

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Leucose enzoótica bovina:

Importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral

Raphaella Barbosa Meirelles-Bartoli¹, Daniel Bartoli de Sousa¹

¹Docentes do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás (UFG), Campus Jataí, Unidade Jatobá, Laboratório de Sanidade Animal.

Resumo

A leucose enzoótica bovina é uma doença que está amplamente difundida nos rebanhos leiteiros brasileiros e vem se destacando no cenário nacional e mundial, devido ao grande número de animais descartados e, também, pela quantidade de produtos que são condenados em frigoríficos. Outra preocupação relacionada à enfermidade é a imunossupressão causada pelo vírus da leucemia bovina, tornando os animais suscetíveis a outras doenças, pois trata-se de uma enfermidade causada por um retrovírus. Em relação ao controle e erradicação da leucose enzoótica bovina, a adoção de rígidas medidas de vigilância sanitária animal, através de identificação, isolamento e eliminação dos animais reagentes, em conjunto com práticas de manejo poderão ser capazes de diminuir as possibilidades de transmissão da infecção. Este trabalho tem o objetivo de fornecer uma atualização sobre conceitos epidemiológicos desta enfermidade.

Enzootic bovine leukosis:

Importance of the development of the disease on the viral elimination

Abstract

The enzootic bovine leukemia is a disease that is widespread in Brazilian dairy herds, with featured in the Brazilian economy and worldwide, due to the large number of animals discarded and also by the amount of products that are condemned in slaughterhouses. Another concern is related to the disease causes immunosuppression becoming the animals susceptible to other diseases. It is a disease caused by a retrovirus. In relation to the control and eradication of enzootic bovine leukemia the adoption of stricter measures of animal health vigilance through identification, isolation and removal of reactive animals together with handling practices may be able to decrease the possibility of transmission of infection. The aim of this investigation is provide an update on epidemiologic concepts of this disease.

1. INTRODUÇÃO

1.1 DEFINIÇÃO

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma doença infecciosa altamente contagiosa, de evolução crônica, que acomete bovinos, principalmente o rebanho leiteiro devido às condições intensivas ou semi-intensivas a que são submetidos. Causada por um retrovírus da família Retroviridae que parece afetar a resposta imune humoral e celular dos bovinos infectados, causando diminuição na produtividade e aumento na mortalidade. A grande maioria dos animais infectados não desenvolve nenhuma das formas da doença, ou quaisquer outros sinais clínicos, permanecendo portadores do vírus, sendo que cerca de 30% dos animais infectados por este vírus desenvolvem uma linfocitose persistente e apenas de 1 a 10% dos animais infectados, com idade entre 4 a 8 anos, desenvolvem linfossarcoma, caracterizando a forma clínica da doença. A transmissão vertical apresenta pouca importância, sendo a

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

transmissão horizontal a principal delas. Com relação às consequências, a doença provoca um impacto financeiro na pecuária, principalmente leiteira, causando prejuízos para os produtores e para o agronegócio brasileiro (FERRER, 1980; BURNY et al., 1985; JOHNSON & KANEENE, 1992; BRAGA & LAAN, 2001).

1.2. HISTÓRICO

O termo LEB engloba situações distintas sendo que na forma avançada constata-se a presença de tumor, principalmente em órgãos linfóides de bovinos (baço e linfonodos), já a constatação de animais apenas com a presença de anticorpos para o vírus da leucemia bovina (VLB), caracteriza a fase menos avançada que, com o progresso da infecção, pode levar à fase intermediária na qual aparece o quadro de linfocitose persistente (AMORIL, 2005).

A forma tumoral da LEB é também conhecida, entre outras definições, por linfoma ou linfossarcoma sendo, provavelmente, a doença neoplásica de maior prevalência nesta espécie animal (PARODI, 1987; GRACEY et al., 1999).

Os primeiros relatos sobre a leucose bovina, de autoria de Leisering, foram publicados na literatura médica alemã em 1871 (LEISERING, 1871, citado por OLSON & MILLER, 1987 e por JOHNSON & KANEENE, 1992).

A primeira descrição detalhada da doença se deve a Knuth & Volkmann (1916), citados por Bendixen (1965), e o seu caráter infeccioso foi presumido, inicialmente, baseado em observações epidemiológicas. Na primeira metade do século XX diversos trabalhos foram publicados sobre leucose, de modo que se teve conhecimento de que a doença existia em praticamente toda a Europa. Os relatos de linfossarcoma bovinos aumentaram nos períodos pós-guerras (imediatamente após a I e a II guerras mundiais), devido à intensificação das práticas comerciais, levando à introdução de animais infectados em áreas até então livres da doença.

De acordo com Schalm et al. (1975), Feldman foi o primeiro pesquisador a suspeitar da etiologia infecciosa da leucose bovina e constatou em 1930 que

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

pouco menos da metade dos bovinos com linfossarcoma exibiam um quadro hematológico caracterizado por linfocitose marcante. Até a década de 1950, havia relatos de linfossarcoma bovino em praticamente todos os continentes, e grande parte dos pesquisadores aceitavam a hipótese de que a doença de etiologia desconhecida poderia ser causada por algum agente infeccioso.

Nos anos de 1960, várias pesquisas utilizando cultura de tecidos foram realizadas para elucidar a causa da leucose bovina. Partículas virais em cortes histológicos de linfossarcomas bovinos e no colostro de vacas leucóticas foram identificadas em vários experimentos, mas essas partículas não puderam ser consideradas específicas, pois partículas similares também foram isoladas de bovinos sem a doença (BENDIXEN, 1965).

Em 1969, partículas virais foram isoladas de tecidos tumorais e a capacidade destas partículas reproduzirem a doença quando inoculadas em outros animais foi comprovada em 1972 por Miller et al. citado por Hopkins e Digiacomo, 1997.

No Brasil, o primeiro relato sobre a leucose bovina é de autoria de Rangel e Machado (1943) ao descreverem "A incidência de blastomas colecionados do Departamento de Histologia e Anatomia Patológica da Escola Superior de Veterinária do Estado de Minas Gerais". No entanto, o citado trabalho tratava-se de um *pool* de amostras de material de bovino enviadas àquela instituição. Somente em 1959 é que foram descritos os primeiros casos individuais de leucose, tanto no Rio de Janeiro por Santos et al. (1959), como no Rio Grande do Sul por Merckt et al. (1959).

1.3. IMPORTÂNCIA DA DOENÇA

A LEB é uma enfermidade infecto-contagiosa encontrada em todos os continentes e, ao longo dos anos, tornou-se um problema de destacada importância em sanidade e economia do agronegócio brasileiro (AMORIL, 2005).

