leucograma em bovinos positivos à imunodifusão para a leucose enzoótica. **O Biológico**, São Paulo, v. 47, n. 4, p. 103-106, 1981.

ALFONSO, R.; ALMANSA, J. E.; BARREIRA. Sorological prevalence and evolution of the risk factors of bovine leukosis in the Bogotá savannah and the Ubaté and Chiquinquirá Valleys, Colombia. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, Paris, v. 17, n. 3, p. 723-732, 1998.

ALTANER, C.; ZAJAC, V.; BAN, J.A. A simple and inexpensive method for detection of BLB infected cattle based on modified ELISA principle. **Zentralblatt für Veterinärmedizin**, Berlin, v. 29, n. 8, p. 583-590, 1982.

ALTANER, C.; MERZA, M.; ALTANEROVA, V.; MOREIN, B. Envelope glycoprotein gp51 of bovine leukemia virus is differently glycosylated in cells of various species origin. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 36, p. 163-177, 1993.

ANDRADE, J. R. A.; ALMEIDA, M. M. R. Prevalência da Leucose Enzoótica Bovina na Bacia Leiteira de Goiânia, Goiás. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 10, n. 60, p. 49-53, 1991.

ARITA, G. M. M.; GONÇALVES, C. D.; SABER, A. F.; GERMANO, P. M.L.; DEAK, J. G.; KOTAIT, I. Estudo epidemiológico da Leucose Enzoótica dos Bovinos no Vale do Paraíba, São Paulo, **Resumos**. São Paulo: Secretaria da Agricultura e abastecimento do estado de São Paulo. 1992. p. 30.

BENDIXEN, H. J. Methoden and Ergebnisse der systematischen Bekämpfung der Rinderleukose in Danemark. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Hanover, v. 68, n. 3, p. 100-104, 1961.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; D'ANGELO, J. L.; BENESI, F. J.; BIRGEL, E. H. Prevalência da Infecção pelo Vírus da Leucose dos Bovinos, em Animais da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 4, p. 93-99, 1995.

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 bovina em animais da raça Simental, criados no Estado de São Paulo. **ARS veterinária**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2006.

BIRGEL, E. H.; ARAÚJO, L. M.; REICHMANN, C. E.; ARAÚJO, W. P.; D'ANGELINO, J. L.; GARCIA, M. Influência da premunicação no quadro leucocitário de bovinos da raça Holandesa importados do Canadá. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1974. p. 161-162.

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.

BIRGEL, E. H.; D'ANGELINO, J. L.; BENESI, F. J.; HAGIWARA, M. K.; PRADO, M.S.S. Considerações sobre a Leucose Enzoótica dos bovinos adultos em rebanho leiteiro criado no Estado de São Paulo. I - Prevalência de soro-reagentes. In: SEMANA DE VETERINÁRIA DA FMVZ/USP, 2., 1983, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1983. p. 70.

BIRGEL, E. H.; D'ANGELINO, J. L.; GARCIA, M.; MARÇAL, W. S. Estudo preliminar sobre a ocorrência da Leucose dos Bovinos adultos criados na Região de Campinas. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 43., 1988, Campinas, SP. **Resumos**. Campinas: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1988a. p. 30.

BIRGEL, E.H.; D'AGELINO, J.L.; GARCIA, M.; ZOGNO, M.A. Ocorrência da infecção causada pelo vírus da Leucose Bovina em gado leiteiro criado no Estado de São Paulo. Avaliação pela detecção de anti-corpos séricos por imunodifusão com antígeno viral. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 43., 1988, Campinas, SP. **Resumos**. Campinas: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1988b. p. 31.

BIRGEL, E. H.; D'ANGELINO, J. L.; GARCIA, M.; BENESI, F. J.; ZOGNO, M. A. A ocorrência da infecção causada pelo vírus da Leucose bovina no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 67-73, 1991.

BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J.; D'ANGELINO, J. L.; AYRES, M. C. C.; COSTA, J. N.; BARROS FILHO, I. R.; BIRGEL JÚNIOR, 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. 55-66, 1994.

BIRGEL, E. H.; AYRES, M. C. C.; BIRGEL JUNIOR, E. H. Prevalência de anticorpos séricos antivírus da leucose enzoótica dos bovinos, em animais criados na bacia leiteira do estado de Alagoas, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 3., 1999. São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 66, suppl., p. 129, 1999.

BOUILLANT, A. M.; RUCKERBAUER, G. M.; EAGLESOME, M. D.; SAMAGH, B. S.; SINGH, E. L.; HARE, W. C.; RANDALLGC. Attempts to isolate bovine leukemia and bovine syncytial viruses from blood, uterine flush fluid, unfertilized ova and embryos from infected donor cattle. **American Research Veterinary**, v. 12, n. 4, p. 385-395, 1982.

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**, Raanana, v. 9, n. 1, p. 11-15, 1986.

BRENNER, J.; VAN-HAAM, M.; SAVIR, D.; TRAININ, Z. The implication of BVL-infection in the production, reproduction capacity and survival rate of a dairy cow. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 22, p. 299-305, 1989.

