

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Dissertação

**Incidência da infecção dos Vírus da Leucose Enzoótica Bovina e Diarreia Viral  
Bovina em um centro de recria de novilhas sob pastoreio racional Voisin**

**Marília da Silva Carvalho**

Pelotas, 2015

**Marília da Silva Carvalho**

**Incidência da infecção dos Vírus da Leucose Enzoótica Bovina e Diarreia Viral Bovina em um centro de recria de novilhas sob pastoreio racional Voisin**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Dr. Luiz Filipe Damé Schuch

Pelotas, 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

- C331i Carvalho, Marília da Silva  
Incidência da infecção dos vírus da Leucose  
Enzoótica Bovina e Diarreia Viral Bovina em um centro  
de recria de novilhas sob pastoreio racional Voisin /  
Marília da Silva Carvalho; Luiz Filipe Damé Schuch,  
orientador. — Pelotas, 2015.  
54 f.
- Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-  
Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária,  
Universidade Federal de Pelotas, 2015.
1. Leucose enzoótica bovina. 2. Diarreia viral bovina.  
3. Dinâmica de transmissão. 4. Incidência. 5. Centro de  
recria de novilhas. I. Schuch, Luiz Filipe Damé, orient. II.  
Título.
- CDD : 636.2

Marília da Silva Carvalho

Incidência da infecção dos Vírus da Leucose Enzoótica Bovina e Diarreia Viral  
Bovina em um centro de recria de novilhas sob pastoreio racional Voisin

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data de Defesa: 23 de Fevereiro de 2015

Banca examinadora:

Professor Doutor Luiz Filipe Damé Schuch (Orientador)  
Doutor em Ciências pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Professora Doutora Fernanda de Rezende Pinto  
Doutora em Medicina Veterinária Preventiva pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP

Doutora Marta Farias Aita  
Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Doutor Giovani Girolometto  
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

## **Agradecimentos**

Primeiramente agradeço a Deus!

Existem situações na vida em que é fundamental poder contar com o apoio e a ajuda de algumas pessoas. Para a realização desta dissertação de mestrado, pude contar com várias pessoas as quais prestarei, através de poucas palavras, os mais sinceros agradecimentos:

Agradeço aos meus pais, César Augusto Carvalho e Eledi da Silva Carvalho por me incentivarem e me apoiarem em todas as etapas da minha vida. Muito obrigado por todo o apoio e paciência nos momentos difíceis.

Agradeço também aos meus familiares em especial as minhas avós Geni e Célia pelo apoio.

Ao meu noivo Gustavo, por aguentar meus momentos de crise e incertezas, sempre dando o apoio necessário para não desistir das batalhas e sempre seguir em frente.

Ao meu fiel amigo e companheiro de todas as horas, Caudilho!

As gurias do Schuch, companheiras de laboratório e de convívio na 3-4A obrigado pelo apoio durante estes dois anos. Em especial agradeço à Ângela, Tássia e Helena, gurias o apoio de vocês foi fundamental durante todo o experimento.

Ao Professor Dr. Luiz Filipe Damé Schuch, meu orientador, obrigado pelo aprendizado e experiências adquiridas nestes dois anos de convívio. Com certeza levarei na bagagem a base teórica e as práticas de doenças infecciosas para o resto da vida completando a minha formação.

Ao Professor Dr. Geferson Fischer, Paulo Centeno e Paulinho pelo apoio nas análises da virologia, também ao Professor Dr. Claudio Canal, Simone e Ialanna obrigado pelo apoio, aos funcionários do Centro de Recria André Voisin (CRAV) que nos receberam tão bem e contribuíram para a realização deste experimento.

Agradeço a banca, Dr<sup>a</sup> Fernanda de Rezende Pinto, Dr<sup>a</sup> Marta Farias Aita, Dr<sup>a</sup> Renata Osório de Faria e ao Dr. Giovani Girolometto.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram e participaram deste processo, e com quem compartilhei estes últimos anos. Obrigada!

## Resumo

CARVALHO, Marília da Silva. **Incidência da infecção dos vírus da Leucose Enzoótica Bovina e Diarreia Viral Bovina em um centro de recria de novilhas sob Pastoreio Racional Voisin**. 2015. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

Esta dissertação está apresentada na forma de um artigo científico cujo o objetivo de estudo foi determinar a prevalência e incidência de Leucose Enzoótica Bovina (LEB) e Diarreia Viral Bovina (DVB), avaliando a dinâmica de transmissão de enfermidades virais em um centro de recria de novilhas leiteiras submetidas a Pastoreio Racional Voisin (PRV). Estas doenças virais têm grande impacto econômico na criação de bovinos leiteiros levando a queda na produção leiteira e imunossupressão pré-dispondo as novilhas a outras infecções. Para detecção de anticorpos contra Leucose Enzoótica Bovina foi realizado um teste de Imunodifusão em Agar Gel (IDGA) comercial. Nos animais soropositivos, foi realizado o leucograma pareado para a determinação de linfocitose persistente (LP). Para a determinação da prevalência do vírus da Diarreia Viral Bovina, foi realizado o teste de vírus neutralização(VN) com cepa citopática NADL (BVDV-1). A detecção de possíveis animais persistentemente infectados (PI) foi utilizada a técnica de RT-PCR. O lote experimental era composto por 179 animais de raças leiteiras e cruzas, divididos em cinco lotes por faixa etária e peso, não fixos, submetidos ao manejo pelo método do Pastoreio Racional Voisin (PRV). As taxas de prevalência iniciais para LEB e DVB foram de 3,91% e 51,98% respectivamente. Foram calculadas taxas de incidência para as duas doenças resultando em 21,51% para LEB e 11,77% para DVB. A dinâmica de transmissão da Diarreia viral Bovina foi relativamente, lenta justificada pela ausência de animais PI dentro do lote experimental. Constatou-se que dos 39 animais positivos para LEB ao final do período experimental, dez apresentaram linfocitose persistente (LP), ou seja, uma prevalência de 25,64%, considerada alta, elevando os riscos de transmissão do vírus para outros animais dentro do centro de recria. A intensificação do manejo das novilhas dentro do centro de recria aumenta os riscos de disseminação de destas doenças. Como formas de controle destas enfermidades no rebanho, sugeriu-se a identificação de animais LEB positivos com estratégias de manejo e utensílios separados dos animais negativos; quanto a DVB como não foram encontrados animais persistentemente infectados no rebanho a vacinação das novilhas na idade reprodutiva deve ser preconizada reduzindo o risco da ocorrência de animais PI nas unidades de produção após o retorno dos animais e evitando problemas reprodutivos.

**Palavras-chave:** leucose enzoótica bovina; diarreia viral bovina; dinâmica de transmissão; incidência; centro de recria de novilhas

## Abstract

CARVALHO, Marília da Silva. **Incidence of infection of the virus leucosis Enzootic Bovine and Bovine Viral Diarrhea in a center of growing heifers under Pastoreio Racional Voisin**. 2015. 54 f. Dissertation (Master degree in Sciences) – Programa de Pós Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

This work is presented in the form of a scientific paper whose objective of the study was to determine the prevalence and incidence of Bovine Leukosis (LEB) and bovine viral diarrhea (DVB), evaluating the dynamics of transmission of viral diseases in a center for rearing dairy heifers Pastoreio Racional Voisin (PRV). These viral diseases have a significant economic impact on the creation of dairy cattle leading to reduced milk production and pre-arranging the heifers to other infections immunosuppression. For antibodies against Bovine Leukosis was carried out immunodiffusion test Agar Gel (AGID) commercial. In seropositive animals, was held the WBC paired for the determination of persistent lymphocytosis (PL). To determine the prevalence of bovine viral diarrhea virus, we performed the virus neutralization test (VN) with cytopathic strain NADL (BVDV-1). The detection of possible persistently infected (PI) animals was used for RT-PCR. The experimental plot consisted of 179 animals of dairy breeds and crosses, divided into five lots by age and weight, not fixed, subject to management by the method of grazing Rational Voisin (PRV). The initial prevalence rates for LEB and DVB were 3.91% and 51.98% respectively. Incidence rates were calculated for the two conditions resulting in LEB 21.51% and 11.77% for DVB. The dynamic transmission of bovine viral diarrhea was relatively slow explained by the absence of PI animals within the test batch. It was found that out of 39 animals positive for LEB the end of the trial, ten presented persistent lymphocytosis (LP), or a prevalence of 25.64%, which is considered high, increasing the risk of virus transmission to other animals within the center recreates. Intensified management of heifers in the center of growing increases the risk of spread of these diseases. As ways to control these diseases in the herd, suggested the identification of positive LEB animals with separate management strategies and tools of negative animals; as the DVB as vaccination of heifers in the reproductive age persistently infected animals in the herd were not found to be recommended, reducing the risk of occurrence of animal IP in production units after the return of animals and avoiding reproductive problems.

**Key words:** bovine leukosis; bovine viral diarrhea; transmission dynamics; incidence; center for dairy heifer



## Lista de Tabelas

Tabela 1	Prevalência e Incidência de Leucose Enzoótica Bovina através de análise sorológica de Imunodifusão em Ágar Gel (IDGA) em fêmeas alojadas no centro de recria/RS .....	38
Tabela 2	Pesquisa de linfocitose persistente em animais soropositivos para Leucose Enzoótica Bovina. Contagem de linfócitos sanguíneos nos dez animais com linfocitose persistente detectados entre os animais sorologicamente positivos.....	38
Tabela 3	Prevalência e Incidência de Diarréia Viral Bovina através de análise sorológica de Virus neutralização em fêmeas alojadas no centro de recria/RS.....	39
Tabela 4	Relação do status sorológico para Leucose Enzoótica Bovina e o ganho de peso de fêmeas bovinas alojadas no centro de recria/RS.....	39
Tabela 5	Relação do status sorológico para Diarréia Viral Bovina e o ganho de peso de fêmeas bovinas alojadas no centro de recria/RS.....	39

## Lista de Abreviaturas e Siglas

µl	Microlítro
AL	Alinfocitóticas
BoHV	Herpes Vírus Bovino
BVDV	Bovine Viral Diarrhea Virus
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
CP	Citopática
CR	Centro de Recria
CRAV	Centro de Recria André Voisin
DICC <sub>50</sub>	Doses infectantes para 50% de cultivos celulares
DVB	Diarréia Viral Bovina
ECP	Efeito Citopático
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FV	Faculdade de Veterinária
H	Horas
HCl	Ácido Clorídrico
I.A	Inseminação Artificial
IDAG	Imunodifusão de Agar Gel
Kg	Quilo
LabVir	Laboratório de Virologia
LEB	Leucose Enzoótica Bovina
LP	Linfocitose Persistente
LPCVet	Laboratório de Patologia Clínica
MDBK	Madin-Darby Bovine Kidney
MEM	Meio Essencial Mínimo
mL	Mililítro

N	Número de amostras
NCP	Não Citopáticas
OIE	Organização Mundial da Saúde Animal
P	Intervalo de Confiança
PB	Pares de base
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
p.H	Potencial Hidrogeniônico
PI	Persistentemente Infectado
PRV	Pastoreio Racional Voisin
RNA	Acido Ribonucléico
RIA	Radioimunoensaio
r.p.m.	Rotação por Minuto
RT-PCR	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
TAE	Tris-Acetato-EDTA
TECPAR	Instituto de Tecnologia do Paraná
TRIS	Trisaminometano
UFPeI	Universidade de Federal de Pelotas
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Vd <b>vb</b>	Vírus da Diarréia Viral Bovina
VL <b>B</b>	Vírus da Leucose Bovina
VN	Virusneutralização

## Lista de Símbolos

%	Porcentagem
®	Marca Registrada
≥	Maior ou igual
°C	Graus Celsius
™	Trade Mark

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>12</b>
<b>2 Objetivos .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 Geral .....</b>	<b>17</b>
<b>2.2 Específicos .....</b>	<b>17</b>
<b>3 Revisão Bibliográfica.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Pastoreio Racional Voisin .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Leucose Enzoótica Bovina .....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 Diarreia Viral Bovina .....</b>	<b>22</b>
<b>4 Artigo.....</b>	<b>26</b>
<b>5 Considerações Finais .....</b>	<b>40</b>
<b>Referências.....</b>	<b>41</b>

## 1 Introdução

O correto manejo de bovinos leiteiros é fundamental para a máxima produtividade do rebanho começando no manejo da fêmea gestante até a puberdade da novilha e a primeira parição. Muitos fatores influenciam na produção leiteira tais como: ambiente, raça, sanidade, reprodução e alimentação. O bom manejo na criação de terneiras começa durante a gestação da fêmea fornecendo uma alimentação de qualidade que é imprescindível para o desenvolvimento fetal, formação de colostro e boa lactação. A exigência do feto por nutrientes aumenta no terço final da gestação e influencia diretamente no peso fetal e ao nascer, assim, é fundamental uma dieta balanceada para a vaca no período de transição (SANTOS *et al.*, 2002; NEIVA; NEIVA, 2006). Um bom manejo na recria de novilhas reflete na produção leiteira da vaca, pois nesta fase ocorre o desenvolvimento do tecido secretor da glândula mamária e é também nesta fase que com a correta ingestão de nutrientes na alimentação ocorre o aumento na velocidade de crescimento da novilha chegando mais cedo ao primeiro parto, práticas fundamentais para aumentar a produtividade e rentabilidade da propriedade (SCHAFHÄUSER JR, 2006).

A etapa de recria de novilhas tem início logo após o desmame e se estende até a puberdade e cobertura do animal. É uma fase muito onerosa e exige atenção redobrada na alimentação, pois, neste período ocorre o crescimento da fêmea e o desenvolvimento da glândula mamária se encontra mais sensível a variações alimentares (supra/sub nutrição). O objetivo desta etapa é antecipar a puberdade para os 13 meses, concepção aos 15 meses e parição aos 24 meses. Durante a fase de recria ocorre uma etapa importante do desenvolvimento da glândula mamária que pode interferir positiva ou negativamente na posterior produção leiteira da vaca. A alimentação na fase pré-púbere deve ser mais protéica e menos rica em energia, pois, neste período ocorre a formação do parênquima mamário e após atingir a puberdade, na glândula mamária desenvolvem-se os alvéolos que são fundamentais para a produção leiteira. Também, durante todo o desenvolvimento da novilha é de fundamental importância a sanidade, fazendo necessário estipular um

programa de manejo sanitário que inclui vacinações obrigatórias contra brucelose e febre aftosa como também vacinas reprodutivas, contra raiva e clostridioses, associadas a medicamentos antiparasitários (SANTOS *et al.*, 2002; CAMPOS; LIZIERE, 2005; SCHAFHÄUSER JR, 2006).

Pequenos produtores deixam esta etapa em segundo plano, pelos altos custos e pouca lucratividade com estes animais. Como alternativa a esta etapa onerosa existem os campos de recria de novilhas que consistem em campos especializados para a criação de novilhas visando um manejo especializado com nutrição e sanidade adequados com o objetivo principal de liberar 30 a 40% da área de campo da propriedade para a alimentação de animais em produção. Como desvantagem a este sistema de terceirização da recria, está o custo de mensalidade paga pelo produtor para a recria de sua novilha fora da propriedade. Em contrapartida este custo é recompensado com a precocidade e produção quando o animal volta a propriedade (FERRARI *et al.*, 2014).

O manejo racional de pastagens é um dos fatores de maior relevância para a produção animal sustentável: é necessário que seja o mais eficaz, para a proteção da pastagem e, ao mesmo tempo, resulte em bom desempenho animal (VOISIN, 1974). O sistema Pastoreio Racional Voisin (PRV) está baseado no princípio do respeito aos seus componentes: solo, planta, animal e ser humano. Nesse sentido o PRV, a partir do respeito às leis da natureza, atende as exigências e as necessidades da planta forrageira, do solo e do animal, de maneira que estes não venham a se contrapor (LENZI, 2012). O PRV compreende uma tecnologia eficiente, moderna e econômica para a produção de leite e carne a base de pasto. Nesse sistema há uma maior produção por hectare, um menor custo por unidade do produto, incremento da fertilidade do solo, através dos dejetos dos animais; proteção ao meio ambiente, produção de alimentos sem o uso de agrotóxicos ou insumos de síntese industrial; respeito ao bem-estar-animal e maior lucratividade (CAZALE, 2006). O manejo em sistema PRV consiste em altas taxas de lotações diárias nos piquetes favorecem a transmissão de enfermidades e por este motivo é necessário uma maior atenção a segurança sanitária no centro de recria.

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma enfermidade infectocontagiosa causada por um vírus oncogênico do gênero *Oncornavirus*, família *Retroviridae* de pouca variedade genômica (MARTINS; CATROXO, 2009; FLORES, 2007). Doença de caráter crônico e evolução lenta, a LEB pode manifestar-se de forma

assintomática e sub-clínica ou nas formas clínicas de linfocitose persistente (LP) e linfossarcoma (FLORES, 2007; BLOOD; RADOSTITS, 2002; BRAGA *et al.*,1998). A linfocitose persistente é uma manifestação clínica que aparece em aproximadamente 30% dos animais infectados pelo Vírus da Leucose Bovina (VLB). É uma enfermidade benigna em que ocorre um aumento no número de linfócitos na corrente sanguínea (AZEDO *et al.*,2011). O linfossarcoma é mais frequente em animais adultos acima de quatro anos. Forma maligna da doença e tem evolução fatal, caracterizada pela formação de tumores de origem linfóide que podem afetar diversos órgãos (BLOOD; RADOSTITS, 2002; FLORES; SCHUCH, 2007; BRAGA *et al.*,1998).

O vírus tem tropismo por linfócitos B, atua integrando-se ao genoma da célula do hospedeiro e por meio de divisão celular dá origem a outros linfócitos infectados por VLB, estima-se que 30% dos linfócitos de um animal infectado contenham o material genético viral (MARMERICK *et al.*,1987; CORREA; CORREA,1992; AZEDO *et al.*,2008; AZEDO *et al.*,2011). O vírus está presente no sangue, leite, sêmen e massas tumorais. A transmissão natural de um bovino infectado para outro susceptível ocorre pelo contato de um animal sadio com células sanguíneas de um animal infectado com o vírus VLB. Insetos hematófagos, práticas de manejo como descorna, tatuagem, procedimentos cirúrgicos, palpação retal, vacinações, imunoterapias, aplicações de medicamentos via endovenosa e intramuscular (BLOOD; RADOSTITS, 2002; MARMERICK *et al.*,1987; MANET *et al.*,1989; PINHEIRO JR. *et al.*, 2013; KOHARA *et al.*, 2006; DIVERS *et al.*,1995).

Manifestações clínicas relacionadas a LEB são complexas e semelhantes a outras enfermidades tais como febre, anorexia, emagrecimento progressivo e fraqueza (BLOOD; RADOSTITS, 2002). De acordo com a localização do tumor podem apresentar problemas respiratórios, cardíacos, digestivos, neurológicos que levam a morte. Os testes sorológicos são os métodos de diagnóstico mais utilizados na detecção de anticorpos anti-VLB (contra proteínas virais) sendo os principais: Imunodifusão em Agar Gel - IDAG, Ensaio Imunoenzimático – ELISA e Radioimunoensaio - RIA (BASILIO *et al.*,1993). Testes hematológicos são importantes na detecção de animais com linfocitose persistente condição que o animal apresenta elevado numero de células sanguíneas infectadas, sendo ponto chave da disseminação do VLB de forma iatrogênica no rebanho (MARMERICKX *et al.*,1987; DIVERS *et al.*,1995).



Não há tratamento nem vacina eficaz contra o VLB, e assim, programas de controle e prevenção da doença tem grande importância no controle da disseminação da doença no rebanho. Estratégias de controle devem ser estabelecidas levando em consideração o tamanho da propriedade, condições de manejo, valor genético do rebanho e condições financeiras. O controle pode ser realizado eliminando todos os animais positivos, separando o rebanho em dois lotes: os animais positivos dos soronegativos, ou manejo misto de um rebanho com identificação de animais positivos e utilização de material separadamente, desinfecção de todos os materiais e eliminação gradual dos animais positivos (BRAGA *et al.*,1998; LEUZZI JR *et al.*, 2001).

A Diarréia Viral Bovina (DVB) é uma das doenças virais de maior importância que acomete o trato gastrointestinal e reprodutivo de bovino. Causada por um *Pestivirus*, um RNA - vírus de grande variabilidade genômica, o Vírus da Diarréia Bovina (vDVB) possui capacidade de causar efeito citopático em cultivo celular, sendo classificado em dois biótipos: citopático e não citopático. Isolados de vDVB são divididos em dois tipos: BVDV tipo 1 e BVDV tipo 2 (FLORES *et al.*,2005).

A transmissão do vírus ocorre por contato direto ou indireto com secreções e excreções de um animal em fase aguda de infecção com viremia ou pela introdução de um animal persistentemente infectado (PI) no rebanho que liberam constantemente altas cargas virais. A infecção fetal entre os 40º e 120º dias de gestação dá origem a um animal PI, período em que o sistema imunológico do feto está imaturo e reconhece as proteínas virais como próprias. (FLORES, 2007; NORONHA *et al.*,2003).

O vírus infecta células do sistema imune do hospedeiro causando imunossupressão podendo predispor o animal infectado a outras enfermidades. A DVB pode manifestar-se de forma leve, passando despercebida pelo produtor ou como em casos mais graves causando problemas reprodutivos. Sinais clínicos podem variar de acordo com o estado imune do animal e a virulência da cepa. Os principais sinais são febre, anorexia, problemas gastroentéricos, problemas respiratórios e reprodutivos. Perdas reprodutivas como abortos, mal formações fetais e infertilidade temporária levam a grandes prejuízos econômicos na criação de bovinos (FLORES, 2007; BLOOD; RADOSTITS, 2002; FLORES;SCHUCH, 2007).

O diagnóstico direto de DVB pode ser feito por isolamento viral em tecidos e secreções através da técnica de cultivo celular, imunoperoxidade e

imunofluorescência (GOENS, 2002). Testes sorológicos como Vírusneutralização e Ensaio Imunoenzimático são os testes mais utilizados para a detecção de anticorpos em soro e leite. Técnicas de biologia molecular são muito utilizadas para a pesquisa de animais PI no rebanho (PILZ *et al.*, 2007; ARENHART *et al.*, 2009).

O controle e a prevenção da DVB baseia-se na identificação e eliminação de animais PI no rebanho, seguido de vacinação de fêmeas em idade reprodutiva antes da estação de monta, prevenindo problemas reprodutivos e evitando o nascimento de uma nova linhagem de animais PI (FINO *et al.*, 2012).

## **2 Objetivos**

### **2.1 Geral**

Determinar a prevalência e incidência dos Vírus da Leucose Enzoótica Bovina e Vírus da Diarréia Viral Bovina em um centro de recria de novilhas sob Pastoreio Racional Voisin e monitorar a transmissão das enfermidades.

### **2.2 Específicos**

Diagnosticar doenças infecciosas de origem viral no centro de recria de novilhas sob o Pastoreio Racional Voisin;

Monitorar a transmissão viral da Leucose Enzoótica bovina (LEB) e Diarréia Viral Bovina (DVB) no centro de recria;

Identificar a presença de animais persistentemente infectados (PI) para DVB no lote experimental e avaliar o impacto da transmissão nas condições de manejo;

Identificar animais com linfocitose persistente (LP) dentre os animais sororeagentes para Leucose Enzoótica Bovina e avaliar o impacto da transmissão nas condições de manejo do campo de recria;

Estabelecer fatores de risco para a transmissão de LEB e DVB dentro do lote experimental e sua dinâmica de transmissão.

### **3 Revisão Bibliográfica**

#### **3.1 Pastoreio Racional Voisin**

O fundamento do Pastoreio Racional Voisin baseia-se desenvolvimento da biocenose do solo, tempos de repouso e ocupação de pastagem, em funções das condições climáticas, fertilidade do solo, espécie vegetal e outras manifestações da vida, cuja avaliação não se enquadra em esquemas preestabelecidos (MACHADO,2010). O PRV tem como princípio o respeito aos seus componentes: solo, planta, animal e o ser humano. Utilizando os conhecimentos gerados pela humanidade para aproveitar ao máximo dos recursos naturais porém, preservando a fertilidade do solo e o meio ambiente. (CASTAGNA *et al.*, 2008).

O manejo de pastagens em sistema PRV é um dos fatores de maior relevancia para a produção animal de forma sustentável (VOISIN,1974). Cazale (2006) descata que o sistema de PRV consiste em uma tecnologia moderna, eficiente e econômica para a produção de leite e carne a base de pasto. Utilizando o mínimo dos recursos de origem industrial, sem uso de fertilizantes e agrotóxicos, utilizando somente dejetos dos animais. Buscando a máxima captação de energia solar. Neste sistema há uma maior produção de pasto por hectare e menor custo por unidade animal, respeitando o bem-estar-animal e obtendo maior lucratividade (CAZALE, 2006; CASTAGNA *et al.*, 2008).

#### **3.2 Leucose Enzoótica Bovina**

Dentre os vírus oncogênicos de grande importância na medicina veterinária destaca-se o Vírus da Leucose Bovina (VLB). Um vírus pertencente a família *Retroviridae*, do gênero *Oncornavirus* do tipo C, que é também responsável pelas leucemias felinas e humanas. É vírus RNA com pouca variabilidade genômica, apresentando grande similaridade estrutural com os vírus da leucemia humana e por esta característica a enfermidade é conhecida como vírus da leucemia bovina (MARTINS; CATROXO, 2009; FLORES, 2007; CORREA; CORREA,1992).

Doença infectocontagiosa de caráter crônico e evolução lenta, a Leucose Bovina pode manifestar-se de forma esporádica ou forma enzoótica. A Leucose esporádica acomete animais com idade inferior a três anos, podendo ser classificada de três formas: juvenil (frequente em terneiros de até seis meses), tímica (animais com até dois anos) e forma cutânea (animais acima de três anos) (BLOOD; RADOSTITS, 2002). A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) propriamente dita na maioria das vezes é silenciosa podendo ser assintomática (FLORES *et al.*, 2007). Pode manifestar-se na forma clínica de linfocitose persistente (LP), uma forma benigna da doença na qual ocorre aumento no número de linfócitos na corrente sanguínea que acomete cerca de 30% dos animais soropositivos, ou na forma de linfossarcomas, forma maligna da doença que se caracteriza pelo desenvolvimento de tumores de origem linfóide podendo afetar diversos órgãos sendo mais frequente em animais acima de quatro anos de idade acometendo menos de 5% dos animais infectados (FLORES, 2007; BLOOD; RADOSTITS, 2002; BRAGA *et al.*, 1997).

O VLB uma vez introduzido nos tecidos do animal infecta os linfócitos B do novo hospedeiro e por meio de divisão celular estes linfócitos infectados vão se multiplicando no organismo do hospedeiro. Esta é uma estratégia do vírus que atua neutralizando a apoptose celular, que resultando no aumento no número de linfócitos em circulação, estima-se que 30% dos linfócitos de um animal infectado contenham material genético do vírus (MAMMERICKX *et al.*, 1987; AZEDO *et al.*, 2008; 2011). O VLB permanece latente nos linfócitos B do hospedeiro e por este motivo está presente no sangue, leite e em massas tumorais do animal infectados (CORREA; CORREA, 1992; BLOOD; RADOSTITS, 2002).

Os mesmos autores relatam que a transmissão do vírus ocorre com a introdução de um animal infectado ao rebanho e se dissemina através do contato de animais sadios com células sanguíneas infectadas com VLB. Mammerickx *et al.* (1987) relatam que a possibilidade de transmissão do vírus de um animal infectados manifestando linfocitose persistente (LP) é relativamente maior do que um animal infectado mas sem esta condição. Infecções intra-uterinas e transmissão pelo colostro são pouco frequentes (FERRER; PIPER, 1981), insetos hematófagos principalmente os tabanídeos, tem papel importante como vetores da infecção no rebanho principalmente nos meses de verão e em animais criados em sistema intensivo ou semi-intensivo (MANET *et al.*, 1989). A transmissão iatrogênica através de práticas de manejo como: descorna, tatuagem, aplicação de brincos, vacinações,

imunoterapias como a premunição para Tristeza Parasitária Bovina tem grande importância na disseminação do vírus entre os animais de um rebanho. Pinheiro Jr. *et al.* (2013) relatam que em propriedades com assistência técnica ocorreram taxas elevadas de casos de LEB no rebanho, sendo o Médico Veterinário o disseminador do vírus através do uso de instrumentos cirúrgicos contaminados e palpação retal sem a troca ou desinfecção do material no intervalo entre dois animais.