A importância epidemiológica, econômica e sanitária da LEB é reconhecida mundialmente e, levantamentos soroepidemiológicos sobre a presença do VLB

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

na população bovina do Brasil, apontam prevalências que variam de 12,5 a 70,9% de animais infectados, com a presença da enfermidade em praticamente todas as Unidades Federativas (GARCIA et al., 1991a).

As principais consequências ligadas à infecção pelo vírus da LEB estão relacionadas à importância econômica no contexto nacional e internacional. A preocupação com os aspectos econômicos da LEB teve início na Europa do pós-guerra quando o número de linfossarcoma bovino detectado em matadouros aumentou sensivelmente. Dessa forma, houve a criação em 1953, na Alemanha, do primeiro programa oficial de controle da enfermidade (THURMOND, 1994).

Estudos sobre a importância econômica da doença nos EUA demonstraram uma perda de 42 milhões de dólares relacionados à produção leiteira (DA et al., 1993)

De acordo com Amoril (2005), a importância da LEB reside no seguinte: primeiro as restrições oficiais ao comércio dos animais soropositivos e/ou seus produtos como, por exemplo, sêmen, por parte de alguns países. Pelzer (1997) cita que aproximadamente 100 milhões de dólares é o montante envolvido anualmente nos EUA com a venda de animais vivos e sêmen, entretanto, esta quantia poderia ser maior se não fossem as restrições sofridas pelo país a respeito do comércio internacional de bovinos vivos e seus produtos; segundo o medo e/ou insegurança de que a LEB seja zoonose. Recentemente Buehring et al. (2003) detectaram anticorpos para o VLB em seres humanos o que também não é prova suficiente de que o homem seja suscetível à doença; e por último a condenação de carcaças em matadouros e perdas relativas ao rebanho ou a animais individualmente (diminuição da produção de leite, emagrecimento ou predisposição a outras infecções). Thurmond (1985), citado por Amoril (2005), afirma que o prejuízo dos EUA com carcaças condenadas por linfossarcoma foi da ordem de sete milhões de dólares em 1978. Pelzer (1997) relata que as 13.684 carcaças condenadas em 1990 em frigoríficos americanos é uma estimativa conservadora, pois a metade dos animais

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

portadores de linfossarcoma não é diagnosticada durante os procedimentos de inspeção *ante e post mortem*.

2. ETIOLOGIA

2.1. AGENTE ETIOLÓGICO

Com base nos aspectos etiológicos e clínico-epidemiológicos, duas formas de leucose bovina foram definidas: Forma enzoótica e esporádica. A forma enzoótica, ou seja, a LEB é causada por um retrovirus da família Retroviridae, subfamília *Oncornavirinae*, gênero Deltaretrovírus que engloba o HTLV (do inglês "Human T-cell Leukemia Vírus"). O agente causador é um retrovírus pertencente à família *Retroviridae*, o nome da família refere-se à presença de uma transcriptase reversa no vírion e que está codificada no genoma viral (QUINN, et al., 2005).

O VLB infecta geralmente animais acima de dois anos de idade e causa linfoproliferações tumorais multicêntricas ou localizadas, ou ainda tumorações em órgãos não linfóides antecedidas por sintomatologia clínica variável dentre as quais pode-se incluir emagrecimento, apatia, paralisia e aumento de volume de linfonodos superficiais, como sinais mais comuns. (PARODI, 1987).

A forma esporádica, até o presente momento considerada como de etiologia não viral e desconhecida. Esta leucose esporádica pode apresentar-se na forma multicêntrica juvenil, que atinge principalmente bovinos de até seis meses, sendo marcada por amplas infiltrações em órgãos linfóides; na forma tímica, caracterizada na maioria das vezes por proeminentes lesões tumorais no timo de bovinos da faixa etária entre seis meses e dois anos de idade; e na forma cutânea, exteriorizada pela presença de nódulos tumorais disseminados no tecido epitelial, que ocorre em bovinos de qualquer idade, sendo mais comum na faixa etária entre dois e três anos (PARODI, 1987; RADOSTITS & BLOOD, 2000).

2.2. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

O VLB é um vírus RNA, esférico, apresenta um diâmetro de 80-130 nm, o envelope, que é adquirido da membrana celular da célula hospedeira, rodeia um capsídeo icosaédrico que contém duas fitas lineares de DNA de fita simples e sentido positivo e proteínas centrais, inclusive as enzimas transcriptase reversa e integrase; além disso, em sua superfície observam projeções de glicoproteínas (QUINN, et al., 2005).

2.3. ASPECTOS PATOGÊNICOS

O VLB infecta preferencialmente os linfócitos, principalmente, os do tipo B embora o DNA pró-viral do VLB também tenha sido detectado em células T, monócitos e granulócitos (BRAGA & LAAN, 2001). O VLB atua principalmente no sistema linfóide, determinando a desorganização dos seus tecidos e órgãos, principalmente os linfonodos, que perdem suas características primárias e são substituídos por um novo tecido, de natureza neoplásica, formando os linfossarcomas, podendo acarretar em um processo leucêmico (CORDEIRO, et al., 1994; SCHWARTZ & LEVY, 1994).

Os retrovírus são inativados por solventes lipídicos e detergentes, tais como o álcool, éter e clorofórmio. Pelo calor a uma temperatura de 56° C durante 30 minutos. Este processo elimina totalmente as partículas infecciosas; entretanto, eles são mais resistentes a raios UV e radiações X do que outros vírus, provavelmente devido ao seu genoma diplóide (RADOSTITS & BLOOD, 2000; BRAGA & LAAN, 2001).

3. EPIDEMIOLOGIA

3.1. DISTRIBUIÇÃO

Segundo a OIE, a LEB é uma doença comospolita, mas com situações epidemiológicas distintas em cada país e com variações de ocorrência entre os rebanhos, sendo maior no leiteiro. No Brasil, devido à importação indiscriminada de animais do hemisfério norte e a ausência de controle

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

sanitário, ocorre à disseminação da doença em todos os estados, principalmente nas regiões de pecuária leiteira (GARCIA et al, 1991b; BIRGEL JÚNIOR et al., 1995; D'ANGELINO, 1998; LEITE et al., 2001; CAMARGOS et al., 2002).

As diferenças entre as taxas e prevalência encontradas nas diversas regiões do Brasil podem ser explicadas considerando as diferentes técnicas utilizadas, os diferentes tipos raciais, manejo e tecnologia empregada na região (BIRGEL JÚNIOR et al., 1995).

Del Fava e Pituco (2004) em seu trabalho comentam a enfermidade esta bastante disseminada, principalmente nos rebanhos leiteiros de raças especializadas, com sistema de criação intensivo e que a ocorrência da LEB é baixa em rebanhos de corte, por serem animais criados sob manejo extensivo. Com o objetivo de avaliar a ocorrência da LEB em touros doadores de sêmen de diversas centrais de inseminação artificial no Brasil, Pituco et al. (2001) submeteram 230 soros ao teste imunoensaio enzimático (ELISA), encontrando 17,4% (40/230) animais sororreagentes.