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

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

BRUNNER, M.A.; LEIN, D.H.; DUBOVI, E.J. Experiences with the New York State Bovine Leukosis Virus eradication and certification program. **Veterinary Clinics North America : Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 13, n. 1, p. 143-150, 1997.

BURKI, F. Experiences gained and progress achieved with BLV bovine leucosis virus elimination from Austria livestock In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS , 4., 1980, Bologna. **Anais...** Bologna: The Hague, Martinus Nijhoff, 1982. p. 516-528.

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

BURRIDGE, M. J.; PUHR, D. M.; HANNEMANN, J. M. Prevalence of bovine leukemia virus infection in Florida. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 179, n. 7, p. 704-707, 1981.

BURRIDGE, M. J.; THURMOND, M. C.; MILLER, J. M.; SCMERR, M. J. F.; VANDER MAATEN, M.J. Duration of colostral antibodies to bovine leukemia virus by serologic tests. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 43, n. 10, p. 1866-1867, 1982a.

BURRIDGE, M. J.; THURMOND, M. C.; MILLER, J. M.; SCMERR, M. J. F.; VANDER MAATEN, M.J. Fail in antibody titer to Bovine Leukemia Virus in the perparturient period. **Canadian Journal Comparative Medicine**, Ottawa, v. 46, n. 3, p. 270-271, 1982a.

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. Frequência de soropositividade para Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos de Minas Gerais. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 5, p. 20-26, 2002.

CARNEIRO, P.A.M.; ARAUJO, W.P.; BIRGEL, E.H.; SOUZA, K.W. Prevalência da Infecção pelo Vírus da Leucose dos Bovinos em rebanhos leiteiros criados no Estado do Amazonas, Brasil. **Acta-Amazonica**, Manaus, v. 33, n. 1, p. 111-125, 2003.

CARVALHO, L.; BENESI, F.J.; BIRGEL JUNIOR, E.H.; BIRGEL, E.H. Prevalência de anticorpos séricos de anti-vírus da Leucose dos bovinos em animais da raça Holandesa preto e branca e zebuínos da nelore, criados no Pólo Regional de Londrina, estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 53-57, 1996.

CEPANZO. Centro Panamericano de Zoonosis. **Procedimentos para estudios de prevalencia por muestro**. Buenos Aires, 1979. 35 p. (Nota técnica, 18, rev. 1).

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

CHOI, K. Y.; MONKE, D.; STOTT, J. F. Absence of bovine leukosis virus in semem of seropositive bulls. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 14, p. 403-406, 2002.

COCKERELL, G. L.; REYES, R. A. Bovine Leukemia Virus-Associated Lymphoproliferative Disorders. In: SCHALM, O. W.; FELDMAM, 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**, Brasília, v. 29, n. 8, p. 1287-1292, 1994.

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

CRIFE, W.; RODOLPH, W.; HIED, D.; RUSH, K.; LENTON, J. A.; SOFFIA, A. Estudio Hematológico de la leucosis enzoótica bovina em lecheria de la Provincia de Santiago. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 2, p. 40-46, 1971.

CUNHA, R. G.; TEIXEIRA, A. C.; SOUZA, M. Antígenos do vírus da Leucose bovina e anticorpos precipitantes em soros de bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 9, p. 1363-1370, 1982.

DA, Y.; SHANK, R. D.; STEWART, J. A.; LEVIN, H. A. Milk and fat decline in bovine leukemia virus-infected Holstein cattle with persistent lymphocytosis. **Proceeding of the National Academic Sciences of the United State America**, Washington, D.C., v. 14, p. 6538-6541, 1993.

D'ANGELINO, J. L. **Leucose enzoótica dos bovinos, estudo retrospectivo da performance produtiva e reprodutiva de animais infectados e não infectados.** 85p. Tese (Livre Docência em Clínica Médica) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

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

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

DEPELCHIN, A.; LETESSON, J. J.; LOSTRIE-TRUSSART, N.; MAMMERICKX, M.; PORTELLE, D.; BURNY, A. Bovine leukemia virus (BLV)- infected B cells express a marker similar to the CD5 T cell marker. **Immunology Letters**, Amsterdam, v. 20, p. 69-76, 1989.

DERSE, D. Trans-Acting regulatory of bovine leukemia virus mRNA processing. **Journal Virology**, Washington, D.C., v. 62, p. 1115-1119, 1988.

DERSE, D. Bovine leukemia virus transcription is controlled by a virus-encoded trans-acting factor and by cis- acting response elements. **Journal Virology**, Washington, D.C., v. 61, p. 2462-2471, 1987.

DIGLIO, C. A.; FERRER, J. F. Induction of syncytia by the bovine C-type leukemia virus. **Cancer Research**, Baltimore, v. 36, p. 1056-1067, 1976.

DIMITRIÁDES, I. A.; ARTAVANIS, S. Seroepidemiological study of bovine leukemia virus infection in Greece (Peloponnisos) In: INTERNATIONAL SYPOSIUM OF BOVINE LEUKOSIS, 5., Tubingen, 1982. **Anais...**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**, Curitiba, v. 2, p. 33-38, 1980.