Kohara *et al.*(2006) e Divers *et al.*(1995) confirmaram que o atrito das luvas de palpação retal na mucosa causam irritação levando a micro lesões que sangram e que um animal manifestando linfocitose persistente (LP) apresentam alto potencial de infecção para os próximos animais as sofrerem palpação. Apenas 1µL de sangue infectado por VLB já é suficiente para causar a infecção, por este motivo até mesmo a inoculação de tuberculina intradérmica pode ser um fator de risco a transmissão do vírus (MAMMERICKX *et al.*,1987; BLOOD, RADOSTITS, 2002).

A infecção pelo vLEB pode ser assintomática (com presença de anticorpos mas, alinfocitótica - AL) ou manifestar-se clinicamente nas formas de linfocitose persistente (LP) e linfossarcoma. A linfocitose persistente (LP) consiste numa elevação crônica no número de linfócitos circulantes, é uma forma estratégica do vírus de aumentar a população de linfócitos B infectados e esta condição leva a uma diminuição na atividade dos macrófagos e monócitos, reduzindo a atividade fagocitária deixando os animais mais susceptíveis a infecções (AZEDO *et al.*, 2008; 2011; BATISTA FILHO, 2011; DEQUIEDT *et al.*,1999). Os linfossarcomas podem ser precedidos ou não de LP, sendo mais frequente em animais adultos, tumor maligno com infiltração linfocitária de evolução fatal acometendo menos de 5% dos animais infectados pelo vírus (BRAGA *et al.*,1997, FLORES, 2007, LEUZZI JR *et al.*, 2001; AZEDO, 2012). Os sinais clínicos gerais são febre, anorexia, emagrecimento progressivo e fraqueza. Um dos primeiros sinais que sugerem a suspeita de leucose é o infartamento de linfonodos, principalmente os pré-escapulares e os pré-crurais (BLOOD; RADOSTITS, 2002). Os sinais clínicos específicos variam de acordo com a localização órgão afetado pelo tumor, dentre eles problemas respiratórios, digestivos, cardíacos, neurológicos, reprodutivos, devido às características metastáticas do tumor, podendo atingir um ou mais órgãos com evolução para a morte (BLOOD; RADOSTITS, 2002; FLORES, 2007).

Os primeiros registros da Leucose Enzoótica Bovina foram na Alemanha e Lituânia, no século XX e com o advento a Segunda Guerra Mundial disseminou-se por toda a Europa. Através da implantação de programas sanitários de controle e erradicação da LEB, atualmente, alguns países europeus erradicaram a doença (ACAITÉ *et al.*, 2007; FLORES, 2007; LIMA *et al.*, 1980; CARNEIRO *et al.*, 2003). No Brasil a Leucose Enzoótica Bovina foi introduzida por pecuaristas das regiões Sul e Sudeste através de importação de animais de raça leiteira de alto valor genético associada a falta de políticas sanitárias específicas para a doença. O livre trânsito de animais disseminou a doença por todos os Estados da Federação (CARNEIRO *et al.*, 2003; PINHEIRO JR *et al.*, 2013).

No Rio Grande do Sul, em um levantamento sorológico, foi encontrada uma prevalência média de 12% de animais soropositivos nos 172 municípios estudados. Taxas de incidência e prevalência de LEB aumentam com a idade dos animais acima de dois anos (MORAES *et al.*, 1996).

Testes sorológicos para a detecção de anticorpos anti-VLB constituem a principal ferramenta de diagnóstico da Leucose Enzoótica Bovina e são eles: Imunodifusão em Ágar Gel (IDGA), Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e Radioimunoensaio (RIA) (FLORES *et al.*, 1989; BASILIO *et al.*, 1993).

O teste de IDGA é o mais difundido e utilizado em programas de controle, sendo considerado o teste de eleição para pesquisas epidemiológicas (FLORES *et al.*, 1989; FLORES, 2007). O teste de ELISA pesquisa anticorpos contra a proteína p24 do capsídeo do vírus podendo ser utilizado para a detecção de anticorpos no leite. É um teste mais específico quando comparado ao teste de IDGA que pesquisa anticorpos contra a proteína gp51 do envelope viral (BRAGA *et al.*, 1998). Como vantagem o teste de IDGA oferece o custo reduzido e a presença de anticorpos é um indicativo de infecção pelo vírus VLB (FERREIRA *et al.*, 1982).

Técnicas avançadas como PCR apresentam alto custo porém oferece a vantagem de diferenciar animais nascidos infectados de anticorpos colostrais transferidos pela mãe soropositiva (LEUZZI JR. *et al.*, 2001).

Durante muitos anos, chaves hematológicas foram métodos de diagnóstico definitivo de Leucose Enzoótica Bovina baseado na pesquisa de linfocitose persistente (LP), atualmente sabe-se que muitos animais podem ser positivos para leucose sem manifestar linfocitose ou linfossarcomas e por este motivo este método de diagnóstico caindo em desuso (LEUZZI JR. *et al.*, 2001; FERREIRA *et al.*, 1982).

Porém, leucogramas sequenciais fornecem informações importantes na detecção de animais com linfocitose persistente (LP) potenciais disseminadores da infecção para o rebanho (DIVERS *et al.*, 1995).

Não há tratamento ou vacina preventiva para o combate da LEB. Por este motivo, são imprescindíveis métodos de controle e prevenção da doença (BRAGA *et al.*, 1997; 1998). Estratégias de controle variam de acordo com o tamanho do rebanho, investimento genético no rebanho e sistema de criação; são elas: 1ª) teste e eliminação de animais positivos, sendo esta a maneira mais rápida e eficiente de erradicar a doença da propriedade; 2ª) separação do rebanho, dividindo-o em dois grupos: um soropositivo e outro soronegativo organizando em campos separados e mantendo estratégias de manejo para evitar a transmissão para animais sadios e 3ª) manejo de um rebanho único: identificando animais positivos e negativos com práticas de manejo separadas e eliminação gradual de animais positivos (BRAGA *et al.*, 1998).

### **3.3 Diarreia Viral Bovina**

A DVB destaca-se no cenário das doenças virais de importância veterinária devido as grandes perdas econômicas causadas. A enfermidade manifesta-se como uma gama de sinais clínicos variados como distúrbios digestivos, respiratórios e reprodutivos (FLORES; SCHUCH, 2007; FLORES, 2007). É causada por um *Pestivirus* da família *Flaviridae*, RNA-vírus, com grande variabilidade genômica, envelopados que afetam diversas espécies animais, responsável também pela Peste Suína Clássica e Doença das Fronteiras dos Ovinos, doenças que causam sérios prejuízos econômicos em todo o mundo (MOENING, 1990; FLORES *et al.*, 2005).

O vírus da Diarréia Viral Bovina (vDVB) é um dos principais agentes etiológicos causadores de perdas econômicas na criação de bovinos, podendo infectar também outros ruminantes, suínos e animais silvestres (BLOOD, RADOSTITS, 2002). Possui capacidade de causar efeito Citopático em cultivo celular sendo classificado em dois biótipos: Citopáticos(CP) e Não Citopáticos (NCP). A variação citopática do vírus ocorre quase que exclusivamente em animais acometidos pela Doença das Mucosas (DM) uma manifestação clínica de quadro severo, agudo e com evolução fatal ocorrendo em animais imunotolerantes jovens



infectados com cepa NCP que sofre mutação tornando-se CP, acometendo animais entre seis meses e dois anos de idade (FLORES, 2007).

Cepas de campo são em sua maioria Não Citopáticas (NCP), isolados de vDVB são divididas em dois tipos: BVDV-1 e BVDV-2 e apresentam grande variabilidade antigênica. O tipo BVDV-1 está relacionado à enfermidades leves e moderadas e este genótipo está presente na maioria das amostras vacinais disponíveis no mercado brasileiro. Já amostras de BVDV-2 são responsáveis por casos graves de enfermidades gastroentéricas e síndromes hemorrágicas (BOTTON *et al.*, 1998; FLORES; SCHUCH, 2007; BLOOD; RADOSTITS, 2002).

A transmissão do BVDV pode ocorrer por contato direto ou indireto com secreções e excreções de animais infectados em fase de viremia, através de saliva, secreções nasais e oculares, urina, fezes, sêmen, sangue e fômites (BLOOD; RADOSTITS, 2002; VOGEL *et al.*, 2001). A introdução do vírus em um rebanho até então livre, ocorre pela aquisição de animais sem manifestação clínica porém com viremia, eliminando vírus por secreções e excreções. A viremia dura pouco tempo cerca de 10 a 15 dias (FLORES, 2007; FINO *et al.*, 2012).

Outra forma de transmissão, talvez a mais significativa, ocorre pela introdução de animais Persistentemente Infectados (PI), originados de fêmeas prenhas infectadas entre 40<sup>o</sup> e 120<sup>o</sup> dias de gestação. Nesse período, o vírus penetra a barreira transplacentária, infectando o feto e como sistema imunológico do feto encontra-se imaturo, reconhece as proteínas virais como próprias, dando origem a animais imunotolerantes. A infecção é geralmente inaparente e sub-clínica nestes animais, porém estes animais eliminam constantemente altas cargas virais através de secreções e excreções (FLORES, 2007, ARENHART *et al.*, 2009). O vírus apresenta tropismo por células do sistema imune do animal, principalmente monócitos, macrófagos, linfócitos e também por células epiteliais do trato intestinal e trato respiratório superior, causando imunossupressão no animal infectado. Por este motivo, frequentemente o vDVB está associado a outros vírus e bactérias causadores de doenças gastrointestinais e respiratórias (MARSHAL, 1993; DIAS; SAMARA, 2010).

As manifestações clínicas podem variar de um quadro leve, moderado a uma forma severa e fatal, dependendo da capacidade imunológica do animal, capacidade de agressão de cepa viral e o tempo de viremia causada pelo BVDV. Os sinais clínicos vão desde inapetência, apatia, febre, disfunções gastroentéricas, síndromes

hemorrágicas, infecções respiratórias, corrimento nasal. A cura ocorre em poucos dias e os sinais clínicos podem passar despercebidos aos olhos do produtor (FLORES *et al.*, 2005; FLORES, 2007; FINO *et al.*, 2012).

Os sinais mais alarmantes são as perdas reprodutivas: abortos, malformações fetais, reabsorção embrionária, infertilidade temporária, nascimento de terneiros fracos ou natimortos. Porém, a infecção de uma vaca no período gestacional da origem a animal imunocompetente através da transmissão intra-uterina resultando em animais imunotolerantes e persistentemente infectados (PI), responsáveis pela disseminação do vírus no rebanho (HOUE, 1995).

Animais PI apresentam-se assintomáticos, porém eliminam grandes cargas virais por toda a vida, em secreções nasais e oculares e excreções corpóreas (HOUE, 1995; BLOOD; RADOSTITS, 2002; FLORES *et al.*, 2005; FLORES, 2007). Estes animais PI são sorologicamente negativos ao teste de vírusneutralização, somente sendo detectados por técnicas avançadas de amplificação do genoma viral, como PCR (FINO *et al.*, 2012).

O diagnóstico da infecção pode ser feito por isolamento viral em material de aborto, sangue e secreções através da técnica de cultivo celular seguido de imunofluorescência ou imunoperoxidase, onde são distinguidas cepas Citopáticas e Não Citopáticas, porém, esta é uma técnica demorada e muito laboriosa (GOENS, 2002).

Testes sorológicos são alternativas viáveis para redução de custos com exames sendo eles: Vírusneutralização (VN) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) os quais se baseiam na identificação de anticorpos neutralizantes, sendo uma ferramenta de grande importância na investigação da prevalência da infecção no rebanho.

O teste de vírusneutralização é o teste padrão para titulação de anticorpos, muito utilizado em triagem de rebanhos e baseia-se na pesquisa e mensuração de anticorpos contra BVDV no soro sanguíneo.

O teste de ELISA permite uma rápida pesquisa para identificação de anticorpos específicos podendo ser realizado a partir de amostras de sangue, soro e leite, sendo o teste de eleição para triagem e controle em países da Europa (FINO *et al.*, 2012).

Animais PI não são detectados nas principais técnicas de diagnóstico através de sorologia, somente sendo detectadas em técnicas de biologia molecular. Segundo Canal *et al.*, (1996) o teste de RT-PCR apresenta alta sensibilidade para a detecção de animais PI, seja em amostras de leite, como sanguíneas.

As consequências reprodutivas de enfermidades como a DVB provocam sérias perdas econômicas na propriedade, e esta é a maior motivação para a investigação da presença da doença e definição de estratégias para controle e eliminação. A primeira ferramenta de controle é a detecção de animais persistentemente infectados (PI) no rebanho, sendo a identificação destes animais a peça chave de todos os programas sanitários de controle e erradicação da DVB (HOUE, 1995; MOENING, 1990; FLORES, 2007; FLORES; SCHUCH, 2007).

O controle da doença no rebanho pode ser feito com ou sem vacinação, os protocolos de controle e estratégias de prevenção são baseadas nos testes de diagnóstico e no tamanho do rebanho. Em rebanhos com altas taxas de prevalência para BVDV e animais em idade reprodutiva é fundamental a vacinação para evitar a infecção fetal e nascimento de animais PI. Já em rebanhos com baixa prevalência, a vacinação não é necessária, desde que ocorra a eliminação de animais positivos (FLORES; SCHUCH, 2007).

As vacinas comercializadas no Brasil são produzidas a partir de cepas virais inativadas de BVDV-1, que visam conferir imunidade à fêmea, evitando a infecção fetal e também a redução da circulação viral (FLORES *et al.*,2005). Como desvantagem, produzem resposta imune de pouca duração, devendo ser realizado reforço anual ou a cada semestral (FINO *et al.*,2012).

As falhas vacinais ocorrem talvez pelo fato de que a vacina não confere proteção contra o tipo BVDV-2 presente no Brasil, comprovado por Canal *et al.*, (1996). Uma vacina eficiente deveria ser formulada com as cepas BVDV tipo 1 e 2, existentes no país, para que programas de controle da doença sejam eficazes, evitando assim perdas econômicas e falhas reprodutivas no rebanho.

#### **4 Artigo**

**Incidência da infecção do vírus da Leucose Enzoótica Bovina e vírus da Diarréia Viral Bovina em um centro de recria de novilhas em sistema de Pastoreio Racional Voisin.**

**Marília da Silva Carvalho, Ângela Faccin, Tássia Gomes Guimarães, Helena Piúma Gonçalves, Pâmela Martinuzzi, Marta Farias Aita, Paulo Quadros Menezes, Geferson Fischer, Luiz Filipe Damé Schuch.**

**Submetido à revista Semina: Ciências Agrárias.**

**Incidência da infecção do vírus da Leucose Enzoótica bovina e vírus Diarréia Viral Bovina em um centro de recria de novilhas em sistema de Pastoreio Racional Voisin.**

*Incidence of infection of enzootic bovine leucosis virus and bovine viral diarrhea in a central system recreates in heifers Pastoreio Racional Voisin.*

Marília da Silva Carvalho, Ângela Faccin, Tássia Gomes Guimarães, Helena Piúma Gonçalves, Pâmela Martinuzzi, Marta Farias Aita, Paulo Quadros Menezes, Geferson Fischer, Luiz Filipe Damé Schuch.

**Resumo**

O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência e incidência de Leucose Enzoótica Bovina (LEB) e Diarréia Viral Bovina (DVB), avaliando a dinâmica de transmissão de enfermidades virais em um centro de recria de novilhas submetidas a sistema de Pastoreio Racional Voisin. Estas doenças virais têm grande impacto econômico na criação de bovinos leiteiros levando a queda na produção leiteira e imunossupressão pré-dispondo as novilhas a outras infecções. Para detecção de anticorpos contra Leucose Enzoótica Bovina foi realizado um teste de Imunodifusão em Ágar Gel (IDGA) comercial. Nos animais soropositivos, foi realizado o leucograma pareado para a determinação de linfocitose persistente (LP). Para a detecção da prevalência do vírus da Diarréia Viral Bovina (vDVB), foi realizado o teste de virusneutralização(VN) com cepa citopática NADL (BVDV-1) e a detecção de possíveis animais persistentemente infectados (PI) foi realizada pela técnica de Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR). O lote experimental era composto por 179 animais de raças leiteiras e cruzas, divididos em cinco lotes por faixa etária e peso, não fixos, submetidos ao manejo pelo método do Pastoreio Racional Voisin (PRV). As taxas de prevalência iniciais para LEB e DVB foram de 3,91% e 51,98% respectivamente. Foram calculadas taxas de incidência para as duas doenças resultando em 21,51% para LEB e 11,77% para DVB. Constatou-se que dos 39 animais positivos para LEB ao final do período experimental, dez apresentaram LP, ou seja, uma taxa de prevalência de 25,64%, considerada alta, elevando os riscos de transmissão do vírus para outros animais dentro do centro de recria. A dinâmica de transmissão da DVB foi relativamente lenta, justificada pela ausência de animais PI dentro do lote experimental. A intensificação do manejo das novilhas dentro do centro de recria aumenta os riscos de disseminação de destas doenças. Como formas de controle destas enfermidades no rebanho, sugeriu-se a identificação de animais LEB positivos com estratégias de manejo e separação de utensílios dos animais negativos e positivos. Quanto a DVB como não foram encontrados animais persistentemente infectados no rebanho a vacinação das novilhas na idade reprodutiva deve ser preconizada reduzindo o risco da ocorrência de animais PI nas unidades de produção após o retorno dos animais e evitando problemas reprodutivos.

**Palavras-chave:** centro de recria de novilhas; Diarréia Viral Bovina; dinâmica de transmissão; incidência Leucose Enzoótica Bovina.

**Abstract**

The objective of this study was to determine the prevalence and incidence of Bovine Leukosis (LEB) and bovine viral diarrhea (DVB), evaluating the dynamics of transmission of viral diseases in a center of growing heifers subjected to system Pastoreio Racional Voisin. These viral diseases have a significant economic impact on the creation of dairy cattle leading to reduced milk production and pre-arranging the heifers to other infections immunosuppression. For antibodies against Bovine Leukosis was carried out immunodiffusion test Agar Gel (AGID) commercial. In seropositive animals, was held the WBC paired for the determination of persistent lymphocytosis (PL). To detect the prevalence of

bovine viral diarrhoea virus (BVDV), we performed the virus neutralization test (VN) with cytopathic strain NADL (BVDV-1) and the detection of possible persistently infected (PI) animals was performed by Transcription technique reverse followed by Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). The experimental plot consisted of 179 animals of dairy breeds and crosses, divided into five lots by age and weight, not fixed, subject to management by the method of Pastoreio Racional Voisin (PRV). The initial prevalence rates for LEB and DVB were 3.91% and 51.98% respectively. Incidence rates were calculated for the two conditions resulting in LEB 21.51% and 11.77% for DVB. It was found that out of 39 animals positive for LEB the end of the trial, ten presented LP, or a prevalence rate of 25.64%, which is considered high, increasing the risk of virus transmission to other animals within the center recreates. The dynamics of transmission of DVB was relatively slow, justified by the absence of PI animals in the experimental plot. Intensified management of heifers in the center of growing increases the risk of spread of these diseases. As ways to control these diseases in the herd, suggested the identification of positive LEB animal management strategies and utensils separation of positive and negative animals. As for DVB as vaccination of heifers in the reproductive age persistently infected animals in the herd were not found to be recommended, reducing the risk of occurrence of animal IP in production units after the return of animals and avoiding reproductive problems.

**Key words:** central dairy heifer; Bovine viral diarrhoea; transmission dynamics; incidence; Bovine Leukosis.

## Introdução

O correto manejo de bovinos leiteiros é fundamental para a máxima produtividade do rebanho, começando no manejo da fêmea gestante até a puberdade da novilha e a primeira parição. Muitos fatores influenciam na produção leiteira, tais como: ambiente, raça, sanidade, reprodução e alimentação. A etapa de recria de novilhas tem início logo após o desmame e se estende até a puberdade e cobertura do animal, é uma fase muitas despesas e exige atenção redobrada na alimentação, pois, nesta fase, ocorre o crescimento da fêmea e o desenvolvimento da glândula mamária que encontra-se mais sensível a variações alimentares. Também durante todo o desenvolvimento da novilha é de fundamental importância a sanidade, fazendo-se necessário estipular um programa de manejo sanitário que inclui vacinações obrigatórias contra brucelose e febre aftosa como também vacinas reprodutivas, contra raiva e clostridioses, associadas a medicamentos antiparasitários (SCHAFHÄUSER JR., 2006; SANTOS *et al.*, 2002; CAMPOS; LIZIERE, 2005).

Ao produtor, esta fase é vista como muito onerosa já que os animais não estão em produção, ocupam área e força de trabalho importantes que terminam por levar a desatenção e falhas nesta etapa. Os campos de recria consistem em campos especializados para a criação de novilhas visando manejo especializado com nutrição e sanidade adequados, podendo liberar 30 a 40% da área de campo da propriedade para a alimentação de animais em produção (FERRARI *et al.*, 2014). No entanto, as questões sanitárias se apresentam como dificuldade já que há concentração de um grande número de animais, com origens e história sanitárias variadas, e que devem ser devolvidos ao seu proprietário ou comercializados com segurança sanitária.

O manejo racional de pastagens é um dos fatores de maior relevância para a produção animal sustentável: é necessário que seja o mais eficaz, para a proteção da pastagem e, ao mesmo tempo, resulte em bom desempenho animal (VOISIN, 1974). O Pastoreio Racional Voisin (PRV) compreende uma tecnologia eficiente, moderna e econômica para a produção de leite e carne a base de pasto. Nesse sistema há uma maior produção por hectare, um menor custo por unidade do produto, incremento da fertilidade do solo, através dos dejetos dos animais, proteção ao meio ambiente, produção de alimentos

sem o uso de agrotóxicos ou insumos de síntese industrial, respeito ao bem-estar-animal e maior lucratividade (CAZALE, 2006). Ao mesmo tempo, a alta taxa de lotação diária das áreas de pastagens pode representar facilidade na transmissão de enfermidades.

A Diarréia Viral Bovina (DVB) destaca-se no cenário das doenças virais de importância veterinária devido às grandes perdas econômicas. A enfermidade manifesta-se como uma gama de sinais clínicos que vão de distúrbios digestivos, respiratórios e reprodutivos (FLORES; SCHUCH, 2007; FLORES, 2007). A transmissão do vírus da DVB (vDVB) pode ocorrer por contato direto ou indireto com secreções e excreções de animais infectados em fase de viremia, através de saliva, secreções nasais e oculares, urina, fezes, sêmen, sangue e fômites (BLOOD; RADOSTITS, 2002; VOGEL et al., 2001).

A introdução do vírus em um rebanho até então livre, ocorre pela aquisição de animais sem manifestação clínica da enfermidade, porém, com viremia eliminando vírus por secreções e excreções. A viremia dura pouco tempo, cerca de dez a 15 dias. Outra forma de transmissão - talvez a mais significativa - ocorre pela introdução de animais Persistentemente Infectados (PI), originados fêmeas prenhas infectadas entre 40º e 120º dias de gestação, em que o vírus penetra a barreira transplacentária infectando o feto. Neste período, o sistema imunológico do feto encontra-se imaturo e reconhece as proteínas virais como próprias, dando origem a animais imunotolerantes (FLORES, 2007; ARENHART et al., 2009).

O teste de virusneutralização é o teste padrão para titulação de anticorpos, muito utilizado em triagem de rebanhos e baseia-se na pesquisa e mensuração dos anticorpos contra vDVB no soro sanguíneo (FINO et al., 2012; VIDOR et al., 1995). Animais PI não são detectados nas principais técnicas de diagnóstico somente em técnicas de biologia molecular como a Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR).

Doença infectocontagiosa de caráter crônico e evolução lenta, a Leucose Enzoótica Bovina (LEB) na maioria das vezes é silenciosa, podendo ser assintomática (FLORES, 2007) ou podendo manifestar-se na forma clínica de linfocitose persistente (LP), uma forma benigna da doença na qual ocorre um aumento no número de linfócitos na corrente sanguínea e acomete cerca de 30% dos animais soropositivos. Já a forma de linfossarcomas, manifestação maligna da doença, caracteriza-se pelo desenvolvimento de tumores de origem linfóide, podendo afetar diversos órgãos, sendo mais frequente em animais acima de quatro anos acometendo menos de 5% dos animais (FLORES, 2007; BLOOD; RADOSTITS, 2002; BRAGA et al., 1997).

O vírus da Leucose Bovina (VLB) permanece latente nos linfócitos B do hospedeiro e por este motivo está presente no sangue, leite e em massas tumorais do animal infectado (CORREA; CORREA, 1992; BLOOD; RADOSTITS, 2002). Os mesmos autores relatam que naturalmente a transmissão do vírus ocorre principalmente com a introdução de um animal infectado ao rebanho e se dissemina através de contato de animais sadios com células sanguíneas infectadas com VLB. Mammerickx et al., (1987), relatam que a possibilidade de transmissão do vírus de um animal infectado manifestando linfocitose persistente (LP) é relativamente maior do que um animal infectado mas sem esta condição. Infecções intra-uterinas e transmissão pelo colostro são pouco frequentes (FERRER; PIPER, 1981), insetos hematófagos principalmente os tabanídeos tem papel importante como vetores da infecção dentro do rebanho principalmente nos meses de verão e em animais criados em sistema intensivo ou semi-intensivo (MANET et al., 1989).

O teste de Imunodifusão em Ágar Gel (IDGA) é o mais difundido e utilizado em programas de controle, sendo considerado o teste de eleição para pesquisas epidemiológicas de LEB (FLORES et

al., 1989; FLORES,2007). Não há tratamento ou vacina preventiva para o combate da doença. Por este motivo são imprescindíveis métodos de controle e prevenção da doença (BRAGA et al., 1997; 1998). Estratégias de controle variam de acordo com o tamanho e do investimento genético no rebanho e sistema de criação, sendo elas: 1ª) teste e eliminação de animais positivos, sendo esta a maneira mais rápida e eficiente de erradicar a doença da propriedade; 2ª) separação do rebanho: dividindo-o em dois grupos: um soropositivo e outro soro negativo, organizando em campos separados e mantendo estratégias de manejo para evitar a transmissão para animais sadios e 3ª) manejo de um rebanho único: identificando animais positivos e negativos com práticas de manejo separadas e eliminação gradual de animais positivos (BRAGA et al., 1998).

Levando em consideração a relevância destas doenças na sanidade animal e seu impacto na transmissão entre os animais dentro do centro de recria, o objetivo deste estudo foi determinar a prevalência e incidência de Leucose Enzoótica Bovina e Diarréia Viral Bovina relacionando a dinâmica de transmissão destas doenças para animais submetidos ao sistema de Pastoreio Racional Voisin num centro de recria de novilhas.

## **Materiais e métodos**

### **Seleção dos Animais**

Foram selecionadas 179 novilhas das raças: Jersey, Holandesa e cruzas, tomando como critério os últimos lotes que entraram no centro de recria (CR), entre os meses de fevereiro e abril de 2014. O experimento iniciou-se em junho de 2014, portanto os animais já estavam no local havia dois a quatro meses. Os animais do CR eram separados em cinco lotes como segue e os animais introduzidos eram adicionados a um desses grupos: berçário (90 a 150 kg), média menor (160 a 200 kg), média maior (200 a 250 kg), Inseminação Artificial (acima de 260 kg) e Enfermaria (animais com manifestações clínicas de enfermidades). No início do experimento, o centro de recria contava com um total de 564 animais. Os animais eram identificados com brincos.

### **Pesagem dos animais**

Durante o experimento, foram realizadas três pesagens em balança mecânica, onde todas as novilhas foram pesadas individualmente, a cada dois meses, seus pesos foram registrados em uma planilha para posterior análise de ganho de peso sob influência das enfermidades.

### **Coleta sanguínea**

Foi realizada a coleta sanguínea através de punção da veia coccígea em sistema de coleta a vácuo em tubos com 10mL de capacidade como descrito por Dias e Samara (2003). Após a coleta os tubos foram devidamente identificados, postos inclinados em temperatura ambiente até a retração do coágulo e posteriormente transportados em caixa isotérmica até o Laboratório de Doenças Infecciosas da Faculdade de Veterinária - UFPEL.

### **Preparo da Amostra**

No laboratório os tubos foram postos em centrífuga à 3.000 rpm durante 10 minutos para a separação do soro técnica descrita por Quincozes et al., (2007) modificada. Foi extraído 1,5mL de soro e colocado em frasco tipo Eppendorf®, identificados e armazenados à -20°C, para posterior análise sorológica e presença de anticorpos contra os vírus da Diarréia Viral Bovina e vírus da Leucose Enzoótica Bovina.



### **Sorologia para LEB - Teste de Imunodifusão em Agar Gel (IDGA)**

O teste foi realizado utilizando o Kit comercial da TECPAR® modificado segundo Braga (1996). As placas foram incubadas em câmara úmida à 25°C durante 72 horas. Após o período de incubação, foi realizada a leitura das placas com auxílio de uma caixa de luz indireta. Os resultados positivos são observados quando forma-se uma linha de precipitação com identidade entre a amostra de campo e o soro controle.

### **Análise Hematológica - Pesquisa de Linfocitose Persistente (LP)**

Esta análise foi realizada nos animais que apresentaram diagnóstico positivo para LEB. Foi realizada coleta de sangue total em tubos com EDTA, após a coleta as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica, refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica (LPCVet- UFPEL), para realização de hemograma e leucograma. Com auxílio de um Analisador Hematológico Veterinário - Sysmex® modelo pocH-100iv Diff foi realizada a Contagem de leucócitos e um esfregaço em lâmina foi corado para a realização de contagem diferencial de leucócitos através de leitura realizada no microscópio conforme descrito por Ceron et al. (2014). Para confirmação da linfocitose persistente, uma segunda amostra de sangue dos animais com linfocitose à primeira coleta foi obtida após intervalo de 60 dias (FERREIRA et al.,1982; FLORES et al., 1990).

### **Sorologia para DVB - Teste de Virusneutralização(VN)**

As 179 amostras foram inativadas em banho-maria 56°C durante 30 minutos para posterior realização da prova de Virusneutralização conforme a técnica descrita por Fischer et al.(2007), utilizando microplacas de 96 poços KAZVI®. Foi feita a diluição seriada de base 2 do soro a testar e colocada o mesmo volume da cepa citopática padrão NADL contendo 100DICC<sub>50</sub>/25µl (doses infectantes para 50% de cultivos celulares), e logo foram incubadas por 1h a 37°C. 50µl de células de rim bovino - *Madin Darby Bovine Kidney* (MDBK) mantidas em MEM foram utilizadas como indicador. As placas foram incubadas em estufas com atmosfera modificada 5% de CO<sub>2</sub> à 37°C e a leitura das placas foi realizada após 72 horas em microscópio de luz invertida (VIDOR et al.,1995). A interpretação do teste de virusneutralização é expressa como a maior diluição capaz de neutralizar o vírus e a sua recíproca define a titulação de anticorpos.

### **Pesquisa de animais Persistentemente Infectados (PI)**

Amostras de soro de todos os animais foram encaminhadas ao Laboratório de Virologia da Faculdade de Veterinária de Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, para a identificação de animais PI para DVB. A técnica de RT-PCR foi utilizada em pools de soro (PILZ et al.,2007; CORBELLINI,2011). As amostras de soro dos 179 animais foram divididas em 4 “pools” com aproximadamente 50 amostras, com 20µl de cada amostra. A extração e purificação do RNA foi realizada utilizando o reagente TRIzol LS® (INVITROGEN, USA), e após, utilizando a enzima Super Script™ III Reverse Transcriptase (INVITROGEN,USA) e Platinum®Taq DNA Polymerase, foi realizada a transcrição. As reações foram padronizadas para um volume final de 20µl para cada pool. A amplificação foi realizada de acordo com Corbellini (2011). Após foi submetido a eletroforese em gel de Agarose 1% e 1µl de corante blue-green acrescentando 5µl de amostra, o marcador utilizado foi GeneRuler™, sendo imerso em solução tampão de Tris-Acetato-EDTA-1x (TAE), a 80volts por 40 minutos. Os resultados foram vistos com auxílio de iluminação ultravioleta no aparelho GH Logic 2200 Imaging Sisten- KODAK®.

### **Análise Estatística**

Foi realizada análise descritiva dos dados de incidência. Utilizando o programa estatístico Statistix® 9.0 foi realizadas a comparação de ganho de peso entre os grupos soropositivos e soronegativos para Leucose Enzoótica Bovina e animais soroconvertidos e soronegativos para Diarréia Viral bovina pelo método da análise de variância do ganho de peso de cada unidade experimental que foi o animal.

## **Resultados e Discussão**

### ***Leucose Enzoótica Bovina:***

Das 179 novilhas componentes deste experimento, sete foram reagentes ao primeiro teste de IDGA resultando em uma taxa de prevalência de 3,91%, baixa taxa para esta enfermidade quando comparadas aos valores encontrados por Moraes et al.(1996) que foram de 12% de mais de 39.000 amostras de 172 municípios do Estado. Braga (1996) encontrou valores próximos aos deste experimento encontrando 18,7% durante 18 meses de experimento em oito propriedades leiteiras do município de Pelotas. Como todos os animais pertenciam a faixa etária de oito a 21 meses de idade esta prevalência foi semelhante a encontrada por Moraes et al.(1996) que encontraram uma taxa de prevalência de 5,5,% de animais entre um e dois anos, e ainda ressalta que estes níveis se elevam com o avançar da idade, sendo mais frequentes à medida que animais jovens entram em contato com animais adultos infectados.

A incidência de Leucose Enzoótica Bovina durante o experimento foi de 21,51%, valores superiores aos de Braga (1996), de 9% em bovinos leiteiros. Separadamente, foram calculadas as taxas de incidência entre os lotes resultando em 11,25% no lote berçário, 23,52% no lote média menor e 12,5% no lote média maior, nos lotes de inseminação artificial e enfermaria não houve incidência de novos casos. No intervalo entre a segunda e a terceira coleta as taxas de incidência foram reduzidas para todos os lotes resultando em 8,45% para o lote berçário, 12,82% para o lote média menor e 3,57% lote media maior (Tabela 1).

Os casos novos encontrados entre as coletas podem ser de infecções recentes que soroconverteram no intervalo entre as coletas, período que leva o sistema imunológico a mobilizar anticorpos contra o Virus da Leucose Bovina (VLB) em níveis detectáveis na técnica de IDGA. Mammerickx et al.,(1987) relata que o sistema imunológico de um bovino infectado com VLB necessita de 21 a 49 dias para soroconverter, apresentando anticorpos detectáveis em sorologia o que também é defendido por Pelzer e Sprecher (1993). Os animais que compõe o lote experimental foram vacinados para febre aftosa no final do mês de maio, a primeira coleta foi realizada no final do mês de junho, intervalo de tempo no qual poucos animais soroconverteram a infecção, já nas taxas de incidência da segunda para a terceira coleta sugerem que os animais que soroconverteram neste período já haviam se infectado, porém, não apresentaram anticorpos suficientes para serem detectáveis no teste de IDGA.

Após a detecção dos animais positivos na sorologia, foi realizada coleta de sangue total para a detecção de animais com linfocitose através de hemograma, onde 14 animais apresentaram leucocitose por linfocitose e 25 animais não apresentaram esta condição sendo classificadas como Alinfocitóticas (AL). Flores et al., (1990) relataram que a linfocitose persistente pode se manifestar tardiamente, por este motivo as Chaves Leucocitárias não são mais consideradas uma forma segura e definitiva de diagnóstico para LEB. A linfocitose persistente foi confirmada após 60 dias, por meio de uma nova coleta de sangue total, onde apenas 10 animais seguiram apresentando esta manifestação clínica (Tabela 2). Foi encontrada uma prevalência de 25,64% de animais com linfocitose persistente, o que discorda de Azedo et al., (2008) relataram que somente 7,07% dos animais positivos em sorologia pelo teste de IDGA manifestam a forma clínica de linfocitose persistente (LP). Spinola et al., (2013) e

Azedo et al., (2011) ressaltam que há uma interferência da linfocitose persistente no sistema imune do animal, onde alterações funcionais em linfócitos e monócitos, reduzem a atividade fagocítica em animais que apresentam esta condição, podendo predispor o animal a outras infecções.

Os altos índices de infecção dos animais estudados sugerem que práticas de manejo do centro de recria principalmente nos lotes de berçário e média menor a transmissão do vírus tenha acontecido de forma iatrogênica com a intervenção do ser humano por meio de vacinações, vermifugações e coleta de fezes realizadas durante o período do experimento. Divers et al., (1995) e Kohara et al., (2006) relataram que manipulações como palpação retal para diagnóstico de gestação utilizando a mesma luva de palpação também é um meio eficiente de transmissão que pode aumentar as chances do animais do lote de média maior e inseminação artificial. Práticas de manejo envolvendo vacinações, descorna, tatuagem, aplicação de brincos, aplicação de medicamentos via intramuscular ou endovenosa com os mesmos materiais são a forma mais comum de transmissão do vírus de animais infetados para animais sadios (MILLER et al., 1985; DIGIACOMO et al., 1985; HEALD et al., 1992).

### ***Diarréia Viral Bovina***

No início do experimento foi realizado o teste de RT-PCR a partir do soro de todos os animais coletados no qual constatou-se resultado negativo para vDVB, indicando que não haviam animais com viremia para Diarréia Viral Bovina (DVB) e, portanto, ausência de animais persistentemente infectados (PI). Ressalta-se que os 179 animais que fazem parte do experimento são apenas uma amostra dentro do rebanho do centro de recria, onde outras novilhas que pertencem aos mesmos lotes poderiam apresentar infecção viral na forma de PI ou em fase aguda de viremia transmitindo vírus. Dois soros foram perdidos e os animais excluídos desta fase do trabalho.

Das 177 amostras analisadas através do teste de Virusneutralização (VN), 92 fêmeas foram positivas, resultando em uma taxa de prevalência de 51,98% (Tabela 3). Dados epidemiológicos semelhantes aos encontrados por Noronha et al., (2003) de 56% de amostras positivas de animais entre um e quatro anos de idade. Dados referentes a prevalências encontradas em trabalhos anteriores realizados no Estado do Rio Grande do Sul revelam uma prevalência de 39,33% (Flores et al., 2005 *apud* Weiblen, 2004); resultados superiores foram descritos por Quincozes et al., (2007) para rebanhos da região Sul do Estado foi de 66,32%. Taxas de prevalência tendem a aumentar conforme a idade do animal avança devido ao maior tempo de exposição dos animais com agentes (CHAVES et al., 2010; CASTRO et al., 1993).

Baseando-se na informação de que as novilhas pertencentes ao lote experimental não foram vacinadas para BVDV e BoHV-1, o que sugere que a titulação de anticorpos encontrada no teste de Virusneutralização é devido a circulação viral destes agentes no centro de recria.

Em casos de infecção aguda pelo vírus da Diarréia Viral Bovina os animais apresentam anticorpos a partir de dez a 14 dias após a infecção, porém os níveis de titulação sérica chegam ao seu ápice entre oito e dez semanas (FINO et al., 2012). Em nosso estudo, dez animais soroconverteram a infecção no intervalo entre o primeiro e o segundo teste de virusneutralização, resultando em uma taxa de incidência de 11,76%. Esta baixa taxa é um indicativo de que há uma circulação viral com dinâmica de transmissão lenta, que pode ser justificada pela ausência de animais PI no lote estudado. Quando comparadas as taxas de incidência quanto a faixas etárias onde para animais entre seis e 12 meses foi de 4,65%, já para novilhas maiores que 12 meses a incidência foi e 19,05%. Por serem animais jovens e o lote experimental fazer parte de um grupo maior de novilhas não podemos afirmar que não existam animais PI fora do lote experimental convivendo com as novilhas.

Arenhart et al., (2009) simularam experimentalmente situações de criação em manejo semi-intensivo e extensivo com a presença de animais persistentemente infectados no rebanho comprovando que animais nestas condições eliminam altas cargas virais devido a viremia constante, em titulações em níveis médios a altos. A incidência em animais em condições de manejo semi-intensiva a disseminação viral é rápida e chega a 100% em 30 dias. Já em condições de manejo extensivo, a dinâmica de transmissão é menor porém o contato direto com animais PI leva a uma incidência de 77%. Em nosso estudo, pela baixa incidência encontrada, nos leva a crer que não há animais PI dentro do centro de recria e que a transmissão ocorreu na propriedade de origem e não dentro do centro.

Durante o experimento não houve diferenças significativas quanto ao ganho de peso entre os animais sorologicamente positivos para Leucose Enzoótica Bovina e negativos (Tabela 4); assim como para os animais negativos e soroconvertidos para Diarréia Viral Bovina (Tabela 5).

O estabelecimento de estratégias de manejo como quarentena e diagnóstico precoce destas enfermidades, a identificação de novilhas positivas para Leucose Enzoótica Bovina com brincos em cor diferente das soronegativas e utilização de utensílios como agulhas e instrumentais cirúrgicos separados para estes animais seriam uma alternativa para evitar a infecção de outros animais. Quanto a Diarréia Viral Bovina a vacinação contra doenças reprodutivas deve ser realizada nas semanas que antecedem a inseminação artificial para evitar problemas reprodutivos e a infecção fetal evitando o aparecimento de animais persistentemente infectados.

### **Conclusão**

Os resultados deste estudo sugerem que a intensificação do manejo das novilhas no centro de recria, sem o devido cuidado no manejo, aumentaram os riscos de transmissão de Leucose Enzoótica Bovina, enquanto que para a Diarréia viral bovina, a ausência de animais persistentemente infetados manteve a transmissão dentro de um padrão considerado baixo, indicado o papel do centro de recria como possível fonte de disseminação de doenças e que critérios sanitários mais rigorosos para controlar a disseminação destas e outras enfermidades entre os animais que já pertencem ao centro.

### **Referencias Bibliográficas**

ARENHART,S.; BAUEMANN,F.V.; OLIVEIRA,S.A.M.; WEIBLEN,R.; FLORES,E.F. Excreção e transmissão do vírus da diarréia viral bovina por bezerros persistentemente infectados. Pesquisa Veterinária Brasileira. v. 29. n. 9. p. 736-742. 2009.

AZEDO,M.R.; MASSOCO,C.O.; SANCHES,B.G.S.; SOUZA,F.N.S.; BATISTA,C.F.; SAKAI,M.; SÁ-ROCHA,L.C.; KFOURY Jr.,J.R.; STRICAGNOLO,C.R.; BENESI,F.J.; DELLA LIBERA,A.M.M.P. Influencia da leucose enzoótica bovina na função fagocítica de leucócitos circulantes em animais manifestando linfocitose persistente. Brazilian Journal Research Animal Science. v. 45. n. 5. p. 390-397. 2008.

AZEDO,M.R.; BLAGITZ,M.G.; SOUZA,F.N.; BENESI,F.J.; DELLA LIBERA,A.M.M.P. Avaliação funcional de monócitos infectados de bovinos naturalmente infetados pelo vírus da leucose bovina. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v. 63, n. 5. p. 1331-1340. 2011.

BLOOD,D.C.; RADOSTITS,O.M. Clínica Veterinária- Um Tratado e doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1737p. 2002.

BRAGA,F.M. Métodos de Controle da Leucose Enzoótica Bovina. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas – UFPEL. Pelotas. 99p. 1996.

- BRAGA,F.M.; VAN DER LANN,C.W.; HALFEN,D.C.; VIDOR,T,. Avaliação de métodos de controle da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina. *Ciencia Rural*. v. 27, n.4. p. 635-640. 1997.
- BRAGA,F.M; VAN DER LANN,C.W.; SCHUCH,L.F.D.; HALFEN,D.C. Infecção pelo vírus da Leucose Enzoótica Bovina (BLV). *Ciencia Rural*. v.2 8, n.1. p.163-172. 1998.
- CAMPOS,O.F.; LIZIERI,R.S. Criação de bezerras em rebanhos leiteiros. *Circular Técnica Embrapa Gado de leite*. n. 38.p.1-8. 2005.
- CASTRO,R.S.; MELO,E.H.; ABREU,S.R.O.; MUNIZ,A.M..M; ALBUQUERQUE,A.P.S. Anticorpos neutralizantes contra Pestivirus em soros bovinos do Estado de Pernambuco. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 20.n.11. p. 1327-1331. 1993.
- CAZALE,J.D. Avaliação interdisciplinar da evolução do sistema de produção de leite em Pastoreio Racional Voisin – PRV no Colégio Agrícola Camburiú – CAC- Estudo de Caso. *Dissertação (Mestrado) – Programa de mestrado em Agrossistemas, Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis*. 112p. 2006.
- CERON,C.O.; MEINERS,A.R.; MARTINUZZI,P.A.; RIBEIRO,C.L.G.; FRANZ,H.C. Quimioterapia: o clínico veterinário pode esperar como alterações hematológicas no paciente oncológico. *Anais do 41º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*. Gramado. 2014.
- CHAVES,N.P.;BEZERRA,D.C.; SOUSA,V.E.; SANTOS,H.P.;PEREIRA,H.M. Frequencia de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região amazônica Maranhense. *Ciência Rural*. v. 40. p . 1448-1451. 2010.
- CORBELLINI,A.O. Estabelecimento de uma reação em cadeia da polimerase em tempo real para a detecção de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina. *Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre*. 75p. 2011.
- CORREA,W.M.; CORREA,C.N.M. *Enfermidades Infecciosas do Mamíferos domésticos*. 2ªed. Rio de Janeiro: Medsi.843p. 1992.
- DIAS,F.C.; SAMARA,S.I.; Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. v.40. p.161-168. 2003.
- DIGIACOMO,R.L.; DARLINGTON,R.L.; EVERMANN,J.F. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. v.49, nº3. p.340-342. 1985.
- DIVERS,T.J; BARTHOLOMEW,R.C.; GALLIGAN,C.; LITTLE,C. Evidence for transmission of bovine leukemia virus by rectal palpation in a commercial dairy herd. *Preventive Veterinary Medicine*. v.23. p.133-141. 1995.
- FERRARI,L.; CAMARA,E.S.P.; SLAVIERO,B.; CAPPELLI,S.; DALBERTO,E.; RABER,H.R.; DEBORTOLI,E.C. Terceirização da cria e recria de novilhas leiteiras no nordeste do Rio Grande do Sul. *Anais do Congresso Brasileiro de Zootecnia*. 2014.
- FERREIRA,M.I.;ROMERO,C.H.;ROWE,C.A. Contagem linfocitária e anticorpos contra o vírus da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos do Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v. 2. n. 3. p. 99-104. 1982.

- FERRER,J.F.; PIPER,C.E. Role of Colostrum and Milk in the natural Transmission of the bovine Leukemia virus. *Cancer Research*. v. 41. p. 4906-4909. 1981.
- FINO, T.C.M.; MELO,C.B.; RAMOS,A.F.; LEITE,R.C. Diarréia Viral Bovina(BVD) – Uma Breve Revisão. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. v. 34, n. 2. p. 131-140. 2012.
- FISCHER, G.; CONCEIÇÃO,F.R.; LEITE,F.P.L.; DUMMER,L.A.; VARGAS,G.D.; HÜBNER,S.O.; DELLAGOSTIN,O.A.; PAULINO,N.; PAULINO,A.S.;VIDOR,T. Immunomodulation produced by a Green propolis extract and cellular responses of mice immunized with SuHV-1. *Vaccine*. v. 25. n. 7. p. 1250-1256. 2007.
- FLORES,E.F.; WEIBLEN,R.; PEREIRA,N.M.; PORTOLANN,J.A.B.; SANCHEZ,C.M.; SOARES,M.R.L. Utilização da Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA) no Controle da Infecção pelo Vírus da Leucose Bovina (VBL). *Revista Centro de Ciências Rurais*. v. 9, n.1-2. p. 169-176. 1989.
- FLORES,E.F.; WEIBLEIN,R.; LOPES,S.T.; MOREIRA,T.L. Eficácia da Chave Linfocitária de Bendixen em relação à Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) no diagnóstico da infecção pelo vírus da Leucose Bovina (BLV).*Revista Centro de Ciências Rurais*. v. 20. n. 3-4. p. 309-314. 1990.
- FLORES,E.F.; WEIBLEN,R.; VOGEL,F.S.F.; ROEHE,P.M.; ALFIERI,A.A.; PITUCO,E.M. A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil – Histórico, situação atual e perspectivas. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. v. 25. n. 3. p. 125-134. 2005.
- FLORES,E.F.;SCHUCH,L.F.D. Diarréia Viral Bovina. In: RIET-CORRÊA,F.; SCHILD,A.L.;LEMONS,R.A.A.; BORGES,J.R.J. Doenças de ruminantes e eqüídeos. Santa Maria: Paloti. 3ªed. p. 81-93. 2007.
- FLORES,E.F. *Virologia Veterinária*. Ed. Da UFSM. Santa Maria. 888p. 2007.
- HEALD.M.T.S; WALTNER-TOEWS,D.; JACOBS,R.M.; McNAB,W.B. The prevalence of anti-bovine leukemia virus antibodies in dairy cows and association with farm management practices, production and culling in Ontario. *Preventive Veterinary Medicine*. v.14. p.45-55. 1992.
- HOUE,H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Veterinary Microbiology*. v. 64. p. 89-107. 1999.
- KOHARA,J.; KONNAI,S.; ONUMA,M. Experimental bovine transmission of Bovine Leukemia vírus in cattle via rectal palpation. *Japanese Journal of Veterinary*. v. 54. n. 1. p. 25-30. 2005.
- MAMMERICKX,M.; PORTETELLE,D.;CLERCQ,,K; BURNY,A. Experimental transmission enzootic bovine leukosis to cattle, sheep and goats infectious doses of blood and incubation period of the diseases. *Leukemia Research*. v.11,n. 4. p. 353-358. 1987.
- MANET,G.; GUILBERT,X.; ROUX,A.;VUILLAUME,A.; PARODI,A.L. Nature Mode of Horizontal Transmission of Bovine Leukemia Virus (BLV): the potential role of Tabanids (*Tabanus spp.*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v. 22. p. 255-263. 1989.
- MILLER,L.D.; MILLER,J.M.; VAN DER MAATEN,M.J.; SCHMERR,M.J. Blood from bovine leukemia virus-infected cattle: antigen production correlated with infectivity. *American Journal of Veterinary Research* . v. 46, n.4. p. 808-810. 1985.

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

NORONHA,,R.P.; CAMPOS,G.S.; SARDI,S.I. Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em bovinos jovens. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. v. 40. p. 424-430. 2003.

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

PILZ,D.; ALFIERI,A.F.; LUNARDI,M.; ALFIERI,A.A. RT-PCR em pools sanguíneos para diagnóstico de infecção aguda e de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 59, n. 1. p. 1-7. 2007

QUINCOZES, C.G.; FISCHER,G.; HÜBNER,S.O.; VARGAS,G.D'; VIDOR,T.; BROD,C.S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 28, n. 2. p. 269-276. 2007.

SANTOS,G.T.; DAMASCENO,J.C.; MASSUDA,E.M.; CAVALIERI,F.L.B. importância do manejo e considerações econômicas a criação de bezerras e novilhas. *Anais do II Sul-Leite*. p.239-267. 2002.

SCHAFÄUSER Jr.J. Desenvolvimento da Glandula Mamária durante a recria e a influencia no potencial reprodutivo de fêmeas leiteiras. *Revista FVZA*. v. 13. n. 1. p. 128-148. 2006.

SPINOLA,T.R.; BERTAGNON,H.G.; BATISTA,C.F.; SOUZA,F.N.; AZEDO,M.R.; BLAGTIZ,M.G.; BENESI,F.J.; LIBERA,M.M.P.D. Correlação entre a atipia linfocitária e o perfil imunológico de vacas leiteiras infectadas pelo vírus da leucemia bovina. *Semina: Ciências Agrárias*. v.34, n.1. p.293-300. 2013.

VIDOR,T.; HALFEN,D.C.; LEITE, T.E.; COSWIG,L.T. Herpesvirus Bovino tipo 1: I. Sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. *Ciência Rural*. v.25. n.3. p.421-424. 1995.

VOISIN,A. Produtividade do Pasto. São Paulo. Mestre Jou. 520p. 1974.

VOGEL, F.S.F.; SCHERER,C.F.C.; FLORES,E.F.; WEIBLEN,R.; LIMA,M.; KUNRATH,C.F. Resposta sorológica e avaliação de proteção fetal em ovelhas prenhes vacinadas contra o vírus da Diarreia Viral Bovina (DVB)<sup>1</sup>. *Ciência Rural*. v.31. n.5. p.831-835. 2001.

**TABELA 1: PREVALÊNCIA E INCIDÊNCIA DE LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA ATRAVÉS DE ANÁLISE SOROLÓGICA DE IMUNODIFUSÃO EM ÁGAR GEL (IDGA) EM FÊMEAS ALOJADAS NO CENTRO DE RECRIA/RS**

Lotes	Nº de amostras	de	Prevalência inicial (%)	Incidência coleta (%)	2ª	Incidência 3ª coleta (%)
Berçário	84		4,76	11,25%		8,45%
Média Menor	53		3,77	23,52%		12,82%
Média Maior	32		0	12,5%		3,57%
Inseminação Artificial	8		12,5	0		0
Enfermaria	2		0	0		0
Total	179		3,91	14,53		8,16

\* Taxa de incidência no período experimental com intervalo de 60 dias entre as coletas.

**TABELA 2: PESQUISA DE LINFOCITOSE PERSISTENTE EM ANIMAIS SOROPOSITIVOS PARA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA. CONTAGEM DE LINFÓCITOS SANGUÍNEOS NOS DEZ ANIMAIS COM LINFOCITOSE PERSISTENTE DETECTADOS ENTRE OS ANIMAIS SOROLOGICAMENTE POSITIVOS.**

Identificação Animal	Contagem de linfócitos 1ª coleta (µL)	Contagem de linfócitos 2ª coleta (µL)
350	7.475	11.076
362	9.699	20.292
409	11.284	8.517
438	8.160	7.564
473	7.866	10.360
497	8.100	11.248
518	9.126	11.248
580	10.220	13.148
614	8.940	13.937
637	14.832	17.706

\*Valores padrão para bovinos ( 2.500 a 7.500µL)



**TABELA 3: PREVALÊNCIA E INCIDÊNCIA DE DIARRÉIA VIRAL BOVINA ATRAVÉS DE ANÁLISE SOROLÓGICA DE VIRUSNEUTRALIZAÇÃO EM FÊMEAS ALOJADAS NO CENTRO DE RECRIA/RS.**

Lotes	Nº de amostras	de Prevalência inicial (%)	Incidência* (inc/em risco)
Berçário	83	32,53	3,57 (2/56)
Média Menor	52	67,30	35,29 (6/17)
Média Maior	32	71,87	11,11 (1/9)
Inseminação Artificial	8	62,5	33,33(1/3)
Enfermaria	2	0	0
Total	177	51,98	11,76

\*Taxa de incidência no período experimental com intervalo de 120 dias entre as coletas.

**TABELA 4: RELAÇÃO DO STATUS SOROLÓGICO PARA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA E O GANHO DE PESO DE FÊMEAS BOVINAS ALOJADAS NO CENTRO DE RECRIA/RS**

	Nº de amostras	Ganho de Peso (Kg)
Soropositivos	38	26,93
Soronegativos	139	29,57

\*p>0,05

**TABELA 5: RELAÇÃO DO STATUS SOROLÓGICO PARA DIARRÉIA VIRAL BOVINA E O GANHO DE PESO DE FÊMEAS BOVINAS ALOJADAS NO CENTRO DE RECRIA/RS**

	Nº de amostras	Ganho de Peso (Kg)
Soroconvertidos	10	24,48
Soronegativos	75	25,25

\*p>0,05.

## **5 Considerações Finais**

Neste estudo concluímos que a intensificação do manejo das novilhas no centro de recria, aumentaram os riscos de transmissão de Leucose Enzoótica bovina principalmente pela presença de animais com linfocitose persistente.

A ausência de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina manteve a transmissão em baixos níveis com padrões esperados de circulação viral dentro do centro de recria. Sugeriu-se o estabelecimento de novos critérios sanitários para a entrada de novos animais dentro do centro de recria buscando evitar a disseminação destas e outras enfermidades entre os animais recém chegados e os já pertencentes ao centro de recria.

## Referências

ACAITE, J.; TAMOSIUNAS, V.; LUKAUSKAS, K.; MILIUS, J.; PIESKUS, J. The eradication experience of enzootic bovine leukosis from Lithuania. **Preventive Veterinary Medicine**. v.82. p.83-89. 2007.

ALEXANDRINO, B. **Varição da ocorrência da rinotraqueíte infecciosa bovina pela associação com a diarreia viral bovina e leucose enzoótica bovina**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista. 66p. Jaboticabal. 2008.