Com relação à ocorrência da infecção viral em diferentes faixas etárias, a taxa de animais infectados aumenta com o avançar da idade, porque a infecção viral é de caráter crônico. Birgel et al. (1988), em granjas produtoras de leite B da região de Campinas-SP, encontraram crescentes taxas de soropositividade ao VLB pela imunodifusão em gel de agar (IDGA), variando de 35,6% (26/73) na faixa de um a dois anos, até 78,6% (33/42) nos animais acima de sete anos. Birgel Júnior et al. (1995) examinaram 709 bovinos da raça Jersey pela IDGA e encontraram crescentes taxas de sororreatividade, 24,6% (30/122) nos animais de 12 a 24 meses e até 86,2% (106/123) nos animais com idade superior a 72 meses. Oliveira et al. (1997) examinaram 1.448 bovinos da raça Holandesa pela IDGA e constataram elevação sequencial na porcentagem de machos infectados dos 49 aos 54 meses (33,3%), dos 73 aos 78 meses (55,6%) e 103 a 114 meses (66,7%) e para fêmeas dos 13 aos 18 meses (34,5%), dos 31 aos 36 meses (35,5%), dos 49 aos 54 meses (59,5%) e dos 109 aos 114 meses (66,7%).

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

Embora haja inúmeros estudos sobre a doença em questão, sua distribuição nos estados brasileiros precisa de maiores investigações (LEITE et al., 2001; CAMARGOS et al., 2002).

3.2. CADEIA EPIDEMIOLÓGICA

Cortês (1993) define cadeia epidemiológica como um sistema cíclico através do qual um agente etiológico é eliminado da fonte de infecção e atinge o hospedeiro susceptível. Demonstrando de forma sumária, o processo de propagação das doenças transmissíveis nas populações. Tornando assim, possível a adoção de medidas sanitárias capazes de prevenir ou impedir a disseminação das enfermidades. Os elementos da cadeia epidemiológica são: fonte de infecção, via de eliminação, meio de transmissão, porta de entrada e hospedeiros susceptíveis.

3.2.1. FONTE DE INFECÇÃO

A espécie bovina é a principal fonte de infecção do VLB (DEL FAVA & PITUCO, 2004), animais doentes ou portadores que albergam o agente etiológico, podendo transmitir a LEB direta ou indiretamente a outros animais susceptíveis.

3.2.2. VIA DE ELIMINAÇÃO

As vias de eliminação contêm linfócitos contaminados pelo vírus e a mais importante é o sangue de bovinos infectados, tendo o leite importante papel na transmissão do VLB para animais lactentes (JOHNSON & KANEENE, 1992).

Lucas et al. (1980) identificaram partículas do VLB no sêmen de um touro, no entanto ressaltam que o ejaculado deste animal foi colhido por massagem retal das glândulas sexuais acessórias, sugerindo procedimento traumático que possa ter contaminado o sêmen com sangue. Por este motivo Ferrer (1979) recomenda que o sêmen de touros de centrais de inseminação artificial seja colhido com precaução, evitando sua contaminação com sangue ou pus que contêm linfócitos contaminados com o VLB. Kaja e Oslon (1982) afirmaram

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

que técnicas de coleta de sêmen inapropriadas, resultando em trauma e inflamação associados, podem causar infiltração leucocitária e, no caso de um touro infectado pelo VLB, resultarem em uma partida de sêmen contaminada pelo vírus. Choi et al. (2002) reforçaram a importância de um bom manejo da coleta do sêmen e demonstraram pela PCR, que os ejaculados obtidos de touros sororreagentes seguindo esta condição estavam livres de VLB.

3.2.3. MEIO DE TRANSMISSÃO

As primeiras evidências sobre o caráter transmissível da LEB foram relatadas por Knut e Volkman (1916), citados por Bendixen (1965), que realizaram um experimento, induzindo um quadro de linfocitose persistente em um bovino que havia recebido injeção contendo suspensão de tecido tumoral de outro bovino atingindo por linfossarcoma.

A transmissão horizontal é a principal via de disseminação do VLB. O vírus pode ser transmitido, principalmente, por contato direto com sangue e outros fluídos biológicos contaminados com linfócitos infectados (REBHUN, 2000)

A transmissão vertical por via transplacentária do VLB também é possível, mas provavelmente ocorre em menos de 10% das fêmeas infectadas (REBHUN, 2000) ou então, os bezerros podem adquirir a doença nos primeiros dias de vida através do colostro e do leite da mãe infectada (FERRER & PIPER, 1981). Hübner et al. (1997) encontraram em rebanho leiteiro no Estado do Rio Grande do Sul, 4,8% (2/41) bezerros congenitamente infectados pelo VLB, ao detectarem anticorpos pela IDGA, antes que estes animais tivessem mamado o colostro.

A infecção pelo VLB está estritamente relacionada às práticas de manejo adotadas nas propriedades, principalmente as mais tecnificadas e conseqüentemente, as que possuem os maiores índices de produção devido ao manejo intenso como palpação retal, imunização, transfusão sanguínea e cirurgias, as quais permitem a transferência de linfócitos infectados (BURNY et al., 1988; JOHNSON & KANEENE, 1992; LUCAS, 1992; HUBNER et al., 1997; BRAGA & LAAN, 2001).

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

A premunicação contra *Anaplasma* e *Babesia* sp. Também desempenha um importante papel na difusão da infecção pela LEB, quando animais infectados são utilizados como doadores de sangue (FLORES et al., 1992).

Buxton et al. (1985) investigaram o papel de diversos insetos (*Stomoxys calcitrans*, *Haematobia irritans*, e tabanídeos) na transmissão da LEB e concluíram que a condição desses insetos como transmissores da doença é limitada e provavelmente depende do grau de infestação.

A vacinação em massa sem cuidados higiênicos quanto ao uso de agulhas e o aglomeramento de animais são também fatores que influem no grau de transmissibilidade da doença (WILESMITH et al., 1980), embora quanto à vacinação, Chi et al. (2002) citados por Amoril (2005), tenham observado que a prática de vacinação habitual esteve relacionada estatisticamente com índices mais baixos de infecções pelo VLB.

Estudos experimentais e de campo indicam que a cópula ou a inseminação artificial não são vias significativas de transmissão do VLB de touros infectados para fêmeas, porém se os mesmos instrumentos utilizados para a inseminação artificial, como bainhas de pipetas e luvas de palpação retal, forem reutilizados para várias fêmeas, pode resultar na transmissão do agente de um animal infectado para um não infectado (HOPKINS & DI GIACOMO, 1997).