DUCREAU, F.; ARRIETA, E.; JIMENEZ, C.; MORENO, E.; RODRIGUEZ, L. Estudina sobre leucosis viral bovine ert Ganado *Bos indicos* en Costa Rica. **Ciências Veterinárias**, México City, v. 9, n. 2/3, p. 95-99, 1987.

EVERMANN, J. F.; DIGIACOMO, R. F.; FERRER, J.F.; PARISH, S.M. Transmission of Bovine Leukosis Virus by blood inoculation. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 47, n. 9, p. 1885-1887, 1986.

EVERMANN, J. F.; JACKSON, M. K. Laboratory diagnostic tests for retroviral infection in dairy and beef cattle. **Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 3, n. 1, p. 87-106, 1997.

FERRER, J.F.; BALICA, V.; DIGLIO, C. Recent studies on the characterization of the bovine leukemia vírus (VLB) ; development of new methods for the diagnosis of BLV infection. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 159-184, 1976.

FERRER, J. F.; PIPER ,C.E.; ABT, D. A.; MARSHAK, R. R. Diagnosis of bovine leukemia vírus infection . evaluation of serlogic and hematologic tests by a direct infection detetion assay. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 38, n. 2, p. 1977-1981, 1977.

FERRER, J.F. Bovine leukosis: Natural transmission and principles of control. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 175, n. 12, p. 1281-1286, 1979.

FERRER, J.F.; GIBBS, E.R.P.J.; MURPHY, F.A. **Veterinary virology**. 2nd ed. Sandiego: Academia Press, 1993. p. 561-595.

FERRER, J.F.; PIPER, C.E. Role of colostrum and milk in the natural transmission of the Bovine Leukemia Virus. **Cancer Research**, Baltimore, v. 41, p. 4906-4909, 1981.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; PEREIRA, N. M.; PORTOLAN, J. A. B.; CHIELLE, L. L. Prevalência de anticorpos contra o vírus da Leucose Bovina (VLB) no rebanho leiteiro de Santa Maria, RS. **Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria**, Santa Maria, v. 18, n. 1, p. 67-73, 1988.

FLORES, E.F.; WEIBLEIN, R.; REBELATTO, M.C. Aspectos epidemiológicos da infecção pelo Vírus da Leucose Enzoótica Bovina (BLV) na região central do Rio Grande do Sul, Brasil. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 10, n. 58, p.25-29, 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**, Porto Alegre, v. 12, n. 68, p. 5-8, 1992.

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

GARCIA, M.; D'ANGELINO, J. L.; BENESI, F. J.; BIRGEL, E. H.; MARÇAL, W. S. Avaliação de leucogramas de fêmeas da raça holandesa preta e branca naturalmente infectadas pelo vírus da leucose Bovina. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 16., In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 6., Salvador, 1990. **Anais**. p. 679-684.

GARCIA, M. ; D'ANGELINO, J. L. ; BENESI, F. J. ; BIRGEL, E. H. ; MARÇAL, W. S. Avaliação do leucograma de fêmeas naturalmente infectadas pelo Vírus da Leucose Bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 3/4, p. 67-73, 1991a.

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**, São Paulo, v. 15, p. 31-42, 1991b.

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

GARCIA, M.; BASTOS, P. A. S.; SILVA, M. M.; MARTINS, M. F. M.; LETTRY, V. Concentração sérica de gamaglobulinas em bovinos naturalmente infectados pelo vírus da leucose enzoótica bovina. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 62-66, 2002.

GOMES, M.; MOOJEN, V.; FERNANDES, J.C.T.; FERREIRO, L. Detecção de anticorpos séricos contra o Vírus da Leucose Enzoótica Bovina (VLB) em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande Sul**, Porto Alegre, v. 13, p. 15-22, 1985.

GÖTZE, R.; ROSENBERGER, G.; ZIEGENHAGEN, G. Die Leukose des Rindes; ihre hamatologische und klinische Diagnosis. **Monatshefte für Veterinärmedizin**, Jena, v. 9, p. 517-526, 1954.

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

HOPKINS, S. G.; ERVERNANN, J. F.; DIGIACOMO, R. F.; PARISH, S. M.; FERRER, J. F.; SMITH, S.; BANGERT, R. L. Experimental transmissoin of Bovine Leukosis Vírus by simulated rectal palpation. **Veterinary Record**, London, v. 122, n. 16, p. 389-391, 1988.

HOPKINS, S. G.; DIGIACOMO, R. F. Natural transmission of bovine leukemia vírus in dairy and beef cattle. **Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 13, n. 1, p.107-128, 1997.

HÜBNER, S. O.; WEIBLEN, R.; TOBIAS, F. L.; CANCIAN, N.; BOTTON, S. A.; OLIVEIRA, M.; ZANINI, M. Evolução da imunidade passiva contra o vírus da leucose bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2/3, p. 87-90, 1996.

HÜBNER, S. O.; WEIBLEN, R.; MORAES, M. P.; SILVA, A. M.; CARDOSO, M.J.L.; PEREIRA, N.M.; ZANINI, M. Infecção intra-uterina pelo vírus da leucose bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 21, n. 4, p. 8-11, 1997.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia médica**. 14. ed. Mexico: Ed. El Manual Moderno, 1992. p. 595-607.

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

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

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**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 3, p. 125-129, 1983.

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

KERKHOF, P.; HEREMANS, H.; BURNY, A.; KETTMANN, R.; WILLEMS, L. In Vitro and In Vivo Oncogenic potential of Bovine Leukemia Virus G4 Protein. **Journal Virology**, Washington, D.C., v. 72, n. 3, p. 2554-2559, 1998.

KNUTH, P.; VOLKMAN, O.; Untersuchungen über die limphozymotose des Rindes. **Zeitschrift für Infektionskrankheiten Parasitärekrankheiten und Hygiene Haustiere**, Berlin, v. 17, p. 393-467, 1916.

LASSAUZET, M. L. G.; THURMOND, M. C.; JOHNSON, W. O.; HOLMBERG, C.A. Factors Associated with in utero or periparturient transmission of Bovine Leukemia virus in calves on a California Dairy. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 55, p. 264-268, 1991a.

LAUSSAUZET, M. L. G.; THURMOND, M. C.; JOHNSON, W. O.; STEVENS, F.; PINCANSO, J. P. Factors associated with transmission of Bovine Leukemia Virus by contact in cows on a California dairy. **American Journal Epidemiology**, Baltimore, v. 133, n. 2, p. 164-176, 1991b.

LEITE, R. M.; MODENA, C. M.; MOREIRA, E. C.; ABREU, J. J. Leucose enzoótica bovina em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 17., 1980, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 1980. p. 207.

LEITE, R.C.; MODENA, C.M.; MOREIRA, E.C.; ABREU, J.J. Evolução clínica da Leucose Enzoótica Bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 47-57, 1984.

LEITE, R.C.; LOBATO, Z.I.P.; CAMARGOS, M.F. Leucose Enzoótica Bovina. **Revista Conselho Federal Medicina Veterinária**, Brasília, n. 31, p. 20-28, jan./abr. 2004.

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**, Niterói, v. 10, n. 2, p. 93-98, 2003.

LIMA, E. G.; HAYSSAKA, I. M.; PEINADO, M. Inquérito Sorológico para Leucose bovina em gado importado. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 9, n. 3-4, p. 137-143, 1980.

LUCAS, M.H.; DAWSON, M.; CHASEY, D.; WIBBERLEY, G.; ROBERTS; D.H. Enzootic bovine leucosis virus in semen. **Veterinary Research**, Paris, v. 106, n. 6, p. 128, 1980.

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**. 30 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agroveterinária/Sanidade Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lajes, 2001.

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. **Annalis de Recherches Veterinaires**, Paris, v. 9, n. 4, p. 885-894, 1978.

MCDONALD, R.; FERRER, J. F. Detection, quantitation and characterization of the major internal virion of the bovine leukemia virus by raio immunoassay. **Journal of the National Cancer Institute**, Cary, v. 57, n. 4, p. 875-882, 1976.

MATHEISE, J. P.; DELMCOMMENNE, M.; MAGER, A.; DIDEMBOURG, C. H.; LETESSON, J. J. CD5+ cells from bovine leukemia virus infected cows are activated cycling cells responsive to interleukin 2. **Leukemia**, Basingstoke, v. 6, p. 304-309, 1992.

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**, Paris, v.9, n. 4, p.743-746,1978.

MATOS, P. F.; BIRGEL JUNIOR, Eduardo Harry ; 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**, São Paulo, v. 42, p. 171-180, 2005.

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**, Belo Horizonte, 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. São Paulo: 1991. 102p. **Dissertação (Mestrado)**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo – Patologia Bovina.

MERKT, H.; GIUDICE, J. C. O.; MÜLLER, J. A. Leucose Bovina: concepção moderna e primeira verificação da doença no Rio grande do Sul. **Revista de Escola de Agronomia e Veterinária do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 2, p. 7-19, 1959.

MILLER, J. M.; MILLER, L. D.; OLSON, C.; GILLETTE, K. G. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures in reference to bovine lymphosarcoma. **Journal of the National Cancer Institute**, Cary, v. 43, p. 1297-1305, 1969.

MILLER, L. D.; MILLER, J. M.; OLSON, C. Inoculation of calves with particles resembling C-type virus from cultures of bovine lymphosarcoma. **Journal of the National Cancer Institute**, Cary, v.48, n.2, p.423-428, 1972.

MILLER, J. M.; VAN DER MATTEN, M. J. Sorologic detection of Bovine Leukemia Virus infection. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 31, p.47-55, 1976

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

MILLER, J. M.; VAN DER MAATEN, M. J. Bovine leukosis – Its Importance to the Dairy Industry in the United States. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 65, n. 11, 1982.

MODENA, C.M. Leucose Enzoótica Bovina. I Comparação de Métodos de diagnóstico. II. Evolução sorológica em bezerros. III. Interferência com a vacina anti-febre aftosa . **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Belo Horizonte**, Belo Horizonte, v. 33, n. 3, p. 624-625, 1981.

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**, Belo Horizonte, v. 35, n. 4, p. 565-573, 1983.