ALEXANDRINO, B.; DIAS, F. C.; OLIVEIRA, M. C.; AFFONSO, I. B.; PEREIRA, G. T.; SAMARA, S. I. Herpesvirus bovino associado a Diarreia Viral Bovina e a Leucose Enzoótica Bovina. **ARS Veterinária**. v.17. n.3. p.169-174. 2011.

ALMEIDA, L. L. **Vírus da Diarreia Viral Bovina: detecção e aspectos epidemiológicos**. Tese (Doutorado). Faculdade de Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 97p. Porto Alegre. 2010.

ARENHART, S. **Resposta sorológica e proteção fetal contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em vacas imunizadas com vacina experimental atenuada**. Dissertação (Mestrado): Universidade Federal de Santa Maria. 52p. Santa Maria. 2008.

ARENHART, S. SILVA, L. F.; HENZEL, A.; FERREIRA, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F. Proteção fetal contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em vacas prenhes previamente imunizadas com uma vacina experimental atenuada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.28. n.10. p.461-470. 2008.

ARENHART, S.; BAUEMANN, F. V.; OLIVEIRA, S. A. M.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Excreção e transmissão do vírus da diarreia viral bovina por bezerros persistentemente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.29. n.9. p.736-742. 2009.

AZEDO, M. R.; MASSOCO, C. O.; BLAGITZ, M. G.; SOUZA, F.N.; POGLIANI, F.C.; BENESI, F. J.; DELLA LIBERA, A. M. M. Metabolismo Oxidativo de leucócitos em animais infectados pelo vírus da Leucose Bovina. **Brazilian Journal Research Animal Science**. v.49, n.2. p.93-101. 2012.

AZEDO, M.R.; BLAGITZ, M.G.; SOUZA, F.N.; BENESI, F.J.; DELLA LIBERA, A.M.M.P. Avaliação funcional de monócitos infectados de bovinos naturalmente infectados pelo vírus da leucose bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.63, n.5. p.1331-1340. 2011.

BATISTA FILHO, L.C.F. **Análise leucométrica em bovinos tuberculinizados e sua aplicação no monitoramento da leucose enzoótica em rebanhos do Estado de Pernambuco**. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 61p. 2012.

BIRGEL, E.H.; DÁNGELINO, J.L.; GARCIA, M.; BENESI, F.J.; ZOGNO, M.A. Ocorrência da infecção causada pelo vírus da leucose bovina no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and animal Science**. v.28, n.1. p. 67-73. 1991.

BIRGEL Jr, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H. Valores de Referência do leucograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal Veterinari Research**. v.38, n.3. p.136-141. 2001.

BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. **Clínica Veterinária- Um Tratado e doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1737p. 2002.

BOTTON, S.A.; GIL, L.H.V.G.; SILVA, A.M.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; PITUCO, E.M.; ROEHE, P.M.; MOOJEN, V.; WENDELSTEIN, A.C. Caracterização preliminar de amostras de vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) isoladas no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.18,n.2. p.83-90. 1998.

BRAGA, F.M. **Métodos de Controle da Leucose Enzoótica Bovina**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas – UFPEL. Pelotas. 99p. 1996.

BRAGA, F.M.; VAN DER LANN, C.W.; HALFEN, D.C.; VIDOR, T. Avaliação de métodos de controle da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina. **Ciência Rural**. v.27, n.4. p.635-640. 1997.

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

BRUM, L.P.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; SCHERER, C.F.C.; KREUTZ, L.C.; DÜR, J.W.; QUADROS, V.L.; LIMA, M.; MAZZUTTI, K.C.; PAN, K.A. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em amostras de tanques de leite de rebanhos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v.11. n.1/2. p.84-87. 2004.

BURNY, A.; BRUCK, C.; CLEUTER, Y.; COUEZ, D.; DESCHAMPS, J.; GHYSDEAL, J.; KETTMANN, R.; MAMMERICKX, M.; MARBAIX, G. Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. **The Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. v.52. n.3. p.133-144. 1985.

CAMARGOS, M.F. **Padronização de uma PCR para o Diagnostico de Leucose Enzoótica Bovina e seqüenciamento parcial do gene env**. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 38p. 2001.

CAMARGOS, M.F; OLIVEIRA Jr., A.C.; CRUZ, J.C.M.; LESSA, L.M.; ROCHA, M.A.; STANCEK, D.; PELLEGRIN, A.O.; REIS, J.K.P.; LEITE, R.C. Testes de Diagnóstico para o vírus da Leucemia Bovina. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**. v.12, n.1-3. p.149-150.2005.

CAMPEM, H.V. Epidemiology and Control of BVD in The U.S. **Veterinary Microbiology**. v.142. p.94-98. 2010.

CAMPOS, O.F.; LIZIERI, R.S. Criação de bezerras em rebanhos leiteiros. **Circular Técnica Embrapa Gado de leite**. n.38.p.1-8. 2005.

CANAL, C.W.; HOTZEL, I.; ALMEIDA, L.L.; ROEHE, P.M.; MASUDA, A. Differentiation of classical swine fever virus from ruminant pestiviruses by reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR). **Veterinary Microbiology**. v.48.n.3-4. P.373-379. 1996.

CARVALHO, L.; BENESI, F.J.; BIRGEL Jr., E.H.; BIRGEL, E.H. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Holandesa preto e branca e zebuínos da raça Nelore, criado no pólo regional de Londrina, Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**. V.17, n.1. p.53-57. 1996. Londrina.

CASTRO, R.S.; MELO, E.H.; ABREU, S.R.O.; MUNIZ, A.M..M; ALBUQUERQUE, A.P.S. Anticorpos neutralizantes contra Pestivirus em soros bovinos do Estado de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.20.n.11. p.1327-1331. Nov.1993.

CAVALCANTE, M.I.; BARRETO, S.C.P.; COSTA FILHO, G.A. Sobre a ocorrência da leucose bovina no estado de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.4 p.225-227. 1969.

CAZALE, J.D. **Avaliação interdisciplinar da evolução do sistema de produção de leite em Pastoreio Racional Voisin – PRV no Colégio Agrícola Camburiú – CAC- Estudo de Caso**. Dissertação (Mestrado) – Programa de mestrado em Agrossistemas, Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 112p. 2006.

CHAVES, N.P.; BEZERRA, D.C.; SOUSA, V.E.; SANTOS, H.P.; PEREIRA, H.M. Frequência de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região amazônica Maranhense. **Ciência Rural**. v.40. p.1448-1451. 2010.

CERON, C.O.; MEINERS, A.R.; MARTINUZZI, P.A.; RIBEIRO, C.L.G.; FRANZ, H.C. Quimioterapia: o que clínico veterinário pode esperar como alterações hematológicas no paciente oncológico. **Anais do 41º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. Gramado. 2014.

CORBELLINI, A.O. **Estabelecimento de uma reação em cadeia da polimerase em tempo real para a detecção de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 75p. 2011.

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

CASTAGNA, A.A.; ARONOVICH, M.; RODRIGUES, E. **Pastoreio Racional Voisin: manejo agroecológico de pastagens**. Programa Rio Rural. Niterói. 2008.

DEBACQ, C.; ASQUITH, B.; REICHERT, M.; BURNY, A.; KETTMANN, R.; WILLENS, L. Reduced Cell Turnover in Bovine Leukemia Virus-Infected, Persistently Lymphocytotic Cattle. **Journal of Virology**. v.77. n.24. p.13073-13083. 2003.

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

DELLA LIBERA, A.M.M.P.; BLAGITZ, M.G.; BATISTA, C.F.; LATORRE, A.O.; STRICAGNOLO, C.R.; SOUZA, F.N. **Semina: Ciências Agrárias**. v.33, n.4. p.1487-1404. 2012.

DELGADO, I.; ALFONSO, A.; MARTINEZ, N.; ABELEDO, M.A.; RODRIGUEZ, M.; BARRERA, M. Presencia de anticuerpos al virus de La leucosis bovina em rebaños pertenecientes a lãs provincias occidentales y centrales de Cuba. **Revista de Salud Animal**. v.31.n.1. p.24-28. 2009.

DEQUIEDT, F.; CANTOR, G.H.; HAMILTON, V.T.; PRITCHARD, S.M.; DAVIS, W.C.; KERKHOF, P.; BURNY, A.; KETTMANN, R.; WILLENS, L. Bovine leukemia Virus-Induced Persistent Lymphocytosis in Cattle Does Correlate with Increased Ex vivo survival of B Lymphocytes. **Journal of Virology**. v.73.n.2. p.1127-1137. 1999.

DEZEN, S.; OTONEL, R.A.A.; ALFIERI, A.F.; LUNARDI, M.; ALFIERI, A.A. Perfil da Infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em um rebanho bovino leiteiro de alta produção e com programa de vacinação contra o BVDV. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, n.2. p.141-147. 2013.

DIAS, F.C.; MÉDICI, K.G.; ALEXANDRINO, B.; MEDEIROS, A.S.R.; ALFIERI, A.A.; SAMARA, S.I. Ocorrência de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina em rebanhos bovinos nos Estados de Minas Gerais e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.30, n.11. p.933-939. 2010.

DIAS, F.C.; SAMARA, S.I.; Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina no soro sanguíneos, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.40. p.161-168. 2003.

DIAS, F.C.; ALEXANDRINO, B.; MEDEIROS, A.S.R.; PEREIRA, G.T.; OLIVEIRA, M.C.; SAMARA, S.I. Comparação dos teste de virusneutralização contra os genótipos 1 e 2 do vírus da diarreia viral bovina (BVDV-1 e BVDV-2) em bovinos de rebanhos naturalmente infectados. **Ciência Rural**. v.40. n.4. p.913-920. 2010.

DIAS, F.C.; SAMARA, S.I. Aspectos relevantes da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV). **Biológico**. V.72. nº.1. p.1-9.. São Paulo. 2010.

DIGIACOMO, R.L.; DARLINGTON, R.L.; EVERMANN, J.F. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. v.49, n.3. p.340-342. 1985.

DIVERS, T.J.; BARTHOLOMEW, R.C.; GALLIGAN, C.; LITTLE, C. Evidence for transmission of bovine leukemia virus by rectal palpation in a commercial dairy herd. **Preventive Veterinary Medicine**. v.23. p.133-141. 1995.

FERRARI, L.; CAMARA, E.S.P.; SLAVIERO, B.; CAPPELLI, S.; DALBERTO, E.; RABER, H.R.; DEBORTOLI, E.C. Terceirização da cria e recria de novilhas leiteiras no nordeste do Rio Grande do Sul. **Anais do Congresso Brasileiro de Zootecnia**. 2014.

FERREIRA, M.I.; ROMERO, C.H.; ROWE, C.A. Contagem linfocitária e anticorpos contra o vírus da leucose enzoótica bovina em rebanhos do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.2.n.3.p.99-104. 1982

FERRER, J.F.; PIPER, C.E. Role of Colostrum and Milk in the natural Transmission of the bovine Leukemia virus. **Cancer Research**. v.41. p.4906-4909. 1981.

FERRER, J.F.; MARSHAK, R.R.; ABT, D.A.; KENYON, S.J. Persistent lymphocytosis in cattle: its cause, nature and relation to lymphosarcoma. **Annales de Recherches Vétérinaires**. v.9 .n.4. p.851-857. 1978.

FINO, T.C.M.; MELO, C.B.; RAMOS, A.F.; LEITE, R.C. Diarréia Viral Bovina (BVD) – Uma Breve Revisão. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v.34, n..2. p.131-140. 2012.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; PEREIRA, N.M.; PORTOLANN, J.A.B.; SANCHEZ, C.M.; SOARES, M.R.L. Utilização da Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA) no Controle da Infecção pelo Vírus da Leucose Bovina (VBL). **Revista Centro de Ciências Rurais**. v.9, n.1-2. p.169-176. Santa Maria .1989.

FLORES, E.F.; WEIBLEIN, R.; LOPES, S.T.; MOREIRA, T.L. Eficácia da Chave Linfocitária de Bendixen em relação à Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) no diagnóstico da infecção pelo vírus da Leucose Bovina (BLV). **Revista Centro de Ciências Rurais**. 20(3-4). p.309-314. 1990.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; GRAÇA, D.L.; PALMEIRA, A.L.B. Estudos histológicos em linfonodos de bovinos positivos ao vírus da leucose bovina. **Revista Ciência Rural**. v.22.n.3. p.313-317.1992.



FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; SCHERER, C.F.C.; GIL, L.H.V.G.; PILATI, C.; DRIEMEIER, D.; MOOJEN, V.; WENDELSTEIN, A.C. Identificação do vírus da diarreia viral bovina tipo 2 (BVDV-2) no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.20, n.2. p.85-89. 2000.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F.S.F.; ROEHE, P.M.; ALFIERI, A.A.; PITUCO, E.M. A infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no Brasil – Histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.25. n.3. p.125-134. 2005.

FLORES, E.F.; SCHUCH, L.F.D. Diarreia Viral Bovina. In: RIET-CORRÊA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. Santa Maria: Paloti. 3ed. p.81-93. 2007.

FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. Ed. Da UFSM. Santa Maria. 888p. 2007.

GOENS, D.S. The evolution of bovine viral diarrhea: a review. **The Canadian Veterinary Journal**. v.43, n.12. p.946-954. 2002.

GONZÁLEZ, E.T.; NORIMINE, J.; VALERA, A.R.; TRAVERÍA, G.; OLIVA, G.A.; ETCHEVERRIGARAY, M.E. A rapid and sensitive diagnosis of bovine leukemia virus infection using the nested shuttle polymerase chain reaction. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.19, n.2. p.63-67. 1999.

GUIMARÃES, P.L.S.; CHAVES, N.S.T.; SILVA, L.A.F.; ACYPRESTE, C.S. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina em bovinos do entorno de Goiânia, em regime de criação semi-extensivo. **Ciência Animal Brasileira**. v.1. n.2. p.137-142. 2000.

HEALD, M.T.S.; WALTNER-TOEWS, D.; JACOBS, R.M.; McNAB, W.B. The prevalence of anti-bovine leukemia virus antibodies in dairy cows and association with farm management practices, production and culling in Ontario. **Preventive Veterinary Medicine**. v.14. p.45-55. 1992.

HOUE, H. Serological analysis of a small herd sample predict presence or absence of animals persistently infected with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in dairy herds. **Research in Veterinary Science**. v.53. p.320-323. 1992.