3.2.4. PORTA DE ENTRADA

As portas de entrada do VLB, comprovadas por inoculação experimental, são a intradérmica, intramuscular, subcutânea, intravenosa (EVERMAN et al., 1986), oral, intraperitoneal (MILLER et al., 1972 citado por HOPKINS & DIGIACOMO, 1997), intratraqueal, intra-uterina (ROBERTS, et al., 1982) e intra-retal (HOPKINS et al., 1988).

3.2.5. HOSPEDEIROS SUSCEPTÍVEIS

A LEB ocorre mais frequentemente em vacas leiteiras, dentre essas, as criadas em estabelecimentos que têm melhores índices de produção em consequência do melhor desenvolvimento tecnológico (manejos reprodutivos adequado,

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

incluindo a palpação retal, bom controle sanitário, alimentação suplementar, importação de animais para melhoramento genético). A prevalência da enfermidade aumenta à medida que aumenta a idade dos animais (BRAGA & LAAN, 2001)

Segundo Burny et al. (1988), em condições naturais o VLB acomete, além de bovinos, búfalos, ovinos e capivaras e são necessários aproximadamente 100 (cem) linfócitos infectados pelo VLB para a transmissão da LEB, e experimentalmente ovinos, caprinos, suínos, coelhos, macacos rhesus, chimpanzés e búfalos (DEL FAVA, 1995). Porém, com relação ao impacto econômico, a LEB apresenta importância apenas para a bovinocultura (PELZER, 1997).

4. PATOGENIA

4.1. MIGRAÇÃO DO AGENTE

A infecção tem início pela interação da glicoproteína do envelope viral a um receptor da superfície celular. O curso da infecção pelo VLB sugere um processo de vários estágios. Os linfócitos B são as primeiras células alvo e os bovinos infectados pelo VLB só apresentam anticorpos no soro após quatro a oito meses de contágio (OLIVEIRA et al., 1997).

A linfocitose persistente nos casos pré-tumorais é caracterizada pelo acréscimo no nível de linfócitos B circulantes, com um aumento de 40 a 80 % em relação aos valores normais de referência, e nem sempre precede a forma tumoral (BURNY et al., 1985). Já os linfossarcomas descritos como uma infiltração linfocitária exacerbada em órgãos linfóides (linfonodos e baço) e em órgãos como abomaso, coração, rins, fígado e músculos, é a principal característica da doença clínica, acometendo diversos sistemas do organismo animal (digestório, circulatório, genital), colaborando para a diversidade sintomatológica da doença (CAMARGOS et al., 2002).

4.2. MECANISMO DE AÇÃO

Os linfossarcomas ocorrem de dois a cinco anos após a infecção, entretanto a maneira como ocorre a transformação celular ainda parece obscura. Algumas hipóteses são descritas como a que atribui à transformação celular às alterações provocadas na estrutura do DNA: mutações, deleções, ampliações ou translocações (TAVARES & PEREIRA, 1998; LEITE et al., 2001).

Em trabalhos realizados recentemente estudou-se o efeito de infecções subclínicas pelo vírus da LEB e observou-se que animais soropositivos (VLB⁺) e com linfocitose persistente (LP⁺), apresentaram maiores intervalos entre partos, menores produções de leite e foram descartados mais precocemente do que animais VLB⁺ e que não apresentavam linfocitose persistente (LP⁻). Procurando entender estes fatos, os pesquisadores compararam a reatividade imune de células isoladas de animais VLB⁺ e LP⁺, de animais com tumores e de animais VLB⁺ e LP⁻. Observaram que animais com LP⁺ e os animais com tumores apresentaram resposta imune celular e humoral diminuídas. As hipóteses elaboradas para explicar a menor proliferação destas células seriam de que certas proteínas retrovirais seriam imunossupressivas e/ou que níveis elevados de interleucina (IL-10), observados em animais com LP⁺ teriam efeitos inibitórios nas funções das células T auxiliares e também provocariam uma alteração na relação linfócitos B e T (ORLIK e SPLITTER, 1996).

Com relação à resposta imune humoral os autores observaram que os anticorpos de animais infectados apresentam estrutura e reatividade biológica alteradas, menor concentração de imunoglobulinas M e também redução no número de células produtoras destas imunoglobulinas no baço e nos linfonodos. Outros estudos têm mostrado que os linfócitos B infectados apresentam uma alteração na composição de açúcares da membrana plasmática, que estes linfócitos parecem ser eliminados em estágios iniciais da maturação, sugerindo-se que o vírus possa interferir na expressão de imunoglobulinas (BURNY et al., 1988). Observou-se, ainda, diminuição nos níveis de IgM circulantes e diminuição no número de linfócitos T CD4⁺ em um bezerro infectado experimentalmente. A progressão da infecção a estágios

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

avançados correlaciona-se com disfunção de células TCD4⁺ em resposta a antígenos virais. Os autores postularam que a infecção afeta o sistema imune dos animais antes que os sintomas da doença tornem-se evidentes, com isso os bovinos acometidos apresentariam menor desempenho e seriam descartados (TRAININ et al., 1996).

5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

5.1. PERÍODO DE INCUBAÇÃO

Do momento em que o animal é exposto ao VLB até o aparecimento dos primeiros sinais clínicos pode ocorrer um período de incubação da doença de semanas a vários meses (JOHNSON & KANEENE, 1992).

5.2. FORMA DE EVOLUÇÃO

A LEB é uma enfermidade crônica que acomete geralmente animais acima de dois anos de idade. A infecção pode resultar em manifestações que academicamente pode ser separadas em três diferentes fases, caracterizando a forma de evolução desta enfermidade: a primeira, na qual o animal permanece assintomático (60 a 65%) e também ocorre a soroconversão; na segunda fase, o animal desenvolve somente uma leucocitose por linfocitose persistente (20 a 30%), ou seja, um aumento do número de linfócitos circulantes evidenciando o indício de presença de doença linfoproliferativa e o caráter crônico da LEB; e a terceira fase que é a clínica, é caracterizada pelo desenvolvimento de linfoma maligno (1 a 5%), geralmente fatal, sendo considerada a doença neoplásica mais comum do gado leiteiro (SAMARA et al.; 1997; REBHUN, 2000; BRAGA & LAAN, 2001; DUS SANTOS et al., 2007).

5.3. SINAIS CLÍNICOS E LESÕES

A LEB é uma doença que na sua forma clínica se manifesta pelo aparecimento de um tumor maligno do tecido linfático, denominado linfossarcoma. Pode se

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

apresentar também, na forma de infecção subclínica (ROMERO & ROWE, 1981).