MODENA, C. M.; GOUVEIA, A. M. G.; AZEVEDO, N. A.; SILVA, J. A.; VIANA, F. C.; REHFELD, O. A. M. Leucose Enzoótica Bovina: I - prevalência em rebanhos de alta linhagem no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p.39-45, 1984.

MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E.; SANTOS, A. M.; CORÕA, A. C.; TÚRY, E. Leucose em bovinos jovens; dados epidemiológicos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, 1998.

MOLNÁR, E; MOLNÁR, L.; DIAS, H.T.; SILVA, A.O.A.; VALE, W.G. Ocorrência de leucose enzoótica dos bovinos no Estado do Pará, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v.19, n.1, p.171-175, 1999.

MORAES, M. P.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F.; OLIVEIRA, J. C. D.; REBELATTO, M.C.; ZANINI, M.; RABUSKE, M.; HÜBER, S.O.; PEREIRA, N.M. Levantamento sorológico da infecção pelo vírus da Leucose Bovina nos rebanhos do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.26, n.2, p.257-262, 1996.

MUSCOPLAT, C.C.; JHNOSON, D.W.; POMEROY, K.A.; OLSON, J.M.; LARSON, V.L.; STEVENS, J.B.; SRENSON, D.K. Lymphocyte subpopulations and immunodeficiency in calves with acute lymphocytic leukemia. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.35, p.1571-1573, 1974.

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

NATIONAL ANIMAL HEALTH MONITORING SURVEILLANCE (NAHMS). **Bovine Leukosis Virus (BLV) in U.S. Beef Cattle, 1997**. Disponível em: <http://nahms.aphis.usda.gov/beefcowcalf/index>>. Acesso 15/01/2008.

NUOTION, L.; RUSANEN, H.; SIHVONEN, L.; NEUVONEN, E. Eradication of bovine leucosis from Finland. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.59, n.1-2, p.43-49, 2003.

NOUGAYREDE, P.; QUENTEL, C.; GAYOT, C. Enzootic bovine leucosis: an epidemiological survey among cattle in the west of France by precipitating antibody detection. **Annale de Recherches Veterinaires**, Paris, v. 9, n. 4, p. 755-760, 1978.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **International Animal Health Code**. Paris: OIE, 2001a. Disponível em: <<http://www.oie.int/Norms/MCode/htm>>. Acesso em: 17/03/ 2007a.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **Manual of standards for diagnostic tests and vaccines**. 4.ed. Paris: OIE, 2000. Disponível Em: <<http://www.oie.int/eng/Norms/mmanual/htm>>. Acesso em: 17/03/ 2007b.

OLIVEIRA, A. R.; BARRETO, C. S. F.; MERICHELLO, D.; SANQUENTIN, W.M. Epidemiologia da Leucose Bovina: Ocorrência de anticorpos em faixas etárias. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.19, n.6, 1997.

ONUMA, M.; OLSON, C.; BAUMGARTNER, L. E. An ether sensitive antigen associated with bovine leukemia virus infection. **Journal National Cancer Institute**, Cary, v. 55, p. 1155-1158, 1975.

ONUMA, M.; HONMA, T.; MIKAMI, T.; YOHKAWA, H.; YOSHIKAMA, T. Survey for antibodies to bovine leukemia virus in dairy and beef cattle in Japan. **Japanese Journal of Veterinary Science**, Tokyo, v. 40, n. 6, p. 691-696, 1978.

ONUMA, M.; ISHIHARA, K.; OHTANI, T.; HONMA, T.; MIKAMI, T.; IZAWA, H. Seroepizootiological survey on antibodies against bovine leukemia virus on Japanese black cattle. **Japanese Journal of Veterinary Science**, Tokyo, v. 41, n. 6, p. 601-605, 1979.

ORLIK, O.; SPLITTER, G. A. Progression to persistent lymphocytosis and tumor development in bovine leukemia virus (BLV)-infected cattle correlates with impaired proliferation of CD4+ T cells in response to *gag*- and *env*-encoded BLV proteins. **Journal Virology**, Washington D.C., v.70, p.7584-7593, 1996.

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**, Amsterdam, v.61, p.249-262, 2003.

PARRISH, C. R.; OLIVER, R. E. WEDDELN, W.; CORRIN, K. C. Bovine leukemia virus infection in New Zealand cattle. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v.30, n. 5, p. 56-58, 1982.

PELZER, K. D. Economics of bovine leukemia vírus infection. **Veterinary Clinics of North American Animal Food Practice**, Philadelphia, v.13, p. 129-141, 1997.

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

POLLETO, R.; KREUTZ, L. C.; GONZALES, J. C.; BARCELLOS, L. J. G. Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n.2, p. 595-598, 2004.

POWERS, M. .; RADKE, K. Activation of bovine leukemia virus transcription in lymphocytes from infected sheep: rapid transition through early to late gene expression. **Journal Virology**, Washington D.C., v.66, p.4769-4777, 1992.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, C. D.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária** - Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 9^a ed., 2002, p.940-951.

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

REBHUN, W. C. **Doença do gado leiteiro**. São Paulo: Roca, 2000, p. 596- 605.

REINHARDT, G.; HOCHSTEIN-MINTZET, V.; RIEDEMANN, S.; LEAL, H.; NIEDDA, M. Estúdio sorológico de leucosis enzootica bovina enun predia de la provencia da Valdivia y su relation a parâmetros productivos y reprodutivos. **Journal Veterinary Medicine B**, Berlin, v.35, p.178-185. 1988.

RIBEIRO, A. G. P. Estudos hematológicos sorológicos e citoquímicos em animais reagentes e não reagentes à Leucose Bovina. **Arquivo Fluminense de Medicina Veterinária**, Niterói, v. 2, p. 121-122, 1987

ROBERTS, D. H.; LUCAS, M. H.; WIBBERLEY, G.; CHASEY, D. Investigation into the susceptibility of cattle to Bovine Leukosis Virus following inoculation by various routes. **Veterinary Record**, London, v.110, n.6, p.222-224, 1982.

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

ROMERO, C. H.; CRUZ, G. B.; ROWE, C. A. Transmission of bovine leukemia vírus in milk. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrech, v.2, p. 215-218, 1983.

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

SANDEV, N.; ILIEVA, D.; SIZOV, I.; RUSENOVA, N.; ILIEV, E. Prevalence of enzootic leukosis in the Republico f Bulgária in 1997-2004. **Veterinarski Archiv**, Zagreb, v. 73, n. 3, p. 263-268, 2006.

SANTOS, J. A.; PINHEIRO, P. V.; SIVA, L. J. Linfossarcoma com lesão de língua e câmaras cardíacas em bovinos. **Arquivo da Escola Fluminense de Medicina Veterinária**, Niterói, v.2, p.1-8, 1959.

SANTOS, J. L.; RIBEIRO, M. F. B.; FARIA, J. E.; SALCEDO, J. H. P. Epidemiologia da Leucose Enzoótica Bovina no estado de Minas Gerais .I- Prevalência na Zona da Mata. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.37, n.4, p.359-368, 1985.

SCARCI, R. M.; BENTO, C.L.; MEDEIROS, E. L.; GUARENTI, P. J. Avaliação dos testes sorológicos e hematológicos no diagnóstico da Leucose Bovina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 17. 1980, Fortaleza. **Anais**. Fortaleza: 1980. p. 137.

SCHALM, O. W.; FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Veterinary Hematology**, 5th ed. Lippincott: Williams & Williams, 2000, 1344p.

SCOTT, H. M.; SORENSEN, O.; WU, J. T. Y.; CHOW, E. Y. W.; MANNINEN, K.; VAN LEEUWEN, J. A. 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. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 47, p.981-991, 2006.

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.** São Paulo, 2001. 176p. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

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.** São Paulo, 1998. 118p. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

SIMÕES, S. V. D.; BIRGEL, E. H.; BIRGEL JUNIOR, E. H., AYRES, M. A. C. Prevalência da leucose bovina em animais criados no estado do Rio Grande do Norte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 4., **Anais**. Campo Grande, 2001.

STRAUB, O. C. Horizontal transmission studies on enzootic bovine leukosis. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 9, n. 4, p. 809-813, 1978.

STRAUB, O.C. Enzootic bovine leukosis - a slow virus disease. **Outlook on Agriculture**, London, v. 8, n. 4, p. 179-184, 1984.

STOKKA, C. L.; SMITH, J. F.; SHIRLEY, J.; FALKNER, T. R.; ANNE, T. Bovine Leukosis. **Kansas State University agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service**, november, 1998. Disponível em: <http://www.oznet.ksu.edu> . Acesso em: 12/03/2007.

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

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

TAVARES, L.; PEREIRA, J.M. Patogenese das infecções por retrovírus da sub-família Oncovirinae. **Revista Portuguesa Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 526, p.61-72, 1998.

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**, Salvador, 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**, Budapest, v. 39, p. 202-204, 1984.

TIERSEUCHENBERICHT. **Amtliche Mitteilung des Bundesministers for Erchrung, Landwirtschaft und Fortsten**, Bonn, 1979-1983.

THEILEN, G.; SCHALM, O.; GILMORE, V. Clinical and hematological studies of lymphosarcoma in herd of cattle. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v.23, p.23-31, 1961.

TOLLE, A. Zur Beurteilung quantitativer hämatologischer befunde im Rahmen der Leukose – Diagnostik. **Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B**, Berlin, v.12, n. 4, p 281-290, 1965.

TOMA, B.; ELOIT, M.; SAVEY, M. Las enfermedades animals por retrovírus: leucosis bovina enzoótica, anemia infecciosa de los équidos, arthritis/ encephalitis caprina. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, Paris, v.9, n.4, p.1077-1119, 1990.

TRUEBLOD, E.S.; BROWN, W.C.; PALMER, G.H.; DAVIS, W.C.; STONE, D.M.; McELWAIN, T.F. Lymphocyte proliferation during bovine leukemia virus induced persistent lymphocytosis is enhanced by T-lymphocyte derived interleukin-2. **Journal Virology**, Washington, D.C.,v.72, n.4, p.3169-3172, 1998.

VALLI, V. E. O. The hematopoietic system. In JUBB,K.V.F.; KENNEDY,P.C.; PALMER,N. **Pathology of Domestic Animals**, 4ed, Academic Press, San Diego, p.114-133, 1992.

VAN DER MAATEN, M. J.; MILLER, J. M. Appraisal of control measures for bovine leucosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.175, n.12, p1287-1290,1979

VAN DER MAATEN, M.J.; MILLER, J. M. Bovine Leukosis Virus. In: DINTER, Z.; MOREINI, B. **Virus Infectious of Ruminants**. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1990. p. 419-429.

VAN DER MAATEN, J. M.; MILLER, J. M.; SCHIMMERR, M. J. F. In útero transmission of bovine leukemia virus. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v.42, n.6, p.1052-1054, 1981.

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**, Porto Alegre, v.5, n.1, p.139-141, 1999.

VANLEEUVEN, 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.

VANLEEUVEN, 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**, Ottawa, v. 46, p.56-58, 2005.

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

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

WERNERY, U.; SOHMIDT, F. W. Zum Vorkomen der enzootischen rinderleukose in Papua New Guinea. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Hanover v. 92, n. 5, p. 170-172, 1985.

WILLEMS, L.; KETTMANN, R. DEQUIEDT, F.; PORTETELLE, D.; VONECHE, V.; CONIL, I.; KERKHOFS, P.; BURNY, A.; MAMMERICKX, M. In vitro infection of sheep by bovine leukemia virus mutants. **Journal Virology**, Washington, D.C., v.67, p.4078-4085, 1993.

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

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

ANEXO - PREPARAÇÃO DO GEL DE ÁGAR

PREPARAÇÃO DO TAMPÃO

A solução tampão foi preparada misturando-se:

NaCl.....	42,5g
KCl.....	0,1g
Na ₂ HPO ₄ (anidro).....	0,6g
KH ₂ PO ₄	0,1g
EDTA dissódico.....	0,186g
NaN ₃ (azida sódica).....	0,05g
Água destilada q.s.p.	500ml

Foi realizada uma agitação até completa homogeneização e diluição. Ajustou-se o pH para 7,3 com solução de NaOH a 1N e foi conservada a 4°C.

Pesava-se 0,9g de ágar Noble e dissolvia em 100ml de tampão. Fervia-se esta solução em banho maria até o ágar dissolver-se por completo.

Utilizava-se placas de Petri de vidro com 50mm de diâmetro ou lâminas de vidro 3cm x 12cm e lâminas 4,5 cm x 15 cm, ambas sem ranhuras.

Adicionava-se 5ml de ágar a 0,9% ainda quente em cada placa, 11ml de ágar a 0,9% na lâmina de 3cm x 12cm e na lâmina de 4,5 cm x 15 cm .

As placas e lâminas eram mantidas por uma hora em temperatura ambiente (20°C a 25°C) em local livre de pó, permitindo a evaporação da umidade excedente e o resfriamento da ágar.

As placas de ágar não perfuradas eram conservadas com tampas para baixo, as lâminas também eram conservadas até uma semana entre 2 °C a 8 °C, dentro de uma câmara úmida. Antes do uso verificava se o ágar estava ressecado ou coberto de umidade.

PERFURAÇÃO DOS POÇOS

Foi utilizado um cortador padrão com sete perfuradores (um deles central e seis periféricos) com 4mm de diâmetro, com 3mm de distância entre os poços.

O ágar foi cortado somente após o mesmo estar suficientemente solidificado, a fim de evitar fragmentação das bordas no momento da retirada dos cilindros de ágar.

Removeu-se por sucção os cilindros do ágar e a umidade residual de cada poço, usando uma ponteira conectada a uma bomba a vácuo.

As placas e lâminas perfuradas eram utilizadas imediatamente após o corte.

ADIÇÃO DOS REAGENTES E INCUBAÇÃO DAS PLACAS

Os soros testados foram colocados alternadamente ao redor do poço central em um volume de 25 microlitros por poço. Para realização desse procedimento utilizava-se uma micropipeta e ponteiras individuais. Um total de três amostras eram testadas no conjunto de sete poços. Todos deveriam ser preenchidos. Se não houvesse três amostras para testar, era necessário preencher os poços remanescentes com um dos soros testes.

O soro controle positivo era colocado ao lado do soro a ser testado. Também utilizava-se uma micropipeta e uma ponteira. O volume para preencher os poços era de 25 microlitros.

O poço central era preenchido com 25 microlitros de antígeno (Ag), com a utilização de uma micropipeta e ponteira (FIGURA 1).

Importante salientar que tanto os reagentes como os soros testados preenchiam os poços até o nível superior do ágar sem deixar menisco.

As placas eram cobertas, deixadas em repouso alguns minutos antes de movimentá-las. As lâminas apenas ficavam em repouso. Com esse procedimento reduzia-se a possibilidade do derramamento do Ag e soros sobre a superfície do ágar.

As placas e as lâminas eram incubadas em câmara úmida em uma temperatura de 37 °C.