HOUE, H. Bovine vírus diarrhoea vírus: detection of Danish dairy herds with persistently infected animals by means of a screening test of ten young stock. **Preventive Veterinary Medicine**. v.19. p.241-248. 1994.

HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**. v.64. p.89-107. 1999.

HOUE,H. Economic impact of BVDV infection in dairies. **Biologicals**. v.31. p.137-143. 2003.

KETTMANN,R.; CLEUTER,Y.; MAMMERICKX,M.; MEUNIER-ROTIVAL,M.; BERNARDI,G.; BURNY,A.; CHANTRENNE,H. Genomic integration of bovine leukemia provirus: Comparison of persistent lymphocytosis with lymph node tumor form enzootic bovine leukosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v.77, n.5. p.2577-2581.1980.

KOHARA,J.; KONNAI,S.; ONUMA,M. Experimental bovine transmission of Bovine Leukemia virus in cattle via rectal palpation. **Japanese Journal of Veterinary Research**. v.54,n.1. p.25-30. 2005.

LAGES,S.L.S; VESCHI,J.L.; CASTRO,R.S.; BUZINARO,M.G.; ALEXANDRINO,B. DUTRA,L.S. SAMARA,S.L. Detecção de anticorpos heterólogos contra o vírus da leucose enzoótica bovina em caprinos. **ARS Veterinária**. v.23, n.32. p.089 - 094 . 2007.

LARSON,R.I.; GROTELUESCHEN,D.M.; BROCK,K.V.; HUNSAKER,B.D.; SMITH,R.A.; SPROWLS,R.W.; MACGREGOR,D.S.; LONERAGAN,G.H.; DARGATZ,D.A. Bovine Viral Diarrhea (BVD): Review for beef cattle veterinarians. **The Bovine Practitioner**. v.38, n.1. p.93-102. 2004.

LASSEUZET,M.L.; THUMOND,M.C.; JOHNSON,W.O.; STEVENS,F.;PICANSO,J.P. Effect of brucellosis vaccination and dehorning on transmission of bovine leukemia virus in heifers on a California dairy. **Canadian Journal of Veterinary Research**. v.54.n.1. p.184-189. 1990.

LENZI,A. Fundamentos do Pastoreio Racional Voisin. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.7.n.1.p.82-94. 2012.

LEUZZI Jr.,L.A.; ALFIERI,A.F.; ALFIERI,A.A. Leucose Enzoótica Bovina e Virus da Leucose Bovina. **Semina: Ciências Agrárias**. v.22,n.2. p.211-221. 2001.

LIMA,E.G.; HAYSSAKA,I.M.; PEINADO,M. Inquérito sorológico para leucose bovina em gado importado. **Rev. Pat. Trop**.v. 9 n.3-4 p.137-143.1980.

- LINDBERG,A.; HOUE,H. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance to control. **Preventive Veterinary Medicine**. v.72. p.55-73. 2005.
- MACHADO,L.C.P. Pastoreio Racional Voisin: Tecnologia Agroecológica para o Terceiro Milênio. Editora Expressão Popular. São Paulo. 2010.
- MACHADO,G.; EGOICHEAGA,R.M.F.; HEIN,H.E.; MIRANDA,C.S.; NETO,W.S.; ALMEIDA,L.L.; CANAL,C.W.; STEIN,M.C.; CORBELLINI,L.G. Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) in Dairy Cattle: A Matched Case-Control Study. **Transboundary and Emerging Diseases**. 2014.
- MAINAR-JAIME,R.C.; BERZL-HERRANZ,B.; ARIAS,P.; ROJO-VÁZQUEZ,F.A. Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral-diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. **Preventive Veterinary Medicine**.v.52. p.63-73. 2001.
- MAMMERICKX,M.; PORTETELLE,D.;CLERCQ,,K; BURNY,A. Experimental transmission enzootic bovine leukosis to cattle, sheep and goats infectious doses of blood and incubation period of the diseases. **Leukemia Research**. v.11,n.4. p.353-358. 1987.
- MANET,G.; GUILBERT,X.; ROUX,A.;VUILLAUME,A.; PARODI,A.L. Nature Mode of Horizontal Transmission of Bovine Leukemia Virus (BLV): the potential role of Tabanids (*Tabanus spp.*). **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.22. p.255-263. 1989.
- MARTINS,A.M.C.R.P.F.M.;CATROXO,M.H.B. Vírus Oncogênicos em Animais. **Biológico**. v.71. n.1. p.21-27. 2009.
- MARSHAL,D.J. **Pathogenesis of primary acute bovine viral diarrhoea virus infections in gnotobiotic calves**. Ph.D. Dissertation. Univerisity of Nebraska-Lincoln. 159p. 1993.
- MILLER,L.D.; MILLER,J.M.; VAN DER MAATEN,M.J.; SCHMERR,M.J. Blood from bovine leukemia virus-infected cattle: antigen production correlated with infectivity. **American Journal of Veterinary Research** . v.46, n.4. p.808-810. 1985.
- MOEN,A.D.; SAMPIMON,J.S.O. Indication of transmission of BVDV in the absence of persistently infected (PI) animals. **Preventive Veterinary Medicine**. v.72. p.93-98. 2005.

MOENNIG,V. Pestiviruses: a review. **Veterinary Microbiology**. v.23.p35-54. 1990.

MOLLOY,J.B; DIMMOCK,C.K.; EAVES,F.W.; BRUYERES,A.G.; COWLEY,J.A.; WARD,W.H. Control of bovine leukaemia virus transmission by selective culling of infected cattle on the basis of viral antigen expression in lymphocyte cultures. **Veterinary Microbiology**. v.39.n.3. p.323-333. 1994.

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

NEIVA,A.C.G.R; NEIVA,J.N.M. **Do campus para o campo: tecnologias para a produção de leite**. Fortaleza: Expressão Gráfica Editora Ltda. 2006.

NORONHA,,R.P.; CAMPOS,G.S.; SARDI,S.I. Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em bovinos jovens. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.40. p.424-430. 2003.

OLIVEIRA, A.L.R. **Análise da eficiência e do custo-benefício da RT-PCR em tempo real no diagnostico da diarreia viral bovina**. Dissertação (Mestrado): Instituto Biológico. São Paulo. 115p. 2013.

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

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

PILZ,D.; ALFIERI,A.F.; LUNARDI,M.; ALFIERI,A.A. RT-PCR em pools sanguíneos para diagnostico de infecção aguda e de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.59, n.1. p.1-7. 2007

PILZ,D. ALFIERI,A.F.; ALFIERI,A.A. Comparação de diferente protocolos para a detecção da diarreia viral bovina por RT-PCR em grupos de sangue total e de soro sanguíneo, artificialmente contaminados. **Semina: Ciência Agrárias**. v.26. n.2. p.219-228. 2005.

PINHEIRO Jr, J.W.; SOUZA, M.E.; PORTO, W.J.N.; LIRA, N.S.C.; MOTA, R.A. Epidemiologia da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (LEB). **Ciência Animal Brasileira**. v.14, n.2. p.258-264. 2013.

PIOVESAN, M.; FERNANDES, M.H.V.; CORRÊA, R.A.; PRADO, M.H.J.; CAMARGO, A.D.; RODRIGUES, P.R.C. Anticorpos contra o Herpesvirus Bovino tipo-1, Virus da Diarréia Viral Bovina e Virus da Leucose Enzoótica bovina na região da Campanha do Estado do Rio Grande do Sul. **Science and Animal Health**. v.1, n.1. p.38-49. 2013.

PIPER, C.E.; ABT, D.A.; FERRER, J.F.; MARSHAK, R.R. Seroepidemiological Evidence for Horizontal Transmission of Bovine C-type Virus. **Cancer Research**. v.35. p.2714-2716. 1975.

PIPER, C.E.; FERRER, J.F.; ABT, D.A.; MARSHAK, R.R. Postnatal and prenatal transmission of the bovine leukemia virus under natural conditions. **Journal of the National Cancer Institute**. v.62, n.1. p.165-168. 1981.

QUINCOZES, C.G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S.O.; VARGAS, G.D'; VIDOR, T.; BROD, C.S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**. v.28, n.2. p.269-276. 2007.

RADOSTITS, O.M.; LITTLEJHONS, I.R. New Concepts in the Pathogenesis, Diagnosis, and Control Diseases Caused by the Bovine Viral Diarrhea Virus. **The Canadian Veterinary Journal**. v.29. 1988.

RAMA, G.; MEIKLE, A.; PUENTES, R.; MORATORIO, G.; NICOLINI, P.; PESSINA, P.; FURTADO, A.; PRITSCH, O. Estudio comparativo de três técnicas para La Leucosis Enzoótica Bovina y analisis del efecto de enfermedades concurrentes sobre La fórmula leucocitária. **Veterinaria Montevideo**. v.46, p.16-22. 2010.

RAJÃO, D.; HEINEMANN, M.B.; REIS, J.K.P.; BRAZ, G.F.; HADDAD, J.P.A.; RIBEIRO, A.C.C.L.; LEITE, R.C. Effects of Bovine leukemia virus infection on crossbred and purebred dairy cattle productive performance in Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**. v.35, n.2. p.891-900. 2014.

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

**RIBEIRO,C.P. Avaliação da virusneutralização cruzada frente BVDV-1 e BVDV-2 no diagnóstico da diarreia viral bovina em animais naturalmente infectados.**

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica. Universidade de São Paulo. 80p. São Paulo. 2009.

ROBERTS,D.H.; LUCAS,M.H.; SWALLOW,C. Comparison of the Agar Gel Immunodiffusion Test and ELISA in the detection of Bovine Leukosis Virus Antibody in cattle Persistently infected with Bovine Diarrhoea Virus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. p.22. p.275-281. 1989.

ROCHA,J.F.X; AIRES,A.R.; ROCHA,R.X.; AMARAL,C.; CARPES,J.L.S.; GALVÃO,A.T.; LEAL,M.L. Soroprevalencia do Vírus da leucose Enzoótica Bovina em Rebanhos da Reigião Sudoeste do estado do Paraná, Brasil. **Revista Agrocientífica**. v.1.n.1. p.17-22. 2014.

SAMARA,S.I.; DIAS,F.C.; MOREIRA,S.P.G. Ocorrência da diarreia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerias e nordeste do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.41. p.396-403. 2004.

SANTOS, A.S.; ANTONIASSI,N.A.B.; BOABAID,F.M.; BITENCOURT,A.P.G; ALMEIDA,L.L.; CANAL,C.W.; FLORES,E.F.; DRIEMEIER,D. Aspectos clínicos, patológico, imunohistoquímicos e virológicos de 5 bezerros persistentemente infectados com o vírus da diarreia viral bovina em um propriedade do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.31, n.10. p.885-892. 2011.

SANTOS,G.T.; DAMASCENO,J.C.; MASSUDA,E.M.; CAVALIERI,F.L.B. importância do manejo e considerações econômicas a criação de bezerras e novilhas. *Anais do II Sul-Leite*. p.239-267. 2002.

SCHAFÄUSER Jr.J. Desenvolvimento da Glândula Mamária durante a recria e a influencia no potencial reprodutivo de fêmeas leiteiras. **Revista FVZA**. v.13. n.1. p.128-148. 2006.

SCHERER,C.F.C; FLORES,E.F.; WEIBLEN,R.; KREUTZ,L.C.; DÜR,J.W.; BRUM,L.P.; QUADROS,V.L.; LIMA,M. Técnica rápida de neutralização viral para a detecção de anticorpos contra o vírus da Diarreia Viral Bovina (DVB) no leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.22,n.2. p.45-50. 2002.

SCHMITZ,M. **Caracterização patológica e imunohistoquímica da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 63p. 2005.

SILVA FILHO,A.P.; AFONSO,A.B.; SOUZA,J.C.A.; RIET-CORREA,F.; DANTAS,A.F.; DANTAS,A.C.; COSTA,N.A.; MENDONÇA,C.L. Linfossarcoma em bovinos do Agreste Meridional de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.31. n.7. p.591-597. 2011.

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

SOUZA,F.N.; LATORRE,A.O.; CANICEIRO,B.D.; SAKAI,M.;KIELING,K.; BLAGITZ,M.G.; DELLA LIBERA,A.M.M.P. Proliferação de linfócitos e apoptose de células CD5 de Bovinos infectados pelo vírus da Leucose Enzoótica Bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.63,n.5, p.1124-1130. 2011.

SPINOLA,T.R.; BERTAGNON,H.G.; BATISTA,C.F.; SOUZA,F.N.; AZEDO,M.R.; BLAGITZ,M.G.; BENESI,F.J.; LIBERA,M.M.P.D. Correlação entre a atipia linfocitária e o perfil imunológico de vacas leiteiras infectadas pelo vírus da leucemia bovina. **Semina: Ciências Agrárias**. v.34, n.1. p.293-300. 2013.

TOSTES,R.A. Situação da Leucose no Brasil: Uma Revisão. **Colloquium Agrariae**. v.1,n.1. p.42-50. 2005.

VALLE,P.S;MARTIN,S.W; TREMBLAY,R.; BATEMAN,K. Factors associated with being a bovine-virus diarrhoea seropositive dairy herd in the More and Romsdal Country of Norway. **Preventive Veterinary Medicine**. v.40. p.165-177. 1999.

VIDOR,T. Isolamento e Identificação do Virus da Doença das Mucosas no Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor**. n.2. p .51-58. 1974.

VIDOR,T.; HALFEN,D.C.; LEITE, T.E.; COSWIG,L.T. Herpesvirus Bovino tipo 1: I. Sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. **Ciencia Rural**. v.25. n.3. p.421-424. 1995.

VOISIN,A. **Produtividade do Pasto**. São Paulo. Mestre Jou. 520p. 1974.

VOGEL, F.S.F.; SCHERER,C.F.C.; FLORES,E.F.; WEIBLEN,R.; LIMA,M.; KUNRATH,C.F. Resposta sorologica e avaliação de proteção fetal em ovelhas prenhes vacinadas contra o vírus da Diarréia Viral Bovina (DVB)<sup>1</sup>. **Ciência Rural**. v.31. n.5. p.831-835. 2001.

WITTUN,T.E.; GROTELUESCHEN,D.M.; BROCK,K.V.; KVANISCKA,W.G.; FLOYD,J.G.; KELLING,C.L.; ODDE,K.G. Persistent bovine viral diarrhoea vírus infection in US beef herds. **Preventive Veterinary Medicine**. v.49. p.83-94. 2001.