O sinal clínico mais característico nos casos típicos de LEB é o aumento de tamanho dos linfonodos superficiais, principalmente os pré-escapulares, mamários e mandibulares. O linfossarcoma pode ocorrer nos linfonodos periféricos, internos e nos órgãos-alvo específico (tais como abomaso, coração, espaço retrobulbar e região epidural do sistema nervoso central). Estes tecidos podem ficar neoplásicos, e podem afetar alvos-atípicos como trato respiratório superior e inferior, úbere, pré-estômago, rins, ureteres, fígado, baço e medula óssea. O trato intestinal é local comum para tumores de linfossarcoma, embora o abomaso seja a área mais atingida do trato gastrintestinal (REBHUN, 2000). Lesões nos órgãos reprodutores são pouco frequentes, podendo acometer útero e vagina, sem causarem distúrbios significativos na fertilidade (PARODI, 1987; EMANUELSSOON et al., 1992).

Com relação à interferência do VLB na reprodução de fêmeas, Del Fava e Pituco (2004) comentam que diversos autores não puderam comprovar diferenças estatisticamente significativas ao compararem grupos de vacas reagentes com não reagentes, no que diz respeito aos seguintes parâmetros estudados: idade no primeiro parto (LANGSTON et al., 1978; HUBER et al., 1981; D'ANGELINO, 1991) e número de serviços (REINHARCT et al., 1988). Entretanto Brenner et al. (1989) comprovaram que ocorreu maior intervalo entrepartos em vacas sororreagentes.

Com relação à fertilidade do macho reprodutor, Richardson et al. (1986) relataram que não houve diferença estatisticamente significativa entre o espermograma de touros sororreagentes e não sororreagentes ao VLB.

Os sinais clínicos de linfossarcoma raramente se desenvolvem antes de 2 anos de idade e são mais comum nos bovinos de 3 a 6 anos de idade, o linfossarcoma que ocorre nos bovinos com menos de 2 anos de idade é mais provável de não associar a uma infecção com o VLB. Os sinais clínicos mais evidentes são adenomegalia, incoordenação e paralisia dos membros

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

posteriores, baixa produção leiteira, exoftalmia, perda de peso progressiva e caquexia, levando o animal à morte (PELZER & SPRECHER, 1993).

6. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico baseado nos sinais clínicos associados ao diagnóstico laboratorial, epidemiológico e às avaliações *post-mortem* colaboram no diagnóstico confirmatório da doença (SILVA et al, 2008).

6.1. COLETA E ENVIO DE MATERIAL

Um dos materiais utilizados para o diagnóstico da LEB é o soro sanguíneo obtido através da coleta de sangue total por punção venosa em frasco estéril sem anticoagulante e posterior coagulação do sangue e separação do soro. O soro deve ser enviado ao laboratório congelado ou resfriado em isopor com gelo (SANTOS & MELLO, 1989) e é utilizado para provas como IDGA, ELISA e Radioimunoensaio (RIE) (THURMOND, 1994; REBHUN, 2000).

Fragmentos de linfonodos superficiais ou formações tumorais de aspecto firme e coloração esbranquiçada em tecidos linfóides, abomaso e útero podem ser colhidos através de biópsia em animais vivos e este material deve ser fixados em formalina a 10% para realização de métodos diretos como avaliações histopatológicas (SANTOS & MELLO, 1989; REBHUN, 2000; BRAGA & LAAN, 2001).

Em caso de coleta de material em necropsia enviar ao laboratório amostras fixadas em formol de gânglios, tumores e órgãos internos lesados (SANTOS & MELLO, 1989).

6.2. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

6.2.1. EXAMES DIRETOS

O teste histopatológico da biópsia de linfonodos ou de formações tumorais são recomendados para o diagnóstico definitivo da doença, uma vez que a reação positiva mediante teste IDGA não indica necessariamente que o animal

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

apresente a forma clínica da LEB, já que os sinais clínicos e lesões não são patognomônicos desta enfermidade (FERNANDES, 2008).

A técnica para pesquisa de antígeno viral para detecção do VLB, recomendada pela OIE é a PCR, sendo capaz de detectar o DNA pró-viral integrado no genoma da célula hospedeira em diversos tipos de material clínico, como sangue total, linfócitos, órgãos e tecidos neoplásicos e sêmen (OIE, 2003).

Trabalhos recentes de diversos autores (KUSMAK et al., 1999; PAVLENKO et al., 2002), citados por Del Fava e Pituco (2004), demonstraram a utilização da PCR para selecionar bezerros livres do VLB, pois mesmo que tenham mamado o colostro, podem ser submetidos à detecção do DNA pró-viral, uma vez que esta técnica não sofre a interferência dos anticorpos colostrais. O sorodiagnóstico para detectar a transmissão intra-uterina só tem significado se o sangue do bezerro for colhido antes que ele mame o colostro, porém este manejo em uma fazenda apresenta dificuldades quando os bezerros nascem à noite ou durante a madrugada. Alternativa consiste na coleta do soro sanguíneo do bezerro seis meses após seu nascimento, quando a imunidade passiva colostrar desaparece, facilitando a interpretação do resultado sorodiagnóstico.

6.2.2. EXAMES INDIRETOS

O emprego frequente de testes sorológicos nos animais com idade superior a 6 meses, e repetição semestral, permite identificar os animais positivos e auxilia no controle da doença (CORDEIRO et al., 1994; BRUNNER et al., 1997; LEITE et al., 2001).

Somente pelas manifestações clínicas não é possível diagnosticar a enfermidade. Sendo assim, empregam-se provas laboratoriais. As técnicas para pesquisa de anticorpos recomendadas pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) são a IDGA e o ELISA, que detectam anticorpos contra a glicoproteína do envelope viral (OIE, 2003).

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

A IDGA é utilizada na identificação de animais acometidos pela LEB devido sua eficiência, praticidade na realização da técnica e um custo-benefício excelente (FERRER, 1980; JOHNSON & KANEENE, 1992).

Uma mensuração da exposição ao VLB por infecção natural pode ser realizada, medindo-se o título de anticorpos específicos para VLB, através do uso de um sistema de ELISA. Um título de anticorpo positivo para VLB, indica que o animal foi previamente exposto ao VLB, e pode estar persistentemente e cronicamente infectado. O teste ELISA é também um método bastante utilizado principalmente pela alta sensibilidade, pela aceitável especificidade aliada à praticidade e à rapidez da técnica (CARLI et al, 1993).

A IDGA, quando comparada com o ELISA, apresenta menor sensibilidade para detectar infecção por que depende dos níveis de anticorpos induzidos pelo VLB. Este fato foi demonstrado por MAMMERICKX et al. (1980), citado por Del Fava e Pituco (2004), em bovinos inoculados, experimentalmente, quando os níveis de anticorpos subiram e atingiram elevadas concentrações, onde o ELISA detectou a infecção mais precocemente que a IDGA.

Animais podem apresentar resultados falso-negativos durante o período de incubação da doença que pode variar de semanas a meses após a exposição ao vírus (JOHNSON & KANEENE, 1992), pois o animal infectado ainda não terá tido tempo para responder à infecção, através da "soroconversão". Entende-se por soroconversão a passagem de ausência de anticorpos no soro sanguíneo do animal para presença destes (DEL FAVA & PITUCO, 2004).

Outra situação em que o animal pode ser considerado falso negativo é no período pré e pós-parto, quando ocorre a passagem de anticorpos do sangue para o colostro. Desta maneira, vacas podem ter anticorpos contra o VLB em níveis não detectáveis no sangue nos períodos pré e pós parto (BURRIDGE et al., 1982), por isso os resultados negativos de testes sorológicos de vacas cuja amostras de sangue tenham sido colhidas duas a seis semanas antes e pós-parto devem ser interpretados com extrema cautela e esses animais devem ser retestados (JOHNSON & KANEENE, 1992).

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

Sendo assim, Martin et al. (2001), citado por Del Fava e Pituco (2004), recomendam realizar tanto teste direto quanto indireto, isto é, os animais seriam submetidos à triagem pela IDGA ou ELISA, por último, submetê-los ao PCR e interpretar os resultados conjuntamente, porém salientam que não há 100% de concordância, por este motivo os testes diretos e indiretos se complementam e algumas vezes os resultados interpretados de uma maneira isolada são difíceis de comparar.

6.3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Para estabelecer o diagnóstico diferencial, sobretudo nos estágios iniciais da leucose tumoral, apresentam-se certas dificuldades. Os exames sorológicos, clínicos e hematológicos bem realizados e a consideração da situação do rebanho, proporcionam dados seguros (WITTMANN, 1999).

Sob as novas condições de diagnóstico, devem ser delimitados, em geral, sobretudo nos bovinos livres de leucose, o aparecimento de leucose esporádica. Nesta doença, da qual são conhecidas três formas (multicêntrica, tímica e cutânea), não participa o VLB e, com isto, não existem anticorpos específicos, nem tampouco linfocitose persistente. É característica a apresentação de casos isolados agudos ou subcrônicos, preferencialmente na idade compreendida entre 4 meses e 1 ano (WITTMANN, 1999).

7. TRATAMENTO

A prevenção é de fundamental importância, pois até o momento não existem tratamentos ou vacinas eficientes disponíveis. A utilização de medicamentos imunossupressores favorece a disseminação viral ocasionando maior resposta celular. O que se institui é a terapia de suporte, com intuito de melhorar o quadro geral do animal, para que seu sistema imune possa ser capaz de combater a doença, mas no caso de neoplasias, essa terapia se torna insatisfatória, podendo culminar na morte do paciente (SILVA et al., 2008).

8. MEDIDAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE

O controle da doença é difícil devido à sua grande disseminação, principalmente, nos rebanhos leiteiros, por evoluir lentamente apresentando grande número de animais assintomáticos e devido à inexistência de um programa de controle oficial (SILVA, et al, 2008).

Algumas medidas profiláticas, para limitar a disseminação do vírus no rebanho: utilizar agulhas descartáveis para evitar a contaminação de animais negativos e desinfetar instrumentos à base de iodo ou cloro; utilizar uma luva por palpação retal; assepsia dos instrumentos cirúrgicos e aqueles utilizados para identificação do animal; instituir programa de controle de mosquitos hematófagos e eliminar animais positivos; também analisar procedência de embriões para transferência em propriedades que dispõem de biotécnicas aplicadas à reprodução (SILVA et al, 2008); fornecer o colostro e leite de vacas não infectadas pelo VLB (JOHNSON & KANEENE, 1992). Uma forma de inativar o VLB do leite ou colostro é submetê-los a um tratamento térmico de 56°C por 30 minutos, pois este procedimento não inativa os anticorpos virusneutralizantes (FERRER, 1979).

Se o rebanho é livre da doença, deve-se evitar a introdução de animais infectados. Se houver introdução de bovinos provenientes de rebanho soronegativo, deve-se manter os animais separados do restante do rebanho por 30 dias e testá-los antes da entrada e ao final do período de isolamento. Se forem provenientes de rebanho soropositivo, mantê-los isolados por três meses e em seguida testá-los. O veterinário não deve utilizar instrumental cirúrgico ou agulhas que foram utilizados em outro rebanho. Manter preventivamente os animais a pelo menos 150 metros de distância de rebanhos infectados (JOHNSON & KANEENE, 1992).

A demonstração do quanto esta doença pode ser disseminada em rebanhos que não tomam nenhuma conduta profilática foi realizada por Samara et al. (1997), no município de Pitangueiras, SP, em 7 propriedades leiteiras no período de 1992 a 1995, utilizando a IDGA. A prevalência de soropositivos

MEIRELLES-BARTOLI, R.B. e SOUSA, D.B. Leucose enzoótica bovina: importância do desenvolvimento da enfermidade na eliminação viral. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 11, Ed. 234, Art. 1547, 2013.

aumentou durante o período: ano 1992 – 17,1% (24/140), ano de 1993 – 20,5 (25/122), ano de 1994 – 33,3% (45/135) e ano de 1995 – 50,4% (60/119).

Caso o objetivo do pecuarista seja implantar um programa de erradicação em sua propriedade, deve ser estudada uma política de descartes gradual dos animais infectados, de maneira que viabiliza economicamente a continuidade da atividade (DEL FAVA & PITUCO, 2004).

9. CONCLUSÃO

A LEB é uma doença do gado adulto, e a maior incidência de desenvolvimento de tumores ocorre em animais entre 4 a 8 anos de idade, a idade média é de 7 anos. Em rebanhos com alta prevalência, em média 10% dos animais adultos podem morrer devido à doença. Geralmente, os animais infectados são descartados mais cedo devido a outros transtornos que podem estar relacionados com a doença, tais como, infertilidade e queda na produção de leite (BRAGA & LAAN, 2001). A linfocitose persistente desenvolve-se em cerca de 30% dos animais infectados, enquanto que apenas 1 a 10% desenvolve a forma tumoral da doença. A maioria dos animais infectados com o VLB não desenvolve linfossarcoma, linfocitose persistente ou quaisquer outros sinais clínicos, permanecendo portadores do vírus (MARSHANK et al., 1962). Esses animais apresentam uma infecção persistente e podem ser identificados apenas com diagnóstico laboratorial detectando a presença de anticorpos contra o VLB (BRAGA & LAAN, 2001), sendo portadores sadios do vírus por toda vida, e assim importante fonte de infecção, disseminando a doença por todo rebanho com grande facilidade, já que dificilmente serão identificados, pois não apresentaram sinais clínicos. Entretanto o vírus pode ser transmitido, principalmente, por contato direto com sangue e outros fluídos biológicos contaminados com linfócitos infectados (REBHUN, 2000).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIL, J. G. **Leucose Enzoótica Bovina: Epidemiologia e Diagnóstico em Animais Abatidos no Estado de Goiás**. 2005, 161f. Tese (doutorado). Medicina Veterinária Preventiva – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2005.
- BENDIXEN, H. J. Bovine Enzootic Leukosis. **Advances in Veterinary Science**, v. 10, p.129-204, 1965.
- 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: SPMV, 1988. p.30.
- BIRGEL JÚNIOR, J.E.H.; D'ANGELINO, J.L.; BENESI, F.J. Prevalência da Leucose Enzoótica dos Bovinos em animais da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.15, p.93-99, 1995.
- BRAGA. F. M., van der LAAN. W. Leucose Enzoótica Bovina. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.D.C.; LEMOS, R.A.A. **Doença de ruminantes e eqüinos**. 2.ed. São Paulo: Varela. 2001, v. 1, p. 126-134.
- BRENNER, J.; van HAAM, M.; SAVIR, D.; TRAININ, Z. The implication of BLV infection in the productivity, reproductive capacity and survival rate of a dairy cow. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. V.22, n.3, p.299-305, 1989.
- BRUNNER, M.A.; LEIN, D.H.; DUBOVI, E.J. Experience with the New York State Bovine Leukosis Virus Eradication and Certification Program. **Food Animal Retrovirus**, v.13, n.1, p.143-150, 1997.
- BUEHRING, G.C.; Philpott, S. M.; Choi, K. Y. Humans Have Antibodies Reactive with Bovine Leukemia Virus. **AIDS Research and Human Retroviruses**. v.19, n.12, p.1105-1113, 2003.
- BURNY, A.; BRUCK, C.; CLEUTER, Y.; COUEZ, D.; DESCHAMPS, J.; GREGOIRE, D. ; GHYSDAEL, J. ; KETTMANN, R.; MAMMERICKX, M.; MARBAIX, G.; PORTELLE, D. Bovine Leukaemia Virus and Enzootic Bovine Leukosis. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.52, p.133-144, 1985.
- BURNY, A., CLEUTER, Y.; KETTMANN, R.; MAMMERICKX, M.; MARBAIX, G.; PORTELLE, D.; van den BROEKE, A.; WILLEMS, L.; THOMAS, R. Bovine Leukemia: facts and hypotheses derives from the study of an infectious cancer. **Veterinary Microbiology**, v.17, n.3, p.197-218, 1988.
- BURRIDGE, M.J.; THURMOND, M.C.; MILLER, J.M.; SCHMERR, M.J.F.; van der MAATEN, M.J. Fall in antibody titer to bovine leukemia virus in the periparturient period. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.46, n.3, p.270-271, 1982.
- BUXTON, B. A.; HINKLE, N. C.; SCHULTZ, R. D. Role of insects in the transmission of bovine leucosis virus: potential for transmission by stable flies, horn flies, and tabanids. **American Journal of Veterinary Research** , v.46, n.1, p.123-126, 1985.
- 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 Tropical**, v.5, n.1, p.20-26, 2002.

CARLI, K.T.; BATMAZ, A.; SEN, A.; MINBAY, A. Comparison of serum, milk and urine as samples in an enzyme immunoassay for bovine leukemia virus infection. **Research in Veterinary Science**, v.55, n.3, p.394-395, 1993.

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

CORDEIRO, J.L.F.; DESCHAMPS, F.C.; MARTINS, E.; MARTINS, V.M.V. Identificação e controle da leucose enzoótica bovina (LEB) em um rebanho leiteiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.8, p.1287-1298, 1994.

CORTÊS, J.A. **Epidemiologia. Conceitos e Princípios Fundamentais**. São Paulo: Livraria Varela, 1993, 227 p.

DA, Y.; SHANKS, R.D.; STEWART, J.A.; LEWIN, H.A. Milk and fat yields decline in bovine leukemia virus-infected Holstein cattle with persistent lymphocytosis. **Proceedings National Academy Sciences**, v.90, p.6538-6541, 1993.

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

DEL FAVA, C. **Leucose enzoótica bovina em búfalos**. 1995. 79f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdades Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1995.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E.M. Infecção pelo vírus da leucemia bovina (BVL) no Brasil: divulgação técnica. **Biológico**, v.66, n.1/2, p.1-8, 2004.

DUS SANTOS, M.J.; TRONO, K.; LAGER, I.; WIGDOROVITZ, A. Development of a PCR to diagnose BLV genome in frozen semen samples. **Veterinary Microbiology**, v.119, p.10-18, 2007.

EMANUELSSOON, U.; SCHERLING, K.; PETTERSSON, H. Relationship between herd bovine leukemia virus infection status and reproduction, disease incidence, and productivity in Swedish dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.12, p. 121-131, 1992.

EVERMAN, J.F.; DIGIACOMO, R.F.; FERRER, J. F.; PARISH, S. M. Transmission of bovine leukosis virus by blood inoculation. **American Journal of Veterinary Research**, v.47, n.9, p. 1885-1887, 1986.

FERNANDES, G.O.; FILAPPI, A.R.; CECIM, M.; LEAL, M.L.R. Indigestão vaginal causada por linfossarcoma em bovino. In: **Anais do 35º Conbravet, 2008**, Gramado. CD ROOM 35º Conbravet, 2008.

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

FERRER, J.F. Bovine lymphosarcoma. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v.24, p.2-65, 1980.

FERRER, J.F.; PIPER, C. Role of colostrum and milk in the natural transmission of the bovine leukemia virus. **Cancer Research**, v. 41, p. 4906-4909, 1981.

FLORES, E.F.; WEIBLEIN, R.; OLIVEIRA, C. ; KREUTZ, L.C. Anticorpos contra o vírus da leucose bovina (VLB) em soro de bovinos provenientes da República Oriental do Uruguai. **Hora Veterinária**, v.12, n.68, p.5-8, 1992.

GARCIA, M.; DANGELINO, J. I.; BIRGEL, E. H. Leucose bovina no Brasil. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.15, n.1, p.31-42, 1991a.

GARCIA, M.; DANGELINO, J. I.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E. H.; MARÇAL, W.S. Avaliação do leucograma de fêmeas naturalmente infectadas pelo vírus da leucose bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.11, n.3/4, p.67-73, 1991b.

GRACEY, J.; COLLINS, D. S.; HUEY, R. Infectious diseases. In: **Meat Hygiene**. 10th Ed. London: W.B. Saunders, 1999. Chapter 17, p. 505-634.

HOPKINS, S.G.; EVERMENN, J.F.; DIGIACOMO, R.F.; PARISH, S.M.; FERRER, J.F.; SMITH, S.; BANGERT, R.L. Experimental transmission of bovine leucosis virus by simulated rectal palpation. **Veterinary Record**, 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 of North America Food Animal Practice**, v. 13, n.1, p. 107-128, 1997.

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

JOHNSON, R.; KANEENE, J.B. Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. **Veterinary Bulletin**, v.62, n.4, p.287-312, 1992.

JOHNSON, R.; KANEENE, J.B. Bovine leukemia virus and Enzootic Bovine Leukosis. **Veterinary Bulletin**, v.62, p.287-312, 1992.

KAJA, R. W.; OLSON, C. Non-infectivity of semen from bulls infected with bovine leukosis. **Theriogenology**, v.18, p.107-112, 1982.

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**, v.36, n.1, p.47-57, 1984.

LEITE, R.C.; LOBATO, Z.I.P.; CAMARGOS, M.F. Leucose enzoótica Bovina. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v.7, n.24, p.20-28, 2001.

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

LUCAS, M.H. Enzootic Bovine Leukosis. In: ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H. (Ed.). **Bovine Medicine**. London: Blackwell Publications, 1992, p.530-537.

MARSHAK, R.R.; CORIELL, L.L.; LAWRENCE, W.C.; CROSHAW JR.; SCHRYVER, H.F.; ALTERA, K.P.; NICHOLS, W.W. Studies on bovine Lymphosarcoma. I-Clinical aspects, pathological alterations, and herd studies. **Cancer Research**, v. 22, p. 202-217, 1962.

MERKT, H.; GIUDICE, J. C. O.; MÜLLER, J. A. Leucose bovina: concepção moderna e primeira verificação da doença no Rio Grande do Sul. **Revista da Escola de Agronomia e Veterinária da Universidade Federal do rio Grande do Sul**, v. 2, n.3, p.7-27, 1959.

OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **Manual of standards for diagnostic test and vaccines.** 4.ed. Paris: OIE, 2000. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/Norms/mmanual/htm>. Acesso em: 9 de maio 2009.

OLIVEIRA, A. R. et al. Epidemiologia da leucose bovina: ocorrência de anticorpos em várias faixas etárias. **Revista brasileira de Medicina Veterinária**, v.19, n.6, p.258-262, 1997.

OLSON, C.; MILLER, J. 1987. History and Terminology of Enzootic Bovine Leukosis. In: BURNY, A.; MAMMERICKX, M. (Ed.) **Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia Virus**, Boston: Martinus Nijhoff, 1987. p.3-9.

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 of Virology** v.70, n. 1, p.7584-7593, 1996.

PARODI, A. L. 1987. Pathology of Enzootic Bovine Leukosis. Comparison with the Sporadic form. In: BURNY, A., MAMMERICKX, M. (Ed.) **Enzootic Bovine Leucosis and Bovine Leukemia Virus**. Boston: Martinus Nijhoff, 1987, p. 15-49.

PELZER, K.D.; SPRECHER, D.J. Controlling BLV infection on dairy operations. **Veterinary Medicine**, v. 82, n. 3, p. 275-281,1993.

PELZER, K.D. Economics Bovine Leukemia Virus Infection. **Veterinary Clinics of North American Food Animal Practice**. v.13, n.1, p.129-141, 1997.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005, cap. 61. p. 346-357.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. Doenças causadas por vírus e chlamydia. In: **Clínica veterinária: um tratado de doenças de bovinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, v. 1, cap. 21. p. 684-691.

RANGEL, N. M.; MACHADO, A. V. Contribuição à oncologia comparada em Minas Gerais: incidência dos blastomas colecionados no departamento de Histologia e Anatomia Patológica da Escola Superior de Veterinária do estado de Minas Gerais. **Arquivos da Escola Superior de Veterinária**, v. 1, p. 83-96, 1943.

REBHUN, W.C. Doenças infecciosas variadas. In: **Doenças do gado leiteiro**. São Paulo: Roca. 2000, v. 2, cap 14, p. 596-605.

RICHARDSON, G.F.; SEGER, C.L.; BRAUN, W.F.; ARCHBALD, L.F.; LINGARD, D.R.; AMBORSKI, G.F.; CORSTVET, R.E.; MALONE, J.B.; CARAKOSTAS, M.C. Characterization of infertility and bovine leukemia virus infection in beef bulls on southwestern Louisiana coastal range. **Theriogenology**, v.26, n.4, p.445-454, 1986.

ROBERTS, D.H.; LUCAS, M.H.; WIBBERLEY, G.; CHASEY, D. Investigation into the susceptibility of cattle to bovine leucosis virus following inoculation by various routs. **Veterinary Record**, v.110, n.6, p.222-224, 1982.

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

SAMARA, S.I.; LIMA, E.G.; NASCIMENTO, A.A. Monitoração da Leucose Enzoótica Bovina no gado leiteiro da região de Pitangueiras/SP. **Braslian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.34, n.6, p.349-351, 1997.

SANTOS, J. A.; PINHEIRO, P. V.; SILVA, L. J. Linfossarcoma com leões da língua e das câmaras cardíacas em bovinos. **Anais da escola fluminense de Medicina veterinária**, Niterói, v.2, p.1-8, 1959.

SANTOS, J.A.; MELLO, M.R. Colheita de Material nas Viroses em Particular. In: **Diagnóstico Médico Veterinário: colheita de material**. São Paulo: Nobel. 1989, cap. 7, p. 58-75.

SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROL, E.J. **Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1975. 807p.

SCHWARTZ, I.; LEVY, D. Pathobiology of bovine leukemia virus. **Veterinary Research**, v.25, n.6, p. 521-536, 1994.

SILVA, R.C.; FONTANA, I.; MEIRELLES, F.C.; RUGGIERO, A.P.M.; BENATO, N.; BORGES, J.R.J. Ocorrência de Leucose Enzoótica Bovina na forma de linfossarcoma no Distrito Federal: Relato de caso. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.4, p.507-512, 2008.

TAVARES, L.; PEREIRA, J.M. Patogênese das infecções por retrovirus da sub-família Onconvirinae. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 526, p.61-72, 1998.

THURMOND, M. Linfossarcoma em bovinos. In: SMITH, B.P. Tratado de medicina interna de grandes animais: **Moléstia de eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos**. São Paulo: Manole, 1994. v. 2, cap. 35, p. 1100-1103.

TRAININ, Z. et al. Detrimental effect of bovine leukemia virus (BLV) on the immunological state of cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 54, n. 1-4, p. 293-302, 1996.

WILESMITH, J. W.; STRAUB, O. C.; LORENZ, R. J. Some observations on the epidemiology of bovine leucosis virus infection in a large dairy herd. **Research in Veterinary Science**, v.28, n.1, p.10-16, 1980.

WITTMANN, W. Infecções por retrovirus. In: BEER, J. **Doenças Infeciosas em Animais Domésticos**. São Paulo: Roca. 1988. cap.11, p.181-193).