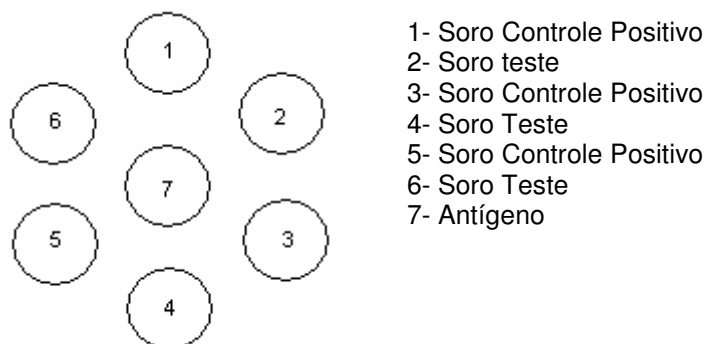


FIGURA 1 – DEMOSTRAÇÃO DE COMO É REALIZADO O TESTE DE IMUNODIFUSÃO EM GEL DE ÁGAR. PARANÁ – 2008
FONTE: O AUTOR (2008)

LEITURA DAS PLACAS

As leituras das placas e das lâminas foram realizadas em ambiente escuro, com o auxílio de um foco de luz forte, feixe estreito, que podia ajustar sua intensidade e posições variáveis, a fim de verificar o aparecimento de linhas de precipitação nas placas e lâminas. A reação era observada contra um fundo preto.

A leitura era feita após 48 horas a 72 horas de incubação. A FIGURA 2 demonstra as possibilidades de leitura das placas.

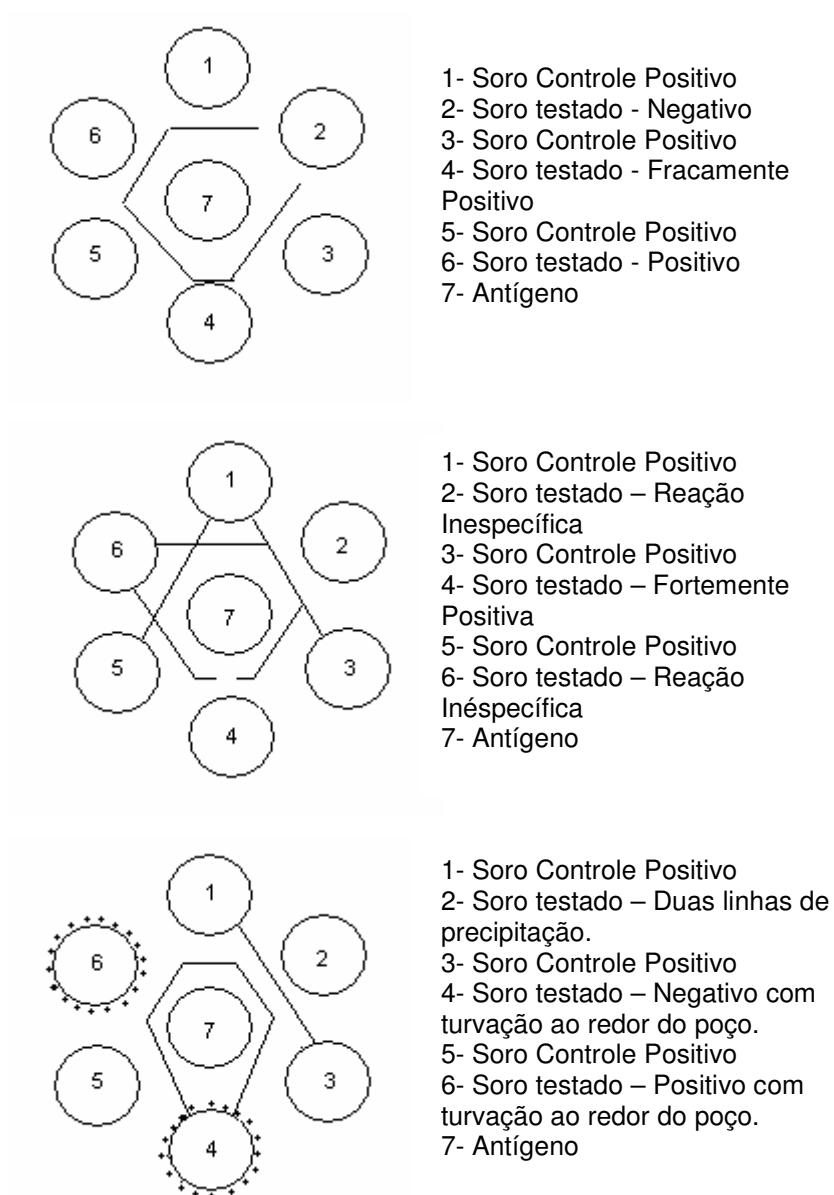


FIGURA 2 – DEMONSTRAÇÕES DAS POSSÍVEIS LEITURAS DO TESTE DE IMUNODIFUSÃO EM GEL DE ÁGAR, UTILIZANDO O KIT DE LEUCOSE BOVINA FABRICADO PELO TECPAR. PARANÁ – 2008
FONTE: O AUTOR (2008)