



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**  
**Programa de Pós-graduação em Saúde Animal**

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DA  
INFECÇÃO PELO VÍRUS DA LEUCEMIA BOVINA NO  
DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

**PABLO ANIBAL PEREIRA MARSIAJ**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
EM SAÚDE ANIMAL**

**BRASÍLIA/DF  
MARÇO/2019**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**  
**Programa de Pós-graduação em Saúde Animal**

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DA  
INFECÇÃO PELO VÍRUS DA LEUCEMIA BOVINA NO  
DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

**PABLO ANIBAL PEREIRA MARSIAJ**

**ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES**

**PUBLICAÇÃO Nº 158/2019**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: MEDICINA PREVENTIVA E PATOLOGIA**  
**VETERINÁRIA**  
**LINHA DE PESQUISA: EPIDEMIOLOGIA, PREVENÇÃO E CONTROLE DE**  
**DOENÇAS DOS ANIMAIS E GESTÃO DOS RISCOS PARA A SAÚDE PÚBLICA**

**BRASÍLIA/DF**  
**MARÇO/2019**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DA  
INFECÇÃO PELO VÍRUS DA LEUCEMIA BOVINA NO  
DISTRITO FEDERAL, BRASIL.**

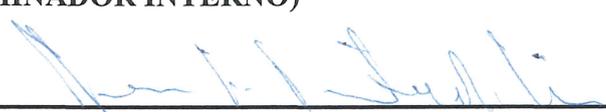
PABLO ANIBAL PEREIRA MARSIAJ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE  
ANIMAL COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE  
MESTRE EM SAÚDE ANIMAL.

APROVADA POR:

  
\_\_\_\_\_  
JOSÉ RENATO JUNQUEIRA BORGES, Prof. Dr. (UnB)  
(ORIENTADOR)

  
\_\_\_\_\_  
VÍTOR SALVADOR PICÃO GONÇALVES, Prof. Dr. (UnB)  
(EXAMINADOR INTERNO)

  
\_\_\_\_\_  
JENNER KARLISSON PIMENTA DOS REIS, Prof. Dr. (UFMG)  
(EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA/DF, 14 DE MARÇO DE 2019.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

MARSIAJ, P. A. P. **Prevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da leucemia bovina no Distrito Federal, Brasil.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2019, 72 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal autorizando reprodução desta dissertação de Mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

MM372p Marsiaj, Pablo Anibal Pereira  
Prevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da leucemia bovina no Distrito Federal, Brasil. / Pablo Anibal Pereira Marsiaj; orientador José Renato Junqueira Borges. -- Brasília, 2019.  
72 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Saúde Animal) -- Universidade de Brasília, 2019.

1. Leucose enzoótica bovina. 2. BLV. 3. Prevalência aparente. 4. Fatores de risco. 5. Distrito Federal. I. Borges, José Renato Junqueira, orient. II. Título.

## EPÍGRAFE

*“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”*

*Simone de Beauvoir*

## DEDICATÓRIA

*À Cibelle, Laura e Olívia, fonte eterna de amor e razão da minha busca por novos voos.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Renato Junqueira Borges, orientador e pioneiro do curso de medicina veterinária da Unb pela devoção as causas da buiatria nacional. Exemplo de profissionalismo, sempre buscando prover informações sanitárias pertinentes a pecuária da região. Obrigado pela oportunidade, confiança e pelas lições desde os tempos de aluno de graduação.

À colega e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Lourdes Arrais de Alencar Mota, pela atenção, disponibilidade, paciência, ensinamentos, colaboração e empenho incansável em busca do melhor método estatístico para o estudo.

Ao Prof. Dr. Vitor Salvador Picão Gonçalves, pela disponibilidade, apoio e comentários sempre pertinentes.

Aos demais colegas do Epiplan-FAV-UnB, Mariana, Marina, Cátia, pela acolhida e opiniões sempre pertinentes.

Aos professores da FAV-UnB, Fabiano Sant'Ana e Simone Peregmanis, pelo apoio e incentivo.

À equipe do Retrolab da UFMG, principalmente ao Prof. Dr. Jenner K P. dos Reis, Cláudia Fideles e Rebeca Câmara, pelo apoio e horas de trabalho para viabilizar os resultados dos testes diagnósticos para LEB.

À Secretaria de Estado de Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal (Seagri), por viabilizar a realização do Estudo e pela flexibilização dos horários de trabalho, permitindo sua conciliação com o cumprimento das atividades acadêmicas.

Aos produtores rurais que participaram do estudo epidemiológico,

Aos colegas e gestores do Serviço Veterinário Oficial da Seagri, principalmente aos amigos Geraldo Teixeira do Nascimento, Janaína Bitencourt Licurgo e Mariana de Fátima Góis pelo apoio e inúmeras conversas esclarecedoras nos momentos finais da dissertação.

À minha esposa Cibelle e minhas filhas Laura e Olívia pelo apoio incondicional e pela compreensão nos momentos de ausência.

À toda minha família pelo apoio incondicional e pensamentos positivos.

A todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

# SUMÁRIO

## CAPÍTULO I

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
<b>Etiologia.....</b>	<b>1</b>
<b>Distribuição Geográfica .....</b>	<b>6</b>
<b>Patogenia .....</b>	<b>11</b>
<b>Fatores de Risco .....</b>	<b>12</b>
<b>Diagnóstico .....</b>	<b>15</b>
<b>Importância Econômica .....</b>	<b>17</b>
<b>Controle da Leucose Enzoótica Bovina .....</b>	<b>18</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>OBJETIVO GERAL: .....</b>	<b>20</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....</b>	<b>20</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>21</b>

## CAPÍTULO II

<b>RESUMO .....</b>	<b>31</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>33</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>37</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>56</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CODEPLAN	Companhia de Planejamento do Distrito Federal
DF	Distrito Federal
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática ( <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> )
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal
FAV	Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDGA	Imunodifusão em Gel de Ágar
INDV	Índice de área foliar e biomassa
IgM	Imunoglobulina M
IL-2	Interleucina 2
LEB	Leucose enzoótica bovina
LP	Linfocitose persistente
LTR	Long Terminal Repeats
Mapa	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
PBMC	células mononucleares de sangue periférico
PCR	reação em cadeia da polimerase ( <i>polymerase chain reaction</i> )
RNA	Ácido ribonucleico
Seagri	Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal
UF	Unidade Federativa
UnB	Universidade de Brasília
BLV	vírus da leucemia bovina ( <i>Bovine Leukemia Virus</i> )
$\chi^2$	Teste do Qui-Quadrado

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1.</b> Dados censitários da população bovina do Distrito Federal, por tamanho de rebanho, 2015.	43
<b>Tabela 2.</b> Prevalência aparente de rebanhos infectados pelo BLV no Distrito Federal, por tamanho de rebanho.	44
<b>Tabela 3.</b> Prevalência da infecção pelo BLV em fêmeas com 24 meses ou mais de idade no Distrito Federal, por tamanho de rebanho.	45
<b>Tabela 4.</b> Estimativa do número de rebanhos infectados pelo BLV no Distrito Federal.	46
<b>Tabela 5.</b> Análise univariada indicando variáveis com valor de $p \leq 0,20$ , testadas para associação com rebanhos positivos para o BLV.	48
<b>Tabela 6.</b> Modelo de regressão logística no formato <i>design-based</i> .	49
<b>Tabela 7.</b> Descrição das propriedades (leite ou mistas) de tipologia leiteira no Distrito Federal.	49

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Representações esquemáticas da estrutura do genoma e partícula viral do BLV.	4
<b>Figura 2.</b> Distribuição mundial da leucose enzoótica bovina no segundo semestre de 2017 e no primeiro semestre de 2018.	8
<b>Figura 3.</b> Métodos diagnósticos aplicáveis durante os vários estágios da infecção pelo BLV	17
<b>Figura 4.</b> Boxplot da idade dos animais, conforme resultado no teste diagnóstico para LEB, por subpopulação no Distrito Federal.	44
<b>Figura 5.</b> Mapa da distribuição espacial dos rebanhos amostrados e positivos para Leucose Enzoótica Bovina no Distrito Federal.	46

# CAPÍTULO I

## REFERENCIAL TEÓRICO

### **Etiologia**

A leucose enzoótica bovina (LEB), é uma doença infectocontagiosa linfoproliferativa causada pelo vírus da leucemia bovina (BLV), um retrovírus oncogênico que acomete principalmente rebanhos bovinos (OTT et al, 2003.; BARROS FILHO et al., 2009.; KASSAR, 2018.).

Acredita-se que o BLV teve origem na Europa, provavelmente na região da Prússia Oriental, sendo eventualmente disseminado para a região oeste. Existem relatos que após a segunda guerra mundial a LEB já estava em quase todos os países da Europa Oriental. O BLV foi introduzido nos Estados Unidos no século XIX a partir de bovinos importados da região Báltica, sendo gradualmente disseminado para os rebanhos canadenses. A disseminação da LEB por todos os continentes ocorreu no pós-guerra a partir da importação de bovinos oriundos destes países (LEUZZI JÚNIOR, 2001).

A ocorrência de sinais clínicos em bovinos associado à leucose enzoótica bovina (LEB) foi relatada pela primeira vez por Leisering, que em 1871 descreveu a presença de nódulos amarelados no baço aumentado de uma vaca na Alemanha (LEISERING, 1871). Em 1874 foi descrita por Bollinger como uma doença clínica bem caracterizada em bovinos, e em 1876, os primeiros casos onde havia malignidade linfocítica em bovinos foram descritos (BOLLINGER, 1874; SIEDAMGROTZKY et al, 1876; RODRÍGUEZ et al., 2011). Em 1969, o vírus da leucemia bovina (BLV), foi isolado em cultura (MILLER et al., 1969; RODRÍGUEZ et al., 2011).

No Brasil, as primeiras evidências da doença foram descritas por Rangel & Machado em 1943, sendo relatada a presença de linfossarcomas em bovinos na região de Minas Gerais. Entretanto, a Leucose enzoótica bovina foi somente diagnosticada e relatada no país em 1959 por Merckt et al. (1959) no Rio Grande do Sul e por Santos et al. (1959) no Rio de Janeiro (RANGEL & MACHADO, 1943; SANTOS et al., 1959; MERKT et al., 1959).

É uma doença de evolução crônica, amplamente distribuída por todos os continentes, que ocasiona consideráveis perdas econômicas diretas e indiretas e impacto negativo nos índices zootécnicos dos rebanhos acometidos (FLORES, 2007). A patogenicidade da LEB

depende de fatores imunológicos intrínsecos ao hospedeiro, sendo as manifestações clínicas altamente variável entre os animais acometidos. A maioria dos indivíduos infectados não apresenta sinais clínicos, e contém apenas 1% ou menos de células infectadas (CAMARGOS et al., 2004). Entretanto, a doença é negligenciada pela maioria dos produtores, já que 30 a 70% dos animais infectados progredem para um quadro de linfocitose persistente, resultante do aumento no número de linfócitos B circulantes por períodos prolongados e apenas 0.1 – 10% dos animais infectados, geralmente em animais acima de 3 anos de idade, desenvolvem tumores (linfossarcoma de células do tipo B) (OIE, 2018a). Raramente os casos da doença que ocasionam tumores ultrapassam 5% dos animais acometidos e os casos de linfocitose persistente (LP) geralmente representam 30% dos casos (FERRER, 1979). Portanto, a infecção pelo BLV é comumente assintomática e persistente (KETTMANN et al., 1994; SCHWARTZ e LEVY, 1994).

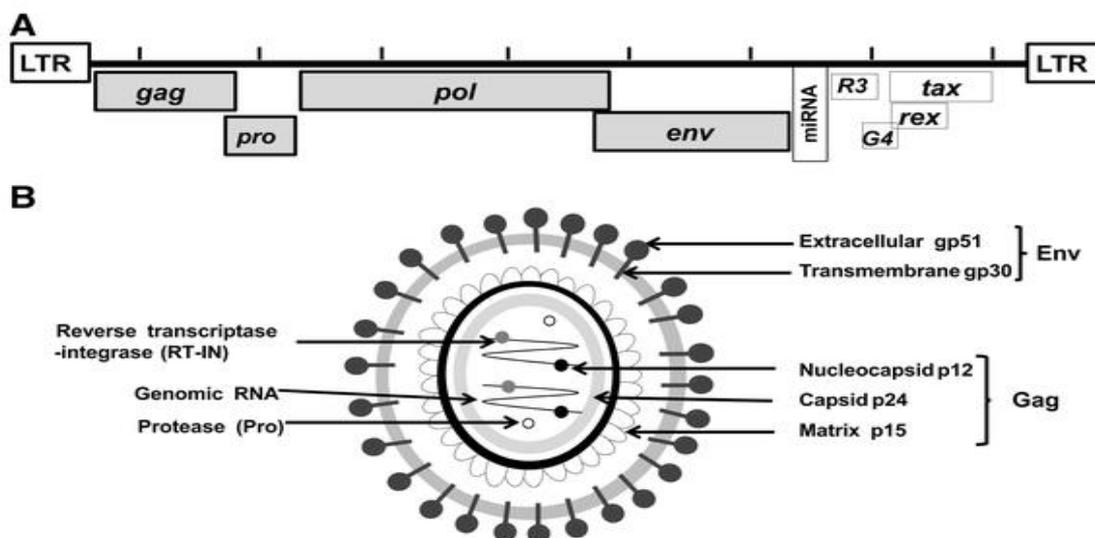
O BLV é um retrovírus oncogênico linfotrópico estruturalmente relacionado ao Vírus T-Linfotrópico Humano (HTLV-I e II) e ao vírus linfotrópico de células T dos símios 1, 2 e 3 (STLV -1, -2, -3), pertencente à ordem: *Ortevirales*, família: *Retroviridae*, subfamília: *Orthoretrovirinae*, gênero: *Deltaretrovirus*, espécie: *Bovine leukemia virus* (POLAT et al., 2017; ICTV, 2018; OIE, 2018a). O BLV é um vírus RNA de formato esférico com diâmetro de 80-130 nm (nanômetros), possui estrutura em três camadas, a mais externa, o envelope que é derivado da membrana celular da célula hospedeira, composto por lipoglicoproteico onde observam-se peplômeros (projeções) de glicoproteínas. A camada intermediária é formada pelo capsídeo icosaédrico de aproximadamente 60 nm que envolve a região mais interna denominada de complexo genoma-nucleoproteína onde está localizado o genoma constituído por duas moléculas de RNA de cadeia simples com polaridade positiva e as enzimas transcriptase reversa e integrase (QUINN, et al., 2005; FENNER et al., 1993).

Os vírus da família *Retroviridae* possuem três genes em comum em seu material genético o “gag”, “pol” e “env” que são responsáveis pela codificação das proteínas do capsídeo, enzimas e das glicoproteínas do envelope respectivamente (FENNER et al., 1993; BRAGA et al., 1998). O genoma do BLV consiste em milhares de nucleótidos incluindo proteínas estruturais essenciais e genes responsáveis pela codificação enzimática, além de uma região 3’ conhecida como “pX”, delimitado por dois terminais idênticos (LTRs) (Figura 1). A região “pX” codifica as proteínas reguladoras Tax e Rex, e as proteínas acessórias R3 e G4. A região das proteínas reguladoras é extremamente importante no ciclo de replicação do vírus no interior da célula do hospedeiro já que atuam na transcrição do genoma proviral, na

transformação da leucomogênese induzida pelo BLV e na exportação nuclear do RNA viral para o citoplasma (SAGATA et al., 1984; POLAT et al., 2017). A proteína Tax também desenvolve importante papel na ativação de genes celulares, atua na transcrição de receptores de citocinas (IL-2) e promove aumento da velocidade de transcrição viral pela ativação do LTR. As proteínas acessórias contribuem para a manutenção de cargas virais (FLORINS et al., 2007). O genoma do BLV também contém entre a região env e pX os miRNAs (POLAT et al., 2017), que são incomuns em vírus RNA devido ao seu potencial de clivagem do RNA genômico. Os miRNAs do BLV são transcritos pela RNA polimerase III (KINCAID et al., 2012). Os miRNAs virais são fortemente expressos em células pré-leucêmicas e malignas, e possivelmente desempenham um importante papel na progressão do tumor, nos efeitos sobre a carga proviral e, conseqüentemente, na replicação viral no hospedeiro (GILLET et al., 2007; SAGATA et al., 1984; POLAT et al., 2017).

O gene gag do BLV é traduzido como o precursor, Pr45 gag, e processado para gerar três proteínas maduras: a proteína da matriz, p15, que se liga ao RNA genômico viral e interage com a bicamada lipídica da membrana viral; a proteína do capsídeo, p24, que é o principal alvo da resposta imune do hospedeiro, sendo observado altos títulos de anticorpos em animais infectados; e a proteína do nucleocapsídeo, p12, que se liga ao genoma empacotado do RNA (Figura 1) (SAGATA et al., 1984; POLAT et al., 2017).

O envelope viral é formado por glicoproteínas (gp) que são codificadas pelo gene env, mais especificamente a proteína precursora de envelope (Pr72), sendo as principais a proteína de superfície extracelular gp51 e a proteína transmembrana gp30. Sendo que a gp51 atua na ligação e a gp30 é responsável pela fusão do vírus com a célula alvo (FLORINS, et al., 2007; POLAT et al., 2017).



**Figura 1.** Representações esquemáticas da estrutura do genoma e partícula viral do BLV (Fonte: POLAT, 2017).

Na fase de replicação viral, o RNA do retrovírus é convertido em DNA proviral por meio da ação da transcriptase reversa. Isso ocorre logo após a infecção e em seguida o DNA viral é integrado ao genoma da célula do hospedeiro. A integração no genoma do hospedeiro é uma etapa crucial no ciclo do retrovírus o que permite uma infecção que pode perdurar por toda a vida do animal. (MURAKAMI et al., 2011; RAJÃO et al., 2008). O vírus faz sua replicação dentro do núcleo da célula hospedeira e pode levar até 10 horas para completar o processo de formação de um novo virion. O BLV infecta preferencialmente linfócitos B, mas também é capaz de infectar células T, monócitos e granulócitos. (SCHWARTZ e LEVY, 1994; MURPHY et al., 1999; AZEDO et al., 2011). Ao completar o ciclo de replicação, o vírus recém-criado é liberado das células infectadas pelo provírus, mantendo e amplificando a infecção, disseminando-se em linfócitos B e células do sistema mononuclear fagocitário não acometidas. O vírus emprega as glicoproteínas de seu envelope (gp51, gp30) para aderir, invadir e fundir o vírus com a célula alvo para que expressem o receptor ligante do BLV (proteína de membrana) (FLORINS, et al., 2007; POLAT et al., 2017).

No início da infecção o vírus reconhece e se liga na célula alvo, liberando o seu nucleocapsídeo dentro do citoplasma da célula hospedeira. (RAVAZZOLO e COSTA, 2007), ocorrendo então a transativação gênica que é quando acontece a integração do genoma do BLV no linfócito B, passando o provírus a controlar os processos de transcrição de RNA genômico com a produção de RNAm e tradução de proteínas viras no citoplasma da célula do hospedeiro (ZACHARY et al., 2016.). O vírus é então liberado da superfície do linfócito revestido

externamente pela membrana celular (LEUZZI JÚNIOR et al. 2001; GILLET et al., 2007; RAVAZZOLO e COSTA, 2007).

O BLV é inativado quando em contato com solventes orgânicos e detergentes lipídicos (álcool, éter, cloro, iodo e clorofórmio) (BRAGA et al., 1998; LEITE et al., 2001). O BLV possui um genoma diplóide com duas fitas não complementares de RNA simples de polaridade positivo (FENNER et al., 1993). O BLV não é excretado na sua forma livre para o ambiente. Os linfócitos infectados podem sobreviver por tempo limitado no sangue ou no leite, são sensíveis ao congelamento (KANNO et al., 2014), não resistem a exposição a temperaturas de 56°C durante 30 minutos, perdendo assim a capacidade de replicar e transmitir o BLV (MURPHY et al., 1999). No entanto, em condições *in vitro* a 4 °C, o BLV em células infectadas sobreviveu no sangue contendo anticoagulante e anticorpos anti-BLV durante pelo menos duas semanas e pelo menos quatro semanas no sangue sem anticorpos anti-BLV (ROBERTS et al., 1981). Graves e Jones (1981) observaram que a junção de  $\beta$ -propiolactona com a irradiação UV reduziram drasticamente o potencial de replicação do BLV, sendo demonstrado pela falta de expressão de p24 nas células inoculadas no experimento.

Kanno et al. (2014) demonstrou que um ciclo de congelamento e descongelamento inativa o BLV presente no colostro. Tanto o leite de vacas infectadas, que foram submetidos a pasteurização a altas temperaturas por curto tempo, quanto o BLV derivado de cultura celular que foi aquecido a 60 °C por mais de 1 minuto, não tiveram capacidade de infectar ovelhas e as células susceptíveis, respectivamente (BAUMGARTENER et al., 1976).

Vários estudos foram realizados na tentativa de determinar se o BLV tem potencial zoonótico, especialmente através do consumo de leite de vacas infectadas (BURMEISTER et al., 2007; PERZOVA et al., 2000). Pesquisadores encontraram DNA do BLV em tecido cancerígeno humano e assim aventaram a possibilidade da participação do BLV na patogênese do câncer de mama em humanos (BUEHRING et al., 2015), no entanto os resultados não foram confirmados por outros pesquisadores (GILLET e WILLEMS, 2016; ZHANG et al., 2016). Ainda não existem evidências conclusivas da participação do BLV em neoplasias de pacientes humanos (OIE, 2018a). Porém, tendo em vista a falta de consenso e as informações emergentes sobre a participação do BLV no câncer de mama humano, é prudente encorajar o monitoramento e a criação de programas de controle da disseminação do BLV, especialmente na bovinocultura de leite (LAWSON et al., 2018).

## **Distribuição Geográfica e epidemiologia da infecção pelo Vírus da leucemia bovina**

### **Distribuição Mundial da infecção da pelo Vírus da leucemia bovina**

A doença está difundida em todos os continentes, mas em situações epidemiológicas distintas nas diversas regiões e com variações de ocorrência entre os rebanhos, sendo maior em rebanhos leiteiros. Com base no painel da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos em saúde e bem-estar animal, a LEB pode ter se originado e disseminado amplamente a partir de uma área na Lituânia. A propagação mundial da doença ocorreu devido à introdução de gado de países europeus em rebanhos de outros países livres da doença através do comércio internacional de animais (EPAHW, 2015; RODRÍGUEZ et al, 2011).

A LEB é listada pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) como uma doença de importância para o comércio internacional (OIE, 2018b). Vários países estabeleceram programas de erradicação e medidas de controle baseadas nas abordagens “testar e eliminar” e “testar e segregar”, sendo muito bem sucedidos na Europa Ocidental, na Nova Zelândia e na Austrália Ocidental (RUIZ et al., 2018.).

A ampla distribuição de genótipos do BLV em regiões consideradas próximas e também entre localizações geográficas distantes evidenciam que a disseminação do vírus se deu pelo movimento de populações de animais vivos e que a transmissão viral durante contato direto entre animais desempenha um importante papel na dispersão do vírus entre rebanhos (RODRÍGUEZ et al., 2009).

Programas de erradicação e controle foram introduzidos na Austrália e Nova Zelândia em 1983 e 1996, respectivamente, sendo que o rebanho neozelandes é considerado livre para LEB desde 2008, enquanto 99,7% dos rebanhos leiteiros australianos foram declarados livres de LEB em dezembro de 2013 (EPAHW, 2015; CHETHANOND, 1999).

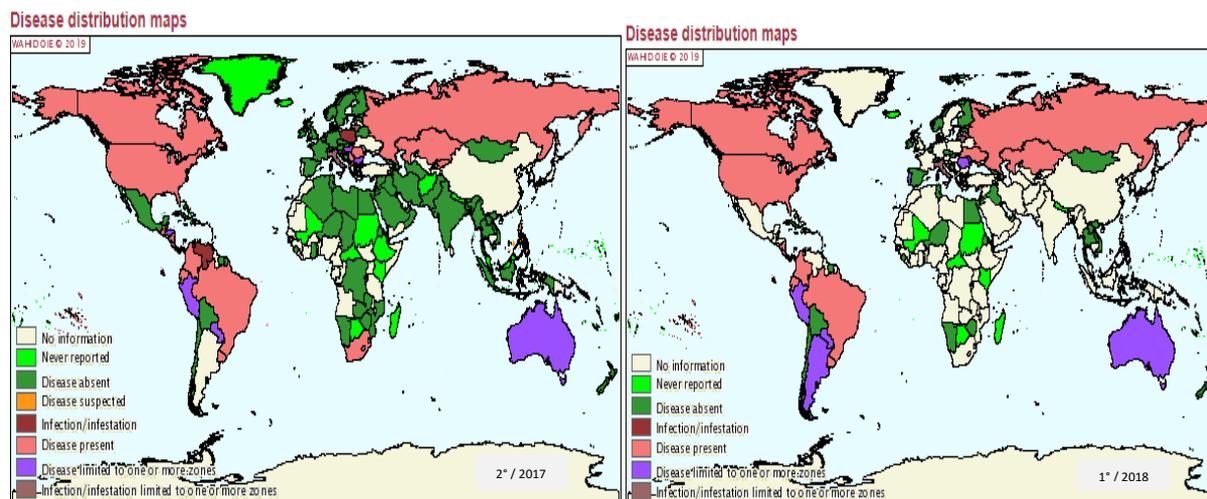
Na América do Sul, a doença está presente em vários países do continente, sendo que no Brasil a prevalência média estimada em animais variou entre 23,7% a 37% (TÁVORA e BIRGEL, 1991 apud TOSTES, 2005 FERNANDES et al., 2009). Em outros países do continente sulamericano foram descritas prevalências de 19,8% a 54,7% em países como Chile, Bolívia, Peru, Venezuela, Uruguai, Paraguai e Colômbia. Na Argentina, a prevalência do BLV observada em animais e em rebanhos foi maior, sendo observados índices de 77,4% e 90,9%, respectivamente (POLAT et al, 2017).

Nos Estados Unidos a prevalência de infecção varia conforme a região estudada, em estudo epidemiológico para estimar a prevalência do BLV em gado leiteiro, foi observado que 83,9% dos bovinos leiteiros eram positivos para o BLV ao nível do rebanho e 39% dos rebanhos bovinos de corte possuíam ao menos um animal infectado (APHIS, 2008). No Canadá, um estudo de prevalência do BLV demonstrou que 37,4% das vacas e 89% dos rebanhos eram positivos (VANLEEUEWEN et al, 2005). Samagh e Kellar (1982), também no Canadá, verificaram uma prevalência geral de 19,7% sendo 40,5% em bovinos de leite e 11,2% para bovinos de corte. A prevalência da doença também foi estimada em outros países da América Latina, sendo encontrada a prevalência de 36% no México (SUZAN et al., 1983) e 28% na Costa Rica (DUCREUX et al., 1987).

Países da Europa Ocidental, são reconhecidos oficialmente livres do BLV devido a programas contínuos de vigilância (OIE, 2018a), porém a situação é diferente na Europa Oriental, onde a doença ainda está presente em vários países como a Bulgária, Croácia, Estônia, Letônia, Polónia, Roménia e Ucrânia (RODRÍGUEZ et al, 2011).

A infecção por BLV é amplamente disseminada em rebanhos leiteiros chineses. A prevalência em animais é de até 49,1% entre os bovinos de leite, enquanto 1,6% dos bovinos de corte são positivos para o BLV (YANG *et al.*, 2016.). Estudos epidemiológicos no Japão revelaram que a prevalência encontrada para LEB foi de 40,9% em rebanhos de leite e 28,7% de bovinos de corte, com aumento na prevalência em animais maiores de 24 meses de idade, atingindo 78% em rebanhos leiteiros e 69% em rebanhos bovinos de corte (MURAKAMI *et al.*, 2013). Na Coreia, 54,2% dos animais leiteiros e 86,8% dos rebanhos leiteiros eram positivos para o BLV, enquanto somente 0,14% dos bovinos de corte estavam infectados com o vírus (LEE et al., 2015). Lee et al (2016) demonstraram uma prevalência média do BLV em animais de 58,7% na Tailândia. Nas Filipinas os níveis de prevalência em animais para o BLV variaram de 4,8% a 9,7% (POLAT et al., 2015), semelhantes aos 9,1% encontrados em Mianmar (POLAT *et al.*, 2017).

Uma pesquisa sorológica no nordeste do Irã revelou que a prevalência do BLV foi de 25,4% naquela região (MOUSAVI et al., 2014). A prevalência da LEB em países do Oriente Médio são relativamente baixas, sendo que a prevalência do BLV é de aproximadamente 5% em Israel, enquanto na Arábia Saudita fica em 20,2% do gado leiteiro. Em comparação com estes países, as taxas de infecção pelo BLV na Turquia são mais elevadas, com prevalência de 48,3% em rebanhos leiteiros (POLAT et al., 2017).



**Figura 2.** Distribuição mundial da leucose enzoótica bovina no segundo semestre de 2017 e no primeiro semestre de 2018. Fonte: OIE (2019).

### **Distribuição no Brasil da infecção pelo Vírus da Leucemia Bovina**

No Brasil a LEB é conhecida desde 1943 (Rangel e Machado), e tem sido demonstrada em praticamente em todo território nacional. Estudos sorológicos em diversos estados brasileiros demonstraram elevados índices de prevalência de infecção pelo BLV em rebanhos bovinos variando entre 5,1 e 44,3 %, dependendo da UF do estudo (BIRGEL JUNIOR et al., 2006). Os genótipos, baseados em sequenciamento do gene env-gp51, encontrados no país são os do tipo 1, 2, 5, 6, e 7 (POLAT et al., 2017).

Diversos estudos de prevalência realizados no país têm demonstrando o avanço da LEB e a ampla disseminação da infecção pelo BLV nos rebanhos bovinos brasileiros. Com base na literatura consultada, a prevalência média nacional em animais variou entre 23,7% (7.862/33.000) a 37% e 58,9% (656/1.113) dos rebanhos foram positivos ao teste de diagnóstico da LEB (BIRGEL JUNIOR et al., 2006; FERNANDES, et al., 2009; TÁVORA e BIRGEL, 1991 apud TOSTES, 2005). As maiores taxas de prevalência são comumente relatadas na região Sudeste e Centro-Oeste (FERNANDES et al., 2009; PEREIRA et al., 2013).

Fernandes et al. (2009), sem considerar a raça e aptidão dos bovinos estudados, estimaram as seguintes prevalências médias nas diversas regiões do país: 39,8% (4.821/ 12.110) no Sudeste; 23,9% no Centro-Oeste; 17% no Norte; 14,18% no Sul (2.053/14.476) e 13,86% no Nordeste (756/5.454). Com base nas médias obtidas em múltiplos estudos de prevalência da LEB em bovinos leiteiros, Pereira et al (2013) estimaram as seguintes prevalências médias nas regiões do Brasil: Sudeste, 46,72%; Centro-Oeste, 40,13%; Sul, 34,41%; Nordeste, 29,94 e

Norte, 18,30%. Ao realizar o trabalho os autores reuniram dados de todo território nacional, realizaram assim a média de diversas pesquisas brasileiras para estimar uma taxa de prevalência de animais infectados pelo BLV.

Considerando as principais publicações de estudos realizados em Goiás e Minas Gerais, principais UFs que destinam animais ao DF (LICURGO, 2016), as prevalências da infecção pelo BLV em animais, foram de: 29,29% no Sítio Histórico e Patrimônio Cultural Kalunga localizado em Goiás (PEIXOTO et al., 2016.); 15,3% (86/562) em bovinos Curraleiros de Goiás, (JULIANO et al., 2014); 49,53% em São Paulo e Minas Gerais (ALEXANDRINO et al., 2011); 38,7% no sistema de produção de leite tipo C em Minas Gerais (CAMARGOS et al., 2002); 36% (239/670) em bovinos de diversas raças em Goiás (ANDRADE e ALMEIDA, 1991); 26,69% (781/2926) em rebanhos de leite e corte de Minas Gerais (MODENA et al., 1984) e 70,9% (163/230) em rebanhos leiteiros de Minas Gerais (LEITE et al., 1984)

### **Transmissão**

A transmissão do BLV ocorre, sobretudo por via iatrogênica e horizontal (HOPKINS e DIGIACOMO, 1997). Vacas prenhes infectadas podem transmitir o vírus pela via transplacentária, leite e colostro sendo a ocorrência da infecção pela via vertical estimada em apenas 4 a 18% dos casos (SANTOS e ALESSI, 2016).

A interação célula-célula é necessária para possibilitar a transmissão de alguns retrovírus, sendo a infecção viral sem a participação celular altamente ineficaz, pois praticamente não ocorre a liberação de partículas infectantes para fora dos linfócitos infectados (IGAKURA et al., 2003).

Diversas portas de entrada para o BLV são conhecidas e comprovadas por inoculação experimental, sendo que as mais comuns são as vias oral, traqueal, intradérmica, intramuscular, subcutânea, intravenosa e retal, podendo ocorrer também pelas vias intraperitoneal e uterina (MILLER et al., 1972; ROBERTS et al., 1982; HOPKINS et al., 1988). Nos bovinos, a transmissão horizontal é a principal forma de disseminação do vírus e a via respiratória parece ser a principal porta de entrada do agente nos casos de transmissão direta do BLV (JOHNSON e KANEENE, 1992; HOPKINS e DIGIACOMO, 1997).

A LEB pode ser provocada pela entrada do BLV no organismo pelo sistema alimentar de onde chega ao sistema vascular. O leite, colostro e outras secreções corporais que contêm

linfócitos infectados são importantes nessa via de transmissão, mas ocasionam a doença em menor frequência (REBHUN, 2000).

Segundo Weiblen (1991), além do contato direto, os procedimentos iatrogênicos com exposição a fluídos biológicos dos animais infectados, principalmente o sangue, é o principal fator de risco. Quantidades de sangue tão pequenas quanto 0,1 µL são capazes de transmitir o vírus (ANDREWS et al. 2004; FLORES, 2007). Logo, o vírus é transmitido horizontalmente por fômites contendo sangue, principalmente instrumentos cirúrgicos, luvas de palpação e agulhas hipodérmicas (SANTOS e ALESSI, 2016). De acordo com Juliano et al., 2014, práticas de manejo como vacinação contra brucelose, podem estar relacionadas a maior prevalência de LEB em fêmeas, devido a transmissão da doença associada ao uso da mesma agulha para vacinação de diversos animais. O uso de ocitocina exógena na pré-ordenha pode elevar o risco de transmissão do BLV, através da veiculação do vírus por agulhas contaminadas (FELISBERTO et al., 2017). A infecção também pode ser transmitida via teste intradérmico de tuberculina (RADOSTITS et al., 2002; ANDREWS et al., 2004). A transfusão sanguínea também é fonte importante de disseminação do BLV (SANTOS e ALESSI, 2016).

A transmissão pela monta natural pode ocorrer, devido à possível presença de linfócitos infectados no trato reprodutivo, já que o BLV é raramente encontrado nos espermatozoides (FLORES, 2007). Ainda que o sêmen não represente um risco evidente para a transmissão do BLV, a OIE optou por exigir garantias sanitárias de que o sêmen esteja livre do vírus, conforme descrito no Capítulo 11.6 do código sanitário terrestre. No código da OIE é recomendado que os touros doadores de sêmen sejam provenientes de rebanhos negativos para a LEB e quando os animais forem menores de 2 anos de idade, serem nascidos de vacas negativas. Para atender os requisitos do certificado internacional também é necessário que o touro seja submetido a testes de diagnóstico para LEB em amostras de sangue com resultados negativos em duas ocasiões, sendo o primeiro teste realizado pelo menos 30 dias antes e o segundo teste pelo menos 90 dias após a coleta do sêmen. Por fim, é necessário atender as recomendações contidas no código referente a coleta, processamento e armazenamento do sêmen (OIE, 2018a).

Em algumas regiões, insetos hematófagos (tabanídeos) são fontes de disseminação do BLV (SILVA et al. 2008). Já a mosca-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans*), possui uma anatomia bucal que impossibilita carrear quantidades suficientes de sangue e conseqüentemente não consegue transmitir o BLV (RADOSTITS et al. 2002).

## Patogenia

A infecção pelo BLV é caracterizado por três estágios progressivos da doença, incluindo um estágio assintomático, o estágio caracterizado por linfocitose persistente (LP) e o estágio maligno da doença. A maioria dos bovinos infectados são assintomáticos, porém de um a dois terços deles apresentam LP caracterizada por uma elevação permanente na contagem de linfócitos B no sangue. O estágio de LP é tido como a forma benigna da doença resultante do aumento de linfócitos B não transformados. Animais infectados pelo BLV, manifestando Linfocitose persistente, apresentam menor atividade fagocitária e alteração no metabolismo oxidativo, decréscimo das imunoglobulinas, especialmente a IgM, evidenciando fragilidade funcional da imunidade humoral que acaba ocasionando imunodepressão (AZEDO et al., 2011, 2012; OLIVEIRA et al., 1997). O aumento da ocorrência de doenças com possível etiologia infecciosa (mastite, bronquite e problemas de casco), foi associada com a ocorrência da LEB. Brenner et al. (1989), encontraram uma associação positiva entre a infecção por BLV e a ausência da recuperação espontânea da micose, evidenciando assim um comprometimento da resposta imune em vacas infectadas pelo vírus.

A forma maligna acomete apenas um pequeno percentual dos bovinos infectados pelo BLV e após um longo período de latência um processo patológico, induzido por provírus, acomete principalmente o sistema linfóide e ocasiona um quadro de linfoma de células B que acomete vários linfonodos (SCHWARTZ e LEVY, 1994; FLORINS et al., 2008; FERNANDES et al., 2009; OIE, 2018a). A evolução da LEB até o estágio de malignidade da doença é um processo complexo e demorado onde o BLV ocasiona nas células acometidas disfunção ou mutação dos genes reguladores do ciclo celular, que finalmente transformam as células antes normais em células neoplásicas, com o crescimento desordenado, invasão tecidual e eventualmente metástases.

Estudos revelaram que os níveis de carga proviral aumentam significativamente no estágio de LP em comparação com o estágio assintomático e aumentaram ainda mais no estágio maligno da LEB (JIMBA et al., 2010, 2012). Portanto, o número de cópias provirais do BLV aumenta conforme a gravidade da doença.

Após um curto período de viremia, a fase de latência do vírus dura de 1 a 8 anos antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos da LEB (KURTINAITIENE et al. 2008). Em aproximadamente 12 dias, partículas virais já estão presentes na corrente sanguínea induzindo uma resposta imune humoral com a produção de anticorpos específicos (LEUZZI JÚNIOR et

al. 2001).

Os sinais clínicos observados na LEB são determinados, em grande parte, pela localização dos tumores e os animais acometidos são descartados precocemente por outros transtornos, como infertilidade e queda na produção de leite. O aumento de linfonodos superficiais pode ser comum, mas esta hipertrofia pode também ocorrer apenas em tecidos linfóides viscerais, que podem ser palpados por exame retal (JOHNSON e KANEENE, 1991). Os sinais incluem distúrbios digestivos, cardiorrespiratórios, reprodutivos (vagina e útero), oftálmico (exoftalmia), inapetência, perda de peso, debilidade geral e, eventualmente, manifestações neurológicas (paresia), decorrentes do desenvolvimento do linfossarcoma (RADOSTITIS et al., 2002; RAVAZZOLO e COSTA, 2007; AZEDO, 2007). Os órgãos mais acometidos são o coração, abomaso e linfonodos (MODENA, 1981). Lesões nos órgãos reprodutores são pouco frequentes (BRAGA et al., 1998; VAN DER LAAN, 2001; SILVA et al., 2008), sendo que todas as partes dos órgãos reprodutores podem apresentar alterações e causar infertilidade. Dependendo da fase da gestação, pode haver morte fetal, aborto ou distocia a depender do tamanho e localização das tumorações (MODENA, 1981).

### **Fatores de Risco**

Diversos estudos demonstraram associações positivas entre o aumento da porcentagem de animais soropositivos e o aumento da idade do rebanho, o aumento do tamanho do rebanho, rotina de aquisição de bovinos, do número de partos, criação em sistema semi-intensivo, rebanho leiteiro e manejo com uso de procedimentos uso de fômites com possibilidade de transmissão iatrogênica do BLV (FLORES et al., 1988; OIE, 2018a; BARROS FILHO et al., 2010; JULIANO et al., 2014; PINHEIRO JUNIOR et al., 2013; PEIXOTO et al., 2016; MOUSAVI et al., 2014; RADOSTITS et al, 2002).

Conforme a evolução da idade, os animais são expostos por um período mais prolongado ao BLV, o que provavelmente leva a uma maior prevalência de infecção por BLV entre bovinos leiteiros (RADOSTITS et al, 2002). A maior ocorrência da doença foi relacionada a bovinos maiores de 36 meses de idade (PEIXOTO et al., 2016). Birgel Junior et al. (2008), também relatou um aumento da prevalência da LEB conforme o aumento da idade dos animais, porém a faixa etária descrita com maior frequência de positivos foi a de animais com mais de 72 meses de idade.

Fernandes et al. (2009), concluíram que o tipo de ordenha praticado nas propriedades apresentou associação significativa e odds ratio igual a 2,7 para ordenha mecânica em relação prática da ordenha manual. Em um estudo no Iran foi identificada uma correlação positiva entre o tamanho do rebanho leiteiro e a soropositividade para o BLV no leite em tanques de armazenamento (HAGHPARAST, 2012).

A introdução de animais reprodutores com alto valor zootécnico, sem controle sanitário no momento da introdução dos animais no novo rebanho, cria condições favoráveis para a ocorrência da infecção pelo BLV (FERNANDES et al, 2009).

Os fatores de risco associados à LEB identificados em estudo com rebanhos leiteiros e de corte no Japão foram: a criação de vacas leiteiras em sistema loose housing, o contato direto de bezerros com animais adultos em fazendas de corte, dentre outros. Na análise de regressão logística demonstraram que a descorna e a presença de grande número de insetos hematófagos no verão, como fatores de risco para a LEB. O descarte do colostro de vacas positiva foi considerado um fator de proteção. Propriedades estruturadas com piquete maternidade e que não realizavam controle da origem do colostro, neste estudo, apresentaram índices de positividade mais elevados. O maior número de animais infectados nas propriedades que possuíam piquete maternidade é atribuído ao contato com pasto e água contaminados durante o parto. (YUJI et al.,1983; KOBAYASHI et al., 2010; KOBAYASHI et al., 2014). Além dos insetos hematófagos, morcegos hematófagos e carrapatos, contribuem para a disseminação do BLV. Nos meses mais quentes, devido a maior presença desses agentes, ocorre um aumento na transmissão da doença (CORDEIRO et al., 1994, BALDACCHINO et al., 2014).

Um estudo canadense demonstrou que rebanhos com casos clínicos de leucose nos 12 meses anteriores ao estudo, bem como rebanhos que compraram animais, sem os devidos cuidados sanitários, de propriedades com status de infecção por BLV desconhecido nos últimos cinco anos, tiveram uma quantia significativamente maior de animais positivos para o BLV (NEKOU EI et al., 2015a).

De acordo com Flores et al. (1988), dentre os vários fatores de risco para a disseminação da doença, estão relacionados a presença de vários animais infectados, fluxo intenso de comércio de animais, criação em sistema semi-intensivo e o uso rotineiro de práticas como vacinações, vermifugações e outras medidas terapêuticas como pequenas cirurgias, descorna, aplicação de brincos e palpação retal para diagnóstico de gestação. Dentre os fatores de risco encontrado em outras pesquisas destaca-se o compartilhamento entre vários animais

da mesma agulha para coleta de sangue ou vacinação, o uso da mesma luva de palpação em mais de um animal, a aglomeração dos animais e a ausência de assistência veterinária (SANTOS et al., 2011; KOHARA et al., 2006). Weber et al., (1988) relatou que a quantidade de linfócitos infectados que podem ser transmitidos durante a injeção com uso de agulha comum não foi suficiente para induzir a infecção pelo BLV. Porém, Oliveira et al., (2013) relatou que reutilização de materiais contaminados em procedimentos terapêuticos, foi uma associação positiva à transmissão do BLV. A descorna é uma prática comumente utilizada na rotina de manejo dos rebanhos leiteiros e como os instrumentos utilizados normalmente não são desinfetados durante o procedimento, torna essa prática um fator de risco para a transmissão do BLV entre os bezerros (LASSAUZET et al., 1990). Nekouei et al., (2015b) analisaram fatores protetores possivelmente associados, sendo relacionada a troca de luvas entre vacas durante o exame obstétrico e não identificaram associação estatisticamente relevante que caracterize essa variável como um fator protetor para a disseminação do BLV.

Para Ortega et al. (2016), o uso do curral para o manejo das vacas é um fator de risco apontado, porém pouco relatado para a infecção por BLV. Talvez o curral represente um fator de risco para a disseminação da doença pois é usado para várias atividades, como cirurgias, descorna, inseminação, partos e no manejo de animais doentes. Também foi observado que a vacinação executada por profissionais capacitados é considerada como um fator de proteção, enquanto a vacinação realizada por trabalhador não qualificado é considerada como um risco. Ainda no mesmo estudo, a ordenha mecânica tornou-se um fator de risco em comparação com a ordenha manual, que é considerada um fator de proteção. Essas variáveis podem estar relacionadas a padrões higiênicos e às BPF (boas práticas de fabricação), já que quando a ordenha mecânica não é higienizada da forma correta, é possível tornar uma fonte de disseminação do BLV.

Peixoto et al. (2016) observaram que variáveis relacionadas a intensificação do sistema de produção apresentam maior correlação com a incidência da LEB. A intensificação do sistema com a formação de pastos aumentando a densidade animal em uma mesma área, têm maior ocorrência da doença de que bovinos mantidos em pastos nativos com menor densidade de animais. No mesmo estudo foi demonstrado que valores mais altos de índice de área foliar e biomassa (INDV) tiveram maior correlação com a LEB, provavelmente por estas áreas apresentarem maior disponibilidade de biomassa e maior densidade de animais e de insetos vetores. A ocorrência de temperaturas mais elevadas também foi outro fator associado a maior ocorrência da LEB. Em relação aos aspectos sociais, Peixoto et al (2016), observaram que em

propriedades onde os filhos dos produtores estudavam em áreas conexas às ciências agrárias a ocorrência da LEB foi menor, fato que provavelmente está relacionado a adoção melhores técnicas de manejo (PEIXOTO et al., 2016).

Autores tem relacionado os fatores climáticos como índice de precipitação e temperatura como fatores de risco determinantes na infecção e disseminação da doença. A ocorrência de LEB teve relação com a sazonalidade das chuvas, sendo que em época com alto índice pluviométrico foi observado menos casos de LEB do que épocas com uma menor precipitação. As temperaturas máximas e mínimas foram maiores nas fazendas positivas do que nas fazendas negativas ao longo do ano (ORTEGA et al., 2016).

### **Diagnóstico**

Por vários anos, as principais ferramentas de diagnóstico da LEB em rebanhos dependia da observações clínicas, identificação de tumores no exame post-mortem e principalmente da realização de exames hematológicos para a detecção dos níveis de linfócitos. A partir do início dos anos de 1970, os testes sorológicos gradualmente substituíram os exames hematológicos. Os métodos sorológicos são adequados para triagem de rebanhos, mas incapazes de identificar vacas infectadas precocemente antes do início da formação de anticorpos, e incapazes de distinguir entre anticorpos colostrais e os gerados pela resposta à infecção por BLV (EFSA, 2015). Em bovinos infectados pelo BLV, a soroconversão ocorre de duas semanas a três meses após a infecção. Atualmente, vários métodos indiretos podem ser usados para detectar anticorpos contra o BLV, principalmente técnicas sorológicas como a IDGA, ELISA e o radioimunoensaio (RIA) (REBHUN,2000; EFSA,2015). O diagnóstico da LEB pode ser feito pela identificação direta do agente por isolamento viral, a partir do cultivo in vitro de células mononucleares de sangue periférico (PBMC), ou pela detecção de DNA províral por reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de sangue, órgãos e tumor. (LEITE et al., 2013; OIE, 2018a).

Os testes sorológicos são de extrema importância para o diagnóstico da LEB em rebanhos, uma vez que os animais acometidos pelo BLV apresentam uma resposta imune detectável em poucas semanas pós infecção e perdura por longos períodos. Os testes sorológicos preconizados pela OIE são o IDGA e o ELISA (OIE, 2018). Nessas técnicas são utilizadas, em conjunto ou isoladamente, os principais antígenos do BLV, p24 (proteína nuclear) e gp51 (glicoproteína do envelope). Os métodos sorológicos são amplamente

utilizados em vigilância epidemiológica, certificação de áreas livres e estudos de prevalência (CAMARGOS et al., 2007 e GUTIÉRREZ et al., 2009).

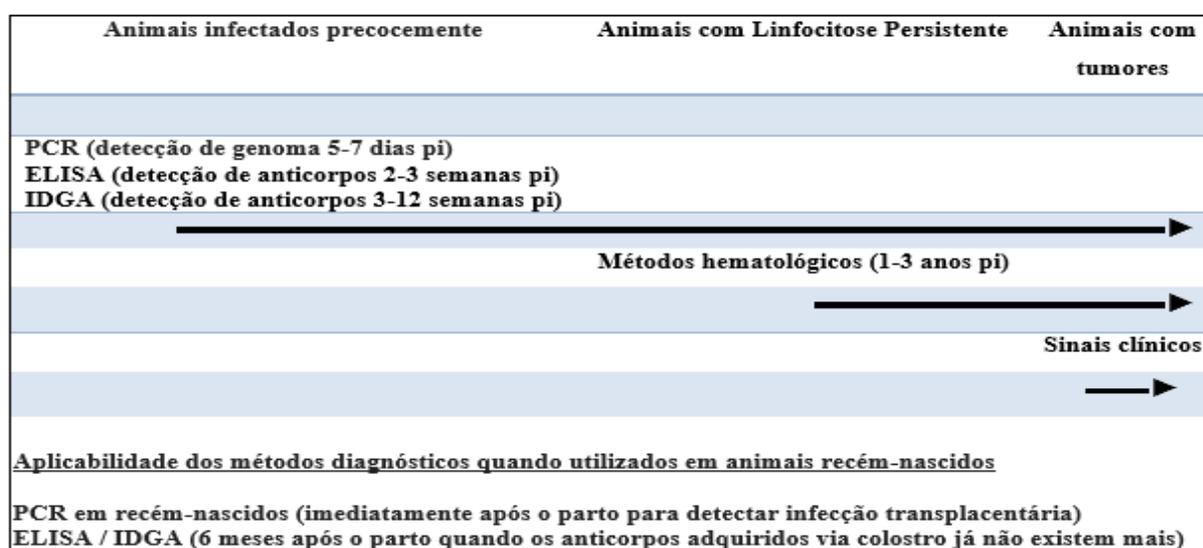
O princípio da IDGA é a precipitação do complexo antígeno anticorpos em meio semissólido de gel de agarose, com a formação de linhas de complexos insolúveis ou precipitados que podem ser visualizados com o auxílio de luz indireta contra um fundo escuro. (FLORES,2007; RODRIGUES et al., 2014). O uso da glicoproteína gp51 do envelope nos testes atuais de IDGA contribuem para um ensaio mais sensível para a identificação de animais infectados pelo BLV. A resposta a gp51 é robusta, com o aparecimento precoce dos anticorpos, de forma mais consistente e com a produção de títulos mais elevados do que aqueles produzidos contra a proteína do capsídeo viral p24 (EFSA, 2015). Essa técnica é de simples execução, com boa sensibilidade, alta especificidade e baixo custo, justificando a ampla utilização do teste (REBHUN, 2000 e MATOS et al., 2005). Como desvantagem pode apresentar reações inespecíficas e sensibilidade limitada (FLORES, 2007). Também possui limitações associadas à repetibilidade, leitura subjetiva podendo gerar erros na interpretação dos resultados e tempo prolongado para a obtenção dos resultados (RODRIGUES et al., 2014). Possíveis falsos negativos podem ocorrer, especialmente quando ocorrem baixos títulos de anticorpos, principalmente em casos de infecções recentes e animais com baixa resposta imune (REBHUN, 2000). O método de IDGA pode não detectar os títulos de anticorpos no período periparto (de seis semanas antes até duas semanas após o parto), em função dos anticorpos maternos transferidos via colostro (REBHUN, 2000; RODRIGUES et al., 2014).

O ELISA é fundamentado no uso de antígeno ou anticorpo em microplacas de fase sólida, seguida de incubação com o soro teste. Os ELISAs indireto ou de bloqueio e kits para amostras de soro ou leite estão disponíveis comercialmente (OIE, 2018a). Quando comparado ao IDGA, o ELISA apresenta uma sensibilidade mais elevada e possibilita uma leitura objetiva, com o processamento de grande número de amostras de forma simultânea e com resultados em poucas horas. O ELISA também é vantajoso pois é indicado para analisar amostras de leite de tanque e testes individuais (MATOS, 2005 e REBHUN, 2000). Entretanto possui como desvantagem a necessidade de importação dos kits ELISA, tornando o processo dispendioso e normalmente demorado, o que ainda dificulta o uso da técnica em maior escala no Brasil (RESENDE, 2017).

Atualmente, a PCR em tempo real é o método mais rápido e sensível para a detecção do VLB. Porém, Dias et al., (2012) aponta que a PCR convencional apresenta sensibilidade semelhante a IDGA para o diagnóstico da LEB. As PCRs convencionais são baseadas em

primer sequências do gene env, codificando para gp51 e o método em tempo real geralmente é baseado na detecção do gene pol. A aplicabilidade da técnica é limitada pois seu uso é restrito aos laboratórios especializados em virologia molecular, normalmente com custos operacionais mais elevados e com procedimentos operacionais mais rigorosos para garantir a validade dos resultados do teste, sendo normalmente utilizado em pesquisas ou de forma complementar à sorologia, como teste confirmatório em laboratórios de referência (LEITE et al., 2013; OIE, 2018a).

A aplicabilidade dos métodos diagnósticos levando em consideração as várias fases da infecção pelo BLV podem ser melhor compreendidas observando a Figura 3.



**Figura 3.** Métodos diagnósticos aplicáveis durante os vários estágios da infecção pelo BLV. (Fonte: Elaborado pelo autor, a partir de EFSA, 2015).

### Importância Econômica

A leucose enzoótica bovina é reconhecida como um importante problema de saúde animal em todo o mundo, afetando negativamente a produção e o comércio nacional e internacional de animais, além de possíveis impactos na saúde humana. Essa doença ocasiona grandes perdas econômicas devido a queda na produção de leite, descarte precoce e eliminação de animais de alto valor zootécnico, barreiras sanitárias ocasionando restrições às exportações, além das perdas decorrente de condenações de carcaças com tumores.

Ott et al. (2003) estimaram as perdas econômicas da indústria leiteira nos Estados Unidos. O estudo utilizou um modelo de regressão multivariável e analisou mais de 25 mil vacas com 24 meses ou mais de idade provenientes de 976 rebanhos que tinham disponíveis os

dados completos de produção. Quando comparados com rebanhos negativos, os rebanhos com vacas com teste positivo produziram 3% menos leite. A redução média no valor de produção foi de 2,7% por vaca de rebanhos positivos em relação aos animais de rebanhos negativos. As perdas ocasionadas pelo BLV podem parecer baixas, no entanto, quando analisadas por animal positivo em rebanhos que podem ter até 100% das vacas positivas, os custos se tornam importantes. Assim, a redução do valor de produção associada a vacas positivas para BLV pode tornar difícil ou até inviabilizar um retorno adequado aos criadores com rebanhos com alta taxa de positividade.

Para a indústria de laticínios como um todo, a soropositividade ocasiona prejuízo para os produtores na ordem de US \$ 285 milhões e US \$ 240 milhões para os consumidores. Essa estimativa foi baseada na redução de produção das vacas em rebanhos infectados pelo BLV, usando como base de cálculo a proporção padrão de elasticidade-preço do fornecimento de leite em nível de fazenda e a elasticidade-preço da demanda de leite no nível da fazenda, considerando os efeitos deletérios da infecção pelo BLV que ocasionou a redução do equilíbrio da demanda e oferta associados à redução da produção de leite em cerca de 0,7%, ocasionado as perdas descritas (OTT et al, 2003).

Um estudo canadense demonstrou que vacas de primeira lactação soropositivas para LEB tinham um maior risco de apresentar intervalos de parto prolongados em comparação com vacas soronegativas para LEB (VANLEEUEWEN et al., 2010). Sendo que o maior efeito sobre os custos foi devido ao efeito sobre a produção de leite (CHI et al., 2002)

Também no Canadá, Nekouei et al (2016), estimaram que bovinos infectados pelo BLV percam, ao longo da vida, o equivalente a soma da produção de leite correspondente a 305 dias de produção. Os efeitos do BLV ao longo da vida sobre a produção total de leite indicam que os animais infectados com 2 a 3 lactações tiveram maior perda de produção do que os animais com mais de 3 lactações (NEKOU EI et al., 2016). Rajão et al (2014), estimaram redução na produção leiteira em Minas Gerais, demonstrando significativas perdas econômicas, especialmente para pequenos produtores.

### **Controle da Leucose Enzoótica Bovina**

Os impactos econômicos causados pela LEB demonstram de maneira evidente a importância dos programas de controle da doença, visto que é uma doença duradoura causada por um retrovírus que mantém os animais permanentemente infectados. Atualmente não existem vacina, nem tratamento eficaz que possibilite o controle da doença. Desta forma, a

prevenção é realizada através de medidas profiláticas, controle e erradicação, sendo importante e muitas vezes vantajosa economicamente para produtores.

Programas de controle da doença já são realizados desde 1980 em diversos países da União Europeia tendo a Austrália Ocidental e 21 países no mundo erradicado com sucesso o BLV de seus rebanhos (BARTLETT et al, 2014). Os potenciais benefícios de sistemas de vigilância direcionados para doenças crônicas também podem ser observados em países do norte da Europa que estão oficialmente livres de doenças crônicas, incluindo a LEB. Nos programas de controle de doenças crônicas são comumente observadas práticas de exigência de testes diagnósticos no momento da aquisição de gado, embriões ou sêmen, além do uso de testes direcionados para a detecção de agentes patogênicos no leite (WAPENAAR, W. et al, 2017).

No Brasil ainda não existe programa oficial de controle da LEB, entretanto o MAPA impõe algumas restrições para a importação de animais soropositivos.

As medidas de controle descritas em diversos estudos foram: o uso luvas de palpação ou de inseminação com trocas frequentes entre animais, a prática da inseminação artificial e transferência de embriões com doadores e touros livres de BLV, o controle de insetos principalmente nas áreas de manejo e controle de vetores artrópodes, entre outras.

Outro importante manejo é a remoção dos animais infectados em rebanhos pequenos ou com baixa prevalência, porém para rebanhos com alta prevalência a melhor opção é separar o rebanho em positivo e negativo (BRUNNER et al.,1997). Deve-se estabelecer um fluxo de circulação dos animais, seguindo dos negativos para positivos. (PELZER et al., 1993). É possível reduzir drasticamente ou mesmo eliminar a infecção do rebanho após duas a três séries de testes IDGA, com intervalo de 30 a 60 dias entre testes e a remoção de animais reagentes (JOHNSON e KANEENE 1992).

Medidas de controle e higienização adequada do material utilizado para práticas como vacinação, aplicação de medicamentos (agulha individual), descorna e inseminação. Utilização de técnicas alternativas e de equipamentos eletrônicos ou de combustão de gás em vez de equipamentos cirúrgicos (BARTLETT et al., 2014; HERRERA et al., 2011; RODRÍGUEZ et al., 2011). O uso do colostro livre do BLV é uma importante medida no controle, prevenindo a transmissão vertical (LEUZZI JUNIOR, 2001), e uma das formas de inativar esse vírus é através da pasteurização (BAUMGARTENER et al., 1976) ou utilizando ciclos de congelamento e descongelamento que permitam a inativação do BLV presente no colostro. (KANNO et al., 2014).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL:**

Determinar a infecção pelo BLV e caracterizar os fatores de risco associados à soropositividade dos rebanhos no Distrito Federal, descrevendo a atual situação epidemiológica da infecção.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Estimar a prevalência de focos de infecção pelo BLV no Distrito Federal;
- Estimar a prevalência da infecção da BLV em fêmeas bovinas adultas no Distrito Federal;
- Identificar os fatores de risco associados à introdução e transmissão da doença nos rebanhos bovinos do Distrito Federal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRINO, B.; DIAS, F. C.; OLIVEIRA, M. C. et al. Herpesvirus bovino associado à diarreia viral bovina e à leucose enzoótica bovina. **Ars Veterinaria**, v. 17, n. 3, p. 169-174, 2011.

ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H. et al. (Ed.). **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. John Wiley & Sons, 2008.

APHIS. Bovine Leukosis Virus (BLV) on U.S. Dairy Operations, 2007. United States department of agriculture; 2008.

AZEDO, M. R.; BLAGITZ, M. G.; SOUZA, F. N. et al. Avaliação funcional de monócitos de bovinos naturalmente infectados pelo vírus da leucose bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1131-1140, 2011.

AZEDO, M. R.; MASSOCO, C. D. O.; BLAGITZ, M. G. et al. Influência da infecção pelo vírus da Leucose enzoótica bovina no metabolismo oxidativo de leucócitos circulantes. **O Biológico**, v. 69, n. 2, p. 114, 2007.

AZEDO, M. R.; OLIVEIRA MASSOCO, C.; BLAGITZ, M. G. et al. Metabolismo oxidativo de leucócitos em animais infectados pelo Vírus da Leucemia Bovina. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 2, p. 93-101, 2012.

BALDACCHINO, F.; DESQUESNES, M.; MIHOK, S. et al. Tabanids: Neglected subjects of research, but important vectors of disease agents!. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 28, p. 596-615, 2014.

BARROS FILHO, I. R.; GUIMARÃES, A. K.; BIONDO, A. W. et al. Prevalência da leucose enzoótica em bovinos leiteiros criados na região metropolitana de Curitiba–Paraná. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 513-518, 2009.

BARROS FILHO, I. R.; GUIMARÃES, A. K.; SPONCHIADO, D. et al. Soroprevalência de anticorpos para o vírus da leucose enzoótica em bovinos criados na região metropolitana de Curitiba, Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 511-515, 2010.

BARTLETT, P. C.; SORDILLO, L. M.; BYREM, T. M. et al. Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 244, n. 8, p. 914-922, 2014.

BAUMGARTENER, L.; OLSON, C.; ONUMA, M. Effect of pasteurization and heat treatment on bovine leukemia virus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 169, n. 11, p. 1189-1191, 1976.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; DIAS, W. M. C.; SOUZA, R. M. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em animais da raça simental, criados no estado de São Paulo. **Ars Veterinaria**, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2006.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; DIAS, W. M. C.; SOUZA, R. M. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Simental, criados no Estado de São Paulo. **Ars Veterinaria**, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2008.

BOLLINGER, O. Beiträge zur vergleichenden und experimentellen Pathologie der constitutionellen und Infectionskrankheiten. **Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin**, v. 59, n. 3-4, p. 341-367, 1874.

BRAGA, F. M.; LAAN, C. W. V.; SCHUCH, L. F. et al. Infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (BLV) Enzootic bovine leukosis infection (BLV). **Ciência Rural**, v. 28, n. 1, p. 163-172, 1998.

BRENNER, J.; VAN-HAAN, M.; SAVIR, D.; TRAININ, Z. The implication of BLV infection in the productivity reproductive capacity and survival rate of a dairy cow. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 22, n. 3, p. 299-305, 1989.

BUEHRING, G. C.; SHEN, H. M.; JENSEN, H. M. et al. Exposure to bovine leukemia virus is associated with breast cancer: a case-control study. **PloS one**, v. 10, n. 9, p. e0134304, 2015.

BURMEISTER, T.; SCHWARTZ, S.; HUMMEL, M. et al. No genetic evidence for involvement of Deltaretroviruses in adult patients with precursor and mature T-cell neoplasms. **Retrovirology**, v. 4, n. 1, p. 11, 2007.

CAMARGOS, M.F.; MELO, C. B.; LEITE, R. C. et al. Frequência de soropositividade paera a leucose enzoótica bovina em rebanhos em Minas Gerais. **Cienc Vet Trop**, v.5, p. 20-6, 2002.

CAMARGOS, M.F.; PEREDA, A.; STANCEK, D. et al. Molecular characterization of the env gene from Brazilian field isolates of Bovine leukemia virus. *Virus Genes*, v.34, n.3, p.343-350, 2007.

CAMARGOS, M. F.; REIS, J. K. P.; LEITE, R. C. Bovine leukemia virus. **Virus Reviews & Research**, v. 9, n. 1, p. 44-59, 2004.

CARVALHO, L.; BENESI, F. J.; BIRGEL JÚNIOR, E. H. et al. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Holandesa Preto e Branca e zebuínos da raça Nelore, criados no Polo Regional de Londrina, Estado do Paraná. **Semina**, v. 17, n. 1, p. 53-57, 1996.

CHETHANOND, U. S. The epidemiology of enzootic bovine leukosis in dairy cattle in New Zealand: a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Veterinary Science at Massey University. **Tese de Doutorado**. Massey University. 1999.

CHI, J.; VANLEEUVEN, J. A.; WEERSINK, A. et al. Management factors related to seroprevalences to bovine viral-diarrhoea virus, bovine-leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum* in dairy herds in the Canadian Maritimes. **Preventive veterinary medicine**, v. 55, n. 1, p. 57-68, 2002.

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

DIAS, N. L.; FONSECA JÚNIOR, A. A.; RODRIGUES, D. S. et al. Enzootic bovine leukosis real time PCR. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1434-1439, 2012.

DUCREUX, F.; ARRIETA-BOLAÑOS, E. R.; JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, C. et al. Estudios sobre leucosis viral bovina en ganado *Bos indicus* en Costa Rica. Studies on bovine leukosis in *Bos indicus* cattle in Costa Rica. **Revista de Ciencias Veterinarias (Heredia)**, v. 9, n. 2-3, p. 95-99, 1987.

EUROPEAN PANEL ON ANIMAL HEALTH AND WELFARE (EPAHW). Scientific opinion on enzootic bovine leukosis. **EFSA J.** 13:63, 2015.

FELISBERTO, L. S.; ALMEIDA, I. C.; IPOLITO, D. P. et al. Soroepidemiologia da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina em rebanhos leiteiros da região do Caparaó/ES. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 15, n. Suppl 2, p. 287, 2017.

FENNER, J. F., GIBBS, E. P. J.; MURPHY, F. A. et al. **Veterinary Virology**. 2.ed. San Diego: Academic Press. Cap. 33: Retroviridae: p. 561-595, 1993.

FERNANDES, C. H. C.; MELO, L. E. H., TENÓRIO, T. D. S. et al. Soroprevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros da região Norte do Estado do Tocantins, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 76, n. 3, p. 327-334, 2009.

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

FLORES, E. F. Virologia veterinária. **Santa Maria: UFSM**, p. 888, 2007.

FLORINS, A.; BOXUS, M.; VANDERMEERS, F. et al. Emphasis on cell turnover in two hosts infected by bovine leukemia virus: a rationale for host susceptibility to disease. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 125, n. 1-2, p. 1-7, 2008.

FLORINS, A.; GILLET, N., BOXUS, M. et al. Even attenuated bovine leukemia virus proviruses can be pathogenic in sheep. **Journal of virology**, v. 81, n. 18, p. 10195-10200, 2007.

GILLET, N.; FLORINS, A.; BOXUS, M. et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. **Retrovirology**, v. 4, n. 1, p. 18, 2007.

GILLET, N. A.; WILLEMS, L. Whole genome sequencing of 51 breast cancers reveals that tumors are devoid of bovine leukemia virus DNA. **Retrovirology**, v. 13, n. 1, p. 75, 2016.

GRAVES D. C.; JONES L. V. Early syncytium formation by bovine leukemia virus. **Journal of Virology**, 38, 1055-1063, 1981.

GUTIÉRREZ, G.; ALVAREZ, I.; FONDEVILA, N. et al. Detection of bovine leukemia virus specific antibodies using recombinant p24-ELISA. **Veterinary microbiology**, v. 137, n. 3-4, p. 224-234, 2009.

HAGHPARAST A.; TABATABAEI ZADEH, S. E.; MOHAMMADI, G. R. Prevalence of

bovine leukemia virus (BLV) antibodies in bulk tank milk of dairy cattle herds of Mashhad area, northeast of Iran. **J Anim Vet Adv**. 11(2):276–280, 2012.

HERRERA, D. Y. H.; TERRANOVA, A. M. P.; BENAVIDES, J. A. et al. Detección del virus de la leucosis bovina en ganado criollo colombiano mediante PCR-anidado. **Acta Agronómica**, v. 60, n. 4, p. 312-318, 2011.

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

HOPKINS, S. G.; EVERMANN, J. F.; DIGIACOMO, R. F. et al. Experimental transmission of bovine leukosis virus by simulated rectal palpation. **The Veterinary Record**, v. 122, n. 16, p. 389-391, 1988.

IGAKURA, T.; STINCHCOMBE, J. C.; GOON, P. K. et al. Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. **Science**, v. 299, n. 5613, p. 1713-1716, 2003.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV), disponível em: [https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode\\_id=20174998](https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=20174998); acessado em: 27/08/2018 às: 22:40h.

JIMBA, M.; TAKESHIMA, S. N.; MATOBA, K. et al. BLV-CoCoMo-qPCR: Quantitation of bovine leukemia virus proviral load using the CoCoMo algorithm. **Retrovirology**, v. 7, n. 1, p. 91, 2010.

JIMBA, M.; TAKESHIMA, S. N.; MURAKAMI, H. et al. BLV-CoCoMo-qPCR: a useful tool for evaluating bovine leukemia virus infection status. **BMC veterinary research**, v. 8, n. 1, p. 167, 2012.

JOHNSON, R.; KANEENE, J. B. Bovine leukemia virus. I. Descriptive epidemiology, clinical manifestations, and diagnostic tests. **The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)**, 1991.

JOHNSON, R.; KANEENE, J. B. Bovine leukemia virus and enzootic bovine leukosis. **Vet. Bull.** v. 62, p. 287–312. 1992.

JULIANO, R. S.; FIORAVANTI, M. C. S.; DE BRITO, W. M. E. D. et al. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, n. 3, p. 289-295, 2014.

KANNO, T.; ISHIHARA, R.; HATAMA, S. et al. Effect of freezing treatment on colostrum to prevent the transmission of bovine leukemia virus. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 76, n. 2, p. 255-257, 2014.

KASSAR, T. C. Leucose enzoótica bovina: uso de peptídeo sintético derivado da glicoproteína do envelope viral no imunodiagnóstico. **Tese de doutorado**. UFMG. 2018.

- KETTMANN, R.; BURNY, A.; CALLEBAUT, I. et al. Bovine leukemia virus. In: **The retroviridae**. Springer, Boston, MA, 1994. p. 39-81.
- KINCAID, R. P.; BURKE, J. M.; SULLIVAN, C. S. RNA virus microRNA that mimics a B-cell oncomiR. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 8, p. 3077-3082, 2012.
- KOBAYASHI, S.; TSUTSUI, T.; YAMAMOTO, T.; et al. Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan. **BMC Veterinary Research**, v. 6, n. 1, 2010.
- KOBAYASHI, S.; HIDANO, A.; TSUTSUI, T. et al. Analysis of risk factors associated with bovine leukemia virus seropositivity within dairy and beef breeding farms in Japan: a nationwide survey. **Research in veterinary science**, v. 96, n. 1, p. 47-53, 2014.
- KOHARA, J.; KONNAI, S.; ONUMA, M. Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 1, p. 25-30, 2006.
- KURTINAITIENE, B.; AMBROZAITE, D.; LAURINAVICIUS, V. et al. Amperometric immunosensor for diagnosis of BLV infection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 23, n. 10, p. 1547-1554, 2008.
- LASSAUZET, M. L.; THURMOND, M. C.; JOHNSON, W. O. et al. 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, 1990.
- LAWSON, J. S.; SALMONS, B.; GLENN, W. K. Oncogenic Viruses and Breast Cancer: Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV), Bovine Leukemia Virus (BLV), Human Papilloma Virus (HPV), and Epstein–Barr Virus (EBV). **Frontiers in oncology**, v. 8, p. 1, 2018.
- LEE, E.; KIM, E. J.; JOUNG, H. K. et al. Sequencing and phylogenetic analysis of the gp51 gene from Korean bovine leukemia virus isolates. **Virology journal**, v. 12, n. 1, p. 64, 2015.
- LEE, E.; KIM, E. J.; RATTHANOPHART, J. et al. Molecular epidemiological and serological studies of bovine leukemia virus (BLV) infection in Thailand cattle. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 41, p. 245-254, 2016.
- LEISERING, A. Hypertrophy der Malpighischen Körperchen der Milz. **Bericht über das Veterinarwesen im Königreich Sachsen**, v. 16, p. 15-16, 1871.
- LEITE, R. C.; LOBATO, Z. I. P.; CAMARGOS, M. F. Leucose enzoótica bovina. **Rev CFMV**, v. 24, p. 20-28, 2001.
- LEITE, R. C.; MODENA, C. M.; MOREIRA, E. C. et al. Evolução clínica da leucose enzoótica bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 47-57, 1984.
- LEITE R. C.; REIS J. K. P.; OLIVEIRA A. P. et al. Retrovírus dos animais domésticos. **Vet Zootec**. 20:73-92, 2013.

LEUZZI JÚNIOR, L. Á.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. Enzootic bovine leukosis and Bovine leukemia virus/Leucose enzoótica bovina e vírus da leucemia bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, 2001.

MERKT, H.; GIUDICE, J. C. O.; MÜLLER, J. A. Leucose bovina: concepção moderna e primeira verificação da doença no Rio Grande do Sul. **Revista da Escola de Agronomia e Veterinária do Rio Grande do Sul**, v. 2, n. 3, p. 7-19, 1959.

MILLER, J. M.; MILLER, L. D., OLSON, C. et al. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 43, n. 6, p. 1297-1305, 1969.

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

MODENA, C. M. Leucose enzoótica bovina: I-comparação entre métodos de diagnóstico/II-evolução sorológica de bezerros/III-interferência com a vacina anti-febre aftosa. UFMG. **Dissertação de Mestrado**, 1981.

MODENA, C. M.; GOUVEIA, A. M. G.; AZEVEDO, N. A. et al. Leucose Enzoótica Bovina: I-Prevalência em rebanhos de alta linhagem no estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 36, n. 1, p. 39-45, 1984.

MOUSAVI, S.; HAGHPARAST, A.; MOHAMMADI, G. et al. Prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection in the northeast of Iran. In: **Veterinary research forum: an international quarterly journal**. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, p. 135, 2014.

MURAKAMI, H.; YAMADA, T.; SUZUKI, M. et al. Bovine leukemia virus integration site selection in cattle that develop leukemia. **Virus Res.**, v.156, n.1-2, p.107–112, 2011.

MURAKAMI, K.; KOBAYASHI, S.; KONISHI, M. et al., Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2009–2011. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 8, p. 1123-1126, 2013.

MURPHY, F.; GIBBS, E.; HORZINEK, M. et al. **Veterinary Virology**, California: Academic Press, 3 ed., p.382 – 383, 1999.

NEKOU EI, O. A. Study of prevalence, risk factors, and lifetime impacts of infection with bovine leukemia virus in the Canadian dairy industry. **Tese de Doutorado**. University of Prince Edward Island, 2015a.

NEKOU EI, O.; VANLEE UWEN, J.; SANCHEZ, J. et al. Herd-level risk factors for infection with bovine leukemia virus in Canadian dairy herds. **Preventive veterinary medicine**, v. 119, n. 3-4, p. 105-113, 2015b.

NEKOU EI, O.; VANLEE UWEN, J.; STRYHN, H. et al. Lifetime effects of infection with bovine leukemia virus on longevity and milk production of dairy cows. **Preventive veterinary medicine**, v. 133, p. 1-9, 2016.

OIE – World Organisation for Animal Health – **OIE Terrestrial Manual, Enzootic Bovine Leukosis**, chapter. 3.4.9, 2018a.

OIE – World Organisation for Animal Health – **OIE Terrestrial Animal Health Code, Enzootic Bovine Leukosis**, chapter. 11.6, 2018b.

OLIVEIRA, A.R.; BARRETO, C., MERICHELLO, D. et al. Epidemiologia da leucose bovina: ocorrência de anticorpos em várias faixas etárias. **R. Bras. Méd. Vet.**, v.19, n.6, p. 258-261, 1997.

OLIVEIRA, P. M. P. N.; OLIVEIRA, F. G., LEITE, R. C. et al. Retrovírus dos animais domésticos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, p. 73-92, 2013.

ORTEGA, D. O.; SANCHEZ, A.; TOBON, J. et al. Seroprevalence and risk factors associated with bovine leukemia virus in Colombia. **Journal of Veterinary Medicine and Animal Health**, v. 8, n. 5, p. 35-43, 2016.

OTT, S. L.; JOHNSON, R. S. J. W.; WELLS, S. J. Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. **Preventive veterinary medicine**, v. 61, n. 4, p. 249-262, 2003.

PEIXOTO, S. V. Fatores de risco para a infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina no sítio histórico e patrimônio cultural Kalunga. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Pós-graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2016.

PELZER, K. D.; SPRECHER, D. J. Controlling BLV infection on dairy operations. **Veterinary medicine**, 1993.

PEREIRA, A. L. M.; COSTA, A. F.; VESCHI, J. L. A. et al. Soroprevalência da leucose enzoótica bovina-revisão de literatura. **Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2013.

PERZOVA, R. N.; LOUGHRAN JR. T. P.; DUBE, S. et al. Lack of BLV and PTLV DNA sequences in the majority of patients with large granular lymphocyte leukaemia. **British journal of haematology**, v. 109, n. 1, p. 64-70, 2000.

PINHEIRO JUNIOR, J. W.; SOUZA, M. E.; PORTO, W. J. N. et al. Epidemiologia da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (LEB). **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 258-264, 2013.

POLAT, M.; OHNO, A.; TAKESHIMA, S. N. et al. Detection and molecular characterization of bovine leukemia virus in Philippine cattle. **Archives of virology**, v. 160, n. 1, p. 285-296, 2015.

POLAT, M.; TAKESHIMA, S.; AIDA, Y. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus. **Virology journal**, v. 14, n. 1, p. 209, 2017.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, cap. 61. p. 346-357, 2005.

RAVAZZOLO, A. P.; COSTA, U. M. Retroviridae. **Virologia Veterinária**, v. 31, p. 819-823, 2007.

RESENDE, C. F. Padronização de Elisa indireto para diagnóstico da leucose enzoótica bovina. **Dissertação (mestrado)**. UFMG, 2017.

RODRIGUES, L. S. A.; ARAUJO, M. S.; DE OLIVEIRA GUEDES, H. et al. Avaliação das causas de descarte do rebanho leiteiro na unidade de produção de leite da EVZ/UFG do ano de 2012 a 2014. **Encontro científico da Escola de Veterinária e Zootecnia na Universidade Federal de Goiás**, p. 1744, 2014.

RODRÍGUEZ, S. M.; FLORINS, A.; GILLET, N. et al. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: lessons for HTLV. **Viruses**, v. 3, n. 7, p. 1210-1248, 2011.

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

RAJÃO, D. S.; HEINEMANN, M. B.; REIS, J. K. P. et al. Effects of bovine leukemia virus infection on crossbred and purebred dairy cattle productive performance in Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, 2014.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. et al. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Guanabara Koogan, 2002.

RANGEL, N.M.; MACHADO, A.V. Contribuição à oncologia comparada em Minas Gerais. Arquivos da Escola Superior de Veterinária da Faculdade Estadual de Minas Gerais, v.1, p.83-96, 1943.

REBHUN, W.C. Doenças infecciosas variadas. In: **Doenças do Gado Leiteiro**. São Paulo: Ed. Roca. p.577-612, 2000.

ROBERTS, D. H.; LUCAS, M. H.; WIBBERLEY, G. et al. Survival of bovine leukosis virus in bovine whole blood, serum and plasma. **Journal of biological standardization**, v. 9, n. 4, p. 469-473, 1981.

RODRÍGUEZ, S. M.; FLORINS, A.; GILLET, N. et al. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: lessons for HTLV. **Viruses**, v. 3, n. 7, p. 1210-1248, 2011.

RODRÍGUEZ, S. M.; GOLEMBA, M. D.; CAMPOS, R. H. et al. Bovine leukemia virus can be classified into seven genotypes: evidence for the existence of two novel clades. **Journal of general virology**, v. 90, n. 11, p. 2788-2797, 2009

RUIZ, V.; PORTA, N. G.; LOMÓNACO, M. et al. Bovine Leukemia Virus infection in neonatal calves. Risk factors and control measures. **Frontiers in veterinary science**, v. 5, p. 267, 2018.

SAGATA, N.; YASUNAGA, T., OHISHI, K. et al. Comparison of the entire genomes of bovine leukemia virus and human T-cell leukemia virus and characterization of their unidentified open reading frames. **The EMBO journal**, v. 3, n. 13, p. 3231-3237, 1984.

SAMAGH, B. S.; KELLAR, J. A. Seroepidemiological survey of bovine leukaemia virus infection in Canadian cattle. **Current topics in veterinary medicine and animal science**, 1982.

SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. D. M.; NASCIMENTO, S. A. et al. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à leucose enzoótica bovina em rebanhos da bacia leiteira do estado do Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.3, p.351-358, jul./set., 2011.

SANTOS, J. A.; PINHEIRO, P. V.; SILVA, L. J. Linfossarcoma com lesões da lingua e câmaras cardíacas em bovinos. **Anais da Escola Fluminense de Medicina Veterinária**, v.2, p.1-8, 1959.

SANTOS, R. L. e ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2ª Edição, Editora Roca, Pág. 168-169, 459. 2016.

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

SIEDAMGROTZKY, O.; HOFMEISTER, V. **Anleitung zur mikroskopischen und chemischen Diagnostik der Krankheiten der Haustiere für Thierärzte und Landwirthe**. Schönfeld, 1876.

SILVA, R. C.; FONTANA, I.; MEIRELLES, F. C. et al. 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.

SUZAN, Victor M. et al. Prevalence of bovine herpesvirus-1, parainfluenza-3, bovine rotavirus, bovine viral diarrhea, bovine adenovirus-7, bovine leukemia virus and bluetongue virus antibodies in cattle in Mexico. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 31, n. 3-4, p. 125-132, 1983.

TOSTES, R. A. Situação da Leucose Bovina no Brasil: uma revisão. In: **Colloquium Agrariae**. p. 42-50. 2005.

VANLEEUVEN, J. A.; FORSYTHE, L., TIWARI, A. et al. Seroprevalence of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and Neospora caninum in dairy cattle in Saskatchewan. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 46, n. 1, p. 56, 2005.

VANLEEUVEN, J. A.; HADDAD, J. P., DOHOO, I. R. et al. Associations between reproductive performance and seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral-diarrhea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and Neospora caninum in Canadian dairy cows. **Preventive veterinary medicine**, v. 94, n. 1-2, p. 54-64, 2010.

WAPENAAR, W.; ARCHER, S.; REMNANT, J. et al. Control of infectious diseases in dairy cattle. 2017.

WEBER, A. F.; MOON, R. D.; SORENSEN, D. K. et al. Evaluation of the stable fly (*Stomoxys calcitrans*) as a vector of enzootic bovine leukosis. **American journal of veterinary research**, v. 49, n. 9, p. 1543-1549, 1988.

WEIBLEN, R. A. fatal leucose. **Sanidade do Gado Leiteiro**. Tortuga/Embrapa- CNGL. 1991.

YANG, Y.; Fan, W., Mao, Y., et al. Bovine leukemia virus infection in cattle of China: association with reduced milk production and increased somatic cell score. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 5, p. 3688-3697, 2016.

ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. **Pathologic basis of veterinary disease expert consult**. Elsevier Health Sciences, 2016.

ZHANG, Rong et al. Lack of association between bovine leukemia virus and breast cancer in Chinese patients. **Breast Cancer Research**, v. 18, n. 1, p. 101, 2016.

## CAPÍTULO II

(Escrito na forma de artigo para publicação)

### **Prevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da leucemia bovina no Distrito Federal, Brasil.**

#### **RESUMO**

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma doença infecciosa crônica causada pelo Vírus da Leucemia Bovina (BLV) e está distribuída por todos os continentes. A doença gera perdas econômicas consideráveis devido à redução na produção de leite, limitações nas exportações, entre outros prejuízos. Neste trabalho, buscou-se a caracterização da situação epidemiológica da infecção pelo BLV no Distrito Federal, Brasil. Para o cálculo da prevalência e estimativa dos fatores de risco associados à infecção dos rebanhos bovinos locais foram estratificados de acordo com o seu número de fêmeas adultas em menores e maiores, estes últimos compostos por 15 ou mais fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses. Em cada rebanho sorteado, foram selecionados considerando uma amostragem aleatória sistemática um número pré-estabelecido de animais e realizada a coleta de sangue para exames laboratoriais. No total foram amostrados 336 rebanhos e testados 1.644 animais. O ensaio diagnóstico utilizado foi a imunodifusão em gel de ágar (IDGA). A prevalência aparente de rebanhos e de animais foi estimada em 71,35% [IC95% 66,30 – 76,39] e 37,81% [IC95% 26,91 – 48,71], respectivamente. A proporção de animais infectados nas propriedades positivas foi em média de 60,06%. O modelo de regressão logística multivariável ( $p < 0.05$ ) indicou o tamanho maior de rebanho e a presença de ordenha como fatores associados à infecção pelo BLV. A subpopulação dos rebanhos maiores foi associada à uma OR de 4.09 [IC95% 2.12 – 7.90]. A variável presença de ordenha, está diretamente relacionada às propriedades com alguma produção leiteira. Os rebanhos que são submetidos à ordenha apresentam em média uma chance de 3.08 [IC95% 1.79 – 5.29], vezes maior de apresentar LEB em relação àqueles rebanhos que não são ordenhados. Os resultados demonstraram que a infecção pelo BLV se encontra amplamente distribuída no Distrito Federal, com alta prevalência. As características produtivas destacadas pela análise de fatores de risco sugerem que a ocorrência da doença é maior nas propriedades com mais de 15 fêmeas adultas e com manejo mais especializado na produção leiteira, que favorecem o maior contato direto entre os animais infectados e suscetíveis.

Medidas educativas e sanitárias específicas devem ser implementadas para diminuir a disseminação do vírus, mitigando as perdas econômicas na bovinocultura de leite, com foco nesta tipologia produtiva.

Palavras chave: Leucose enzoótica bovina, BLV, prevalência aparente, fatores de risco, Distrito Federal.

## ABSTRACT

Enzootic Bovine Leukosis (EBL) is a chronic infectious disease caused by the bovine leukemia virus (BLV) and is widely distributed around the world. The disease generates considerable economic losses due to the reduction in milk production, restriction on exportation, among other losses. In this study, the characterization of the epidemiological situation of the EBL in the Federal District, Brazil was sought. In order to calculate the prevalence and estimate the risk factors associated with the BLV infection the local herds were stratified according to their number of adult females in small and large, the latter composed by 15 or more females aged 24 months or more. In each random selected herd, a pre-established number of animals were selected for systematic random sampling and blood samples were collected for the standard laboratorial test agar gel immunodiffusion (AGID). In total, 336 herds were sampled, and 1,644 animals were tested. The apparent prevalence of herds and animals was estimated in 71.35% [95% CI: 66.30 - 76.39] and 37.81% [95% CI: 26.91 - 48.71], respectively. The proportion of infected animals in positive properties was on average 60.06%. The multiple logistic regression model ( $p < 0.05$ ) indicated the largest herd size and milking as factors associated with the presence of the BLV infection. The subpopulation of the larger herds was associated with an Odds Ratio (OR) of 4.09 [95% CI 2.12 - 7.90]. The presence of milking variable is directly related to properties with some dairy production. The herds that are submitted to milking were associated with an OR of 3.08 [95% CI 1.79 - 5.29], times higher of presenting Enzootic Bovine Leukosis in relation to non-milking properties. The results demonstrated that BLV infection is widely distributed in the Federal District, with a high prevalence. The productive characteristics highlighted by the analysis of risk factors suggest that the occurrence of the infection is greater in the properties with more than 15 adult females and with more specialized management practices in the milk production, which favor a more intense direct contact between infected and susceptible animals. Specific educational and sanitary measures must be implemented to diminish the spread of the virus, mitigating the economic losses in the milk-cattle raising activities, focusing on this productive typology.

**Keywords:** Enzootic Bovine Leukosis, BLV, apparent prevalence, risk factors, Distrito Federal, Brazil.

## INTRODUÇÃO

Situado na região centro-oeste, o Distrito Federal é a menor unidade federativa brasileira, totalizando uma área de 5.779,997 km<sup>2</sup>. Em seu território, está localizada a capital do Brasil, Brasília. Atualmente apresenta a maior renda *per capita* do Brasil, estimada em R\$2.548,00 (IBGE, 2017a), assim como o maior Produto Interno Bruto *per capita* do país com R\$ 79.099,77 (IBGE, 2016). O PIB representa R\$ 235,497 bilhões posicionando o DF na 8ª posição na economia nacional (CODEPLAN-DF, 2018). Possui uma população estimada de 2.974.703 habitantes (IBGE, 2018), com o maior Índice de Desenvolvimento Humano do país de 0.824 e um elevado grau de exigência em produtos e serviços (IBGE, 2017a). No censo agropecuário de 2017 foram contabilizados aproximadamente 5,2 mil estabelecimentos agropecuários distribuídos em 25 mil ha, sendo que perto 87% das propriedades rurais têm de 10 a 50 ha dos quais 65% tem até 10 ha. No Distrito Federal a atividade agropecuária ocupa diretamente quase 22 mil pessoas (IBGE, 2017b).

Na pecuária do Distrito Federal, destaca-se a avicultura industrial que gera maior impacto no PIB do agronegócio. Na bovinocultura do Distrito Federal, a atividade leiteira se destaca, com a produção de 19 milhões de litros de leite (IBGE, 2017b). A maioria dos rebanhos de produção leiteira no Distrito Federal é composto sobretudo por pequenas propriedades, com baixa concentração de animais de raça mestiça criados semi-confinados, com média de até 10 fêmeas adulta por rebanho, com produção média geral de leite por vaca de 7,6 litros e com produção por rebanho em média 50 litros de leite por dia, sendo explorações pouco tecnificadas na sua maioria e com o trânsito interestadual de bovinos regionalizado (LICURGO, 2016; NASCIMENTO, 2016). No segmento da pecuária bovina, em 2015, o rebanho do DF era de 96.579 animais, distribuídos em 3.004 propriedades (SEAGRI-DF, 2015).

A leucose enzoótica bovina é uma doença infectocontagiosa crônica provocada por um retrovírus, conhecido como vírus da leucemia bovina (BLV). Acomete principalmente bovinos e é considerada de grande relevância para a bovinocultura de leite pois ocasiona importantes perdas econômicas devido queda na produção de leite, descarte precoce e eliminação de animais de alto valor zootécnico, além das condenações de carcaça com linfossarcomas (BARTLETT *et al*, 2014 e OTT *et al*, 2003).

Ott *et al*. (2003) estimaram as perdas econômicas da indústria leiteira nos Estados Unidos. O estudo utilizou um modelo de regressão multivariável e analisou mais de 25 mil vacas com 24 meses ou mais de idade provenientes de 976 rebanhos que tinham disponíveis os dados completos de produção. Os rebanhos com vacas positivas produziram 3% menos leite

quando comparados com rebanhos negativos. As perdas ocasionadas pelo BLV podem parecer pouco expressivas, no entanto, quando analisadas por animal positivo em rebanhos que podem ter taxas de até 100% das vacas positivas, os custos se tornam importantes. Assim, a redução do valor de produção associada a vacas positivas para BLV pode tornar difícil ou até inviabilizar um retorno adequado aos criadores com rebanhos com alta taxa de positividade. O impacto da doença na indústria de laticínios norteamericana, ocasiona prejuízo para os produtores na ordem de US \$ 285 milhões e US \$ 240 milhões para os consumidores (OTT *et al.*, 2003).

A LEB por ser uma doença de importância para o comércio internacional (OIE, 2018b), motivou vários países a adotarem programas de erradicação e medidas de controle baseadas nas abordagens “testar e eliminar” e “testar e segregação”, sendo muito bem sucedidos na Europa Ocidental, na Nova Zelândia e na Austrália Ocidental (RUIZ *et al.*, 2018.).

Medidas de controle em rebanhos onde a prevalência for alta (60-80%), visam separar o rebanho em positivo e negativo, minimizando assim a transmissão do BLV. Quando o índice é baixo o recomendado é testar e eliminar os animais positivos (BRUNNER *et al.*, 1997). Na entrada de qualquer bovino na propriedade, deverá ser realizado o exame de LEB deixando-os isolados, uma vez que em uma infecção recente o animal possa não ter anticorpos contra o VLB (MODENA *et al.*, 1983). No Brasil a LEB está relacionada na Lista de Doenças de Notificação Obrigatória do Mapa que requerem notificação mensal de qualquer caso confirmado (BRASIL, 2013).

A transmissão do BLV ocorre, sobretudo por via iatrogênica e horizontal (HOPKINS e DIGIACOMO, 1997). Vacas infectadas podem transmitir o vírus pela via transplacentária, leite e colostro sendo a ocorrência da infecção pela via vertical menos frequente (SANTOS e ALESSI, 2016). A disseminação do BLV relacionada às práticas de manejo adotadas principalmente em sistemas de criação mais intensivos (HOPKINS e DIGIACOMO, 1997).

A doença é negligenciada pela maioria dos produtores, já que 30 a 70% dos animais infectados progredem para um quadro de linfocitose persistente, resultante do aumento no número de linfócitos B circulantes por períodos prolongados e apenas 0.1 – 10% dos animais infectados, geralmente em animais acima de 3 anos de idade, desenvolvem tumores (linfossarcoma de células do tipo B) (OIE, 2018a).

Os sinais clínicos observados na LEB são determinados, em grande parte, pela localização dos tumores e os animais acometidos são descartados precocemente por outros transtornos, como infertilidade e queda na produção de leite. O aumento de linfonodos superficiais pode ser comum, mas esta hipertrofia pode também ocorrer apenas em tecidos

linfoides viscerais, que eventualmente podem ser palpados por exame retal (JOHNSON; KANEENE, 1991). Os sinais clínicos incluem distúrbios digestivos, cardiorrespiratórios, reprodutivos (vagina e útero), oftálmico (exoftalmia), inapetência, perda de peso, debilidade geral e, eventualmente, manifestações neurológicas (paresia), decorrentes do desenvolvimento do linfossarcoma (RADOSTITIS *et al.*, 2002; RAVAZZOLO e COSTA, 2007; AZEDO, 2007). Os órgãos mais acometidos são o coração, abomaso e linfonodos (MODENA, 1981). Lesões nos órgãos reprodutores são pouco frequentes (BRAGA; VAN DER LAAN, 2001; SILVA *et al.*, 2008), mesmo que todas as partes dos órgãos reprodutores possam apresentar alterações e causar infertilidade. Dependendo da fase da gestação, pode haver morte fetal, aborto ou distocia a depender do tamanho e localização das tumorações (MODENA, 1981).

O aumento da ocorrência de doenças com possível etiologia infecciosa (mastite, bronquite e problemas de casco), foi associada com a ocorrência da LEB. Brenner *et al.* (1989), encontraram uma associação positiva entre a infecção por BLV e a ausência da recuperação espontânea em casos de micose, evidenciando assim um comprometimento da resposta imune em vacas infectadas pelo vírus.

No Brasil a LEB é conhecida desde 1943 (Rangel e Machado), e tem sido demonstrada em praticamente em todo território nacional. O trânsito de animais infectados, sem os devidos cuidados sanitários, disseminou a doença pelo país (CARNEIRO *et al.*, 2003; PINHEIRO JUNIOR *et al.*, 2013). Estudos sorológicos em diversos estados brasileiros demonstraram elevados índices de prevalência de infecção pelo BLV em bovinos variando entre 5,1% (BIRGEL JUNIOR *et al.*, 2006) e 70,9% dependendo da UF do estudo (LEITE *et al.*, 1984; MEIRELLES *et al.*, 2009).

No Brasil, a prevalência da infecção pelo BLV em animais é extremamente heterogênea entre os estados, devido as diferenças metodológicas dos estudos e fatores regionais (TOSTES, 2005). Diversos estudos de prevalência realizados no país têm demonstrando o avanço da LEB e a ampla disseminação da infecção pelo BLV nos rebanhos bovinos brasileiros. A prevalência média nacional em animais variou entre 23,7% (7.862/33.000) a 37% a depender da aptidão dos rebanhos analisados, sendo que em média 58,9% (656/1.113) dos rebanhos estudados foram positivos ao teste de diagnóstico da LEB (BIRGEL JUNIOR *et al.*, 2006; FERNANDES, *et al.*, 2009; TÁVORA e BIRGEL, 1991 *apud* TOSTES, 2005). As maiores taxas de prevalência são comumente relatadas na região Sudeste e Centro-Oeste (FERNANDES *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2013).

No trabalho de Fernandes et al. (2009), que considerou para o cálculo diversas raças e sistemas de criação, foram estimadas as seguintes prevalências médias nas diversas regiões do país: 39,8% (4.821/ 12.110) no Sudeste; 23,9% no Centro-Oeste; 17% no Norte; 14,18% no Sul (2.053/14.476) e 13,86% no Nordeste (756/5.454). Em outra publicação, que utilizou como base as médias obtidas em múltiplos estudos de prevalência da LEB em bovinos leiteiros, Pereira *et al* (2013) estimaram as seguintes prevalências médias nas regiões do Brasil: Sudeste, 46,72%; Centro-Oeste, 40,13%; Sul, 34,41%; Nordeste, 29,94 e Norte, 18,30%. Ao realizar o trabalho os autores reuniram dados de todo território nacional, realizaram assim a média de diversas pesquisas brasileiras para estimar uma taxa de prevalência de animais infectados pelo BLV.

O impacto do BLV na saúde pública, especialmente na participação na patogênese do câncer de mama em humanos, ainda é pouco compreendido. Porém, tendo em vista a falta de consenso e as informações emergentes sobre a participação do BLV no câncer de mama humano, é prudente encorajar o monitoramento e a criação de programas de controle da disseminação do BLV, especialmente na bovinocultura de leite (LAWSON *et al.*, 2018).

O presente trabalho apresenta informações acerca da situação epidemiológica da LEB no Distrito Federal, visto que nesta região existem relatos sobre a ocorrência da doença (SILVA *et al.*, 2008). O estudo teve como objetivos estimar a prevalência e identificar fatores de risco associados à LEB em rebanhos bovinos e animais do DF, a fim de avaliar os possíveis impactos da doença e delinear ações de vigilância voltadas para seu controle, além de subsidiar medidas sanitárias dos criadores da região.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As amostras utilizadas neste estudo derivaram do banco de soros do inquérito soropidemiológico de brucelose e tuberculose bovina realizado pela Seagri no Distrito Federal em 2015.

As atividades de campo foram desenvolvidas no período de julho a dezembro de 2015 e incluíram a coleta de amostras biológicas dos animais sorteados e a aplicação de um questionário epidemiológico em cada propriedade amostrada com finalidade de levantar as características produtivas e tecnológicas relacionadas ao manejo produtivo e sanitário dos rebanhos do DF. As propriedades foram selecionadas aleatoriamente e distribuídas de forma proporcional à quantidade de propriedades existentes cadastradas em cada uma das cinco

unidades operacionais do serviço oficial de defesa sanitária animal do Distrito Federal. A adesão ao estudo foi voluntária.

A população-alvo do estudo foi constituída pelo conjunto das propriedades que continham rebanhos bovinos com atividade reprodutiva, ou seja, com a presença fêmeas adultas de idade igual ou superior a 24 meses. Com o objetivo de alcançar um maior poder de análise e destacar possíveis diferenças populacionais relacionadas a presença da LEB, optou-se por dividir as propriedades do DF em duas subpopulações, de acordo com o tamanho de seus rebanhos.

A primeira subpopulação, de rebanhos menores, foi formada por aquelas propriedades com menos de 15 (quinze) fêmeas com mais de 24 (vinte e quatro) meses, isto é, em idade reprodutiva. A segunda subpopulação, de rebanhos grandes, foi constituída por aquelas propriedades com 15 (quinze) ou mais fêmeas em idade reprodutiva.

Foram excluídas da amostra fêmeas em período de periparto (15 dias antes ou após o parto), pois o teste de IDGA apresenta limitações para identificar baixos títulos de anticorpos, no período próximo ao parto (FLORES et al., 1989).

Considerando o quadro amostral de propriedades com rebanhos bovinos do Distrito Federal a época e as duas subpopulações criadas para melhor descrever a prevalência da doença em populações distintas, foram identificados 2.082 rebanhos pequenos e 645 rebanhos grandes, totalizando 2.727 rebanhos que possuíam fêmeas em atividade reprodutiva.

O estudo amostral foi então realizado em duas etapas. Na primeira etapa, foram selecionadas de forma aleatória simples, para cada subpopulação, um número pré-estabelecido de propriedades. Na segunda etapa, foram selecionados, de forma aleatória sistemática, um número pré-estabelecido de animais em cada rebanho.

O número de propriedades a serem sorteadas em cada subpopulação foi calculado utilizando a ferramenta Epitools® (SERGEANT, 2018). Para a subpopulação de rebanhos menores, foram utilizados os seguintes parâmetros: prevalência estimada de 80%, nível de confiança de 95%, erro amostral de 5%, em uma população finita de 2.082 propriedades. Para a seleção de propriedades com rebanhos grandes, os seguintes parâmetros foram utilizados: prevalência estimada de 90%, nível de confiança de 95%, erro amostral de 5%, em uma população finita de 645 propriedades. O cálculo gerou um número mínimo a selecionar de 115 propriedades com rebanhos grandes e 221 com rebanhos pequenos. Esses parâmetros foram estimados de acordo com os diversos relatos da prevalência da LEB em propriedades amplamente descritos na literatura (BIRGEL JUNIOR, et al., 2006; FERNANDES et al., 2009).

Foi também considerado a maior prevalência em rebanhos grandes quando comparado aos rebanhos pequenos (TOSTES, 2005).

A faixa etária dos animais amostrados justifica-se por ser a de maior prevalência da LEB e a que sofrerá os maiores impactos negativos em termos produtivos em decorrência da infecção. A escolha de fêmeas para representar a amostragem foi motivado pela maior prevalência da doença em rebanhos leiteiros (JOHNSON e KANEENE, 1992), sendo o BLV encontrado em maior frequência nessa tipologia produtiva e em animais maiores de 24 meses de idade. A tendência dos rebanhos acometido pelo BLV é a prevalência aumentar conforme a idade (LEUZZI JUNIOR *et al*, 2003). Devido às limitações para identificar baixos títulos de anticorpos, especialmente em infecções recentes, é preferível a realização dos exames em animais adultos que apresentem resposta adequada de anticorpo e um menor índice de falsos negativos (EVERMANN e JACKSON, 1997).

Para o cálculo amostral do número de animais a serem selecionados dentro de cada propriedade, assumiu-se uma prevalência intra-rebanho de 40% em propriedades consideradas grandes e de 50% em propriedades consideradas pequenas (RAMÍREZ *et al.*, 2016; BAUERMANN *et al.*, 2017), e valores de 85% de sensibilidade e 95% de especificidade para o IDGA (TECPAR®, Brasil; MATOS *et al.*, 2005). Utilizando-se a ferramenta Epitools® (SERGEANT, 2018), foram executadas simulações com diferentes tamanhos de amostras de forma a definir um número mínimo de animais do rebanho a serem amostrados que permitisse classificar a propriedade como positiva ou negativa para a infecção pelo vírus da leucemia bovina (BLV). O tamanho da amostra escolhido foi aquele que permitiu valores de sensibilidade e especificidade de rebanho de no mínimo 80% e 95%, respectivamente.

Sendo assim, nas propriedades com menos de 15 fêmeas com mais de 24 meses de idade, foram selecionadas no mínimo 5 amostras. Caso as propriedades com menos de 15 fêmeas com mais de 24 meses de idade tivessem menos de 5 animais, todas as amostras seriam selecionadas. Em propriedades com 15 fêmeas ou mais em idade reprodutiva, foram analisadas ao menos 7 amostras. Sendo então amostrados um total de 1644 animais.

Rebanhos que apresentaram ao menos um animal reagente positivo foram considerados positivos.

A seleção das amostras dos animais foi realizada pelo método de amostragem aleatória sistemática e de acordo com o número de amostras existentes no banco de soros e a ser amostrado por rebanho.

Os questionários epidemiológicos foram aplicados por médicos veterinários e técnicos

agropecuários do quadro de servidores da Seagri, treinados, a fim de assegurar a padronização dos procedimentos.

Para o diagnóstico laboratorial da leucose enzoótica bovina, os soros dos animais amostrados foram submetidos a técnica sorológica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) para a detecção específica de anticorpos contra a glicoproteína gp51 presente no envelope do BLV. Para isso, foi utilizada a prova de imunodifusão IDGA/gp51 produzida pelo Instituto Tecnológico do Paraná (TECPAR®), conforme recomendação do fabricante. O teste foi realizado em uma lâmina de microscopia 25x76mm, onde foi adicionado 4,5mL de ágar a 0,9% diluído em tampão fosfato (pH 7,3). Após solidificação, os poços foram perfurados com cortador padrão com sete orifícios (seis periféricos e um central) medindo 4mm de diâmetro, distanciados 3mm entre si. No poço central, foi pipetado 25µL do antígeno e nos poços periféricos, foram adicionados 25µL do soro controle positivo e dos soros teste, alternadamente, totalizando três soros teste por roseta. Cada lâmina continha três rosetas, totalizando nove soros teste por lâmina. Após 72 horas de incubação em câmara úmida a temperatura ambiente, procedeu-se leitura com auxílio de luz indireta contra fundo escuro (TECPAR®). Os testes foram realizados no Laboratório de Retrovírus da Escola de Veterinária da UFMG - RETROLAB.

### **Análises Estatísticas**

As análises dos dados foram realizadas no Laboratório de Epidemiologia Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília (Epiplan/FAV/UnB), com auxílio do software STATA®, versão 12 (STATA CORP, 2011). Para cada subpopulação, a estimativa da prevalência de LEB em rebanhos baseou-se na razão entre propriedades classificadas como positivas na amostra e o total de propriedades amostradas na subpopulação (DOHOO *et al.*, 2010).

Considerando que o conjunto de propriedades representam a unidade amostral primária e a os animais de cada rebanho representam a unidade amostral secundária, para o cálculo da prevalência no DF foi necessário analisar os resultados em relação à subpopulação e propriedade. Assim, o peso (*PI*), exercido por cada propriedade amostrada em relação à subpopulação, para fins de cálculo de prevalência no DF, foi dado conforme a expressão:

$$PI = \frac{\text{Número de propriedades existentes na subpopulação}}{\text{Número de propriedades amostradas na subpopulação}}$$

Para a estimativa da prevalência de LEB em animais, o cálculo considerou a amostragem de conglomerados feita em dois estágios. Assim, para o cálculo da prevalência distrital considerou-se o peso (P2) exercido por cada fêmea de idade igual ou superior a 24 meses amostrada em relação ao seu rebanho e, em seguida, na respectiva subpopulação:

$$P2 = \frac{\text{Fêmeas} \geq 24\text{meses na propriedade}}{\text{Fêmeas} \geq 24\text{meses amostradas na propriedade}} \times \frac{\text{Fêmeas} \geq 24\text{meses na subpopulação}}{\text{Fêmeas} \geq 24\text{meses nas propriedades amostradas na subpopulação}}$$

As informações foram armazenadas usando um banco de dados eletrônico, sendo a análise estatística conduzida com o apoio do programa STATA 12 (STATACORP, 2011). Como etapa inicial da caracterização produtiva do Distrito Federal e dos possíveis fatores de risco associados à LEB, foi realizada uma análise descritiva das variáveis levantadas pelo questionário epidemiológico. Conforme a necessidade, algumas variáveis qualitativas foram reagrupadas, sendo que a categoria com prevalência mais baixa foi fixada como referencial para comparação e estimativa da *odds ratio*, na etapa da regressão logística. Essa etapa foi fundamental para a verificação do efeito de cada variável analisada em relação à presença da doença no rebanho, possibilitando o detalhamento e o agrupamento de categorias visando o adequado direcionamento das discussões.

Para a análise de fatores de risco para a LEB no DF, inicialmente, foi feita uma análise exploratória das seguintes variáveis em relação a presença da leucose enzoótica bovina nas propriedades, usando o teste do Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ):

- Tipo da exploração (corte, leite ou mista);
- Tipo de criação (extensivo, semi-confinado ou confinado);
- Classificação da propriedade (rural clássica, aldeia indígena, assentamento ou periferia urbana);
- Número de ordenhas por dia
- Presença de ordenha (sim ou não);
- Tipo da ordenha (não ordenha, manual, mecânica ao pé ou mecânica em sala de ordenha);
- Uso de inseminação artificial (não usa, usa inseminação artificial e touro, só usa inseminação artificial);

- Raça predominante de bovinos (zebu, europeu de leite, europeu de corte, mestiço, outras raças);
- Aquisição de bovinos nos últimos 2 anos (sim ou não) e se introduziu fêmeas ou machos bovinos com finalidade de reprodução (sim ou não);
- Aluguel de pasto;
- Pastos em comum com outras propriedades;
- Compartilha de outros itens com outras propriedades (sim ou não). Se compartilhar, que tipo de item (insumos, equipamentos ou funcionários);
- Entrega de leite (cooperativa, laticínio, direto ao consumidor ou não entrega);
- Resfriamento do leite (sim ou não);
- Produção de queijo, manteiga ou outro produto lácteo na propriedade (sim ou não).
- Assistência veterinária (possui ou não). Se sim, de que tipo (veterinário da cooperativa ou particular);
- Número de bovinos comprados no último ano, e de quantas fazendas;
- Compartilhamento de aguadas/bebedouros com animais de outras propriedades;
- Existência de piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto.
- Número de vacas em lactação;
- Produção diária de leite na propriedade;
- Produção diária de leite por vaca.

Na próxima etapa procedeu-se a análise univariada das variáveis do questionário cuja associação com a presença ou ausência de LEB no rebanho apresentava plausibilidade biológica ou epidemiológica. Aquelas cujo nível de significância (p) foi igual ou menor a 0,20 foram submetidas ao modelo de regressão logística multivariável.

O método utilizado para obtenção de um modelo estatístico foi o de eliminação hierárquica (*Hierarchical Backward Elimination*), permanecendo no modelo final somente as variáveis que apresentaram o valor de  $p \leq 0,05$ . O modelo foi elaborado no formato *design-based*, conforme sugerido por Hosmer, Lemeshow e Sturdivant (2013). Este formato considera o peso de cada propriedade amostrada nas duas subpopulações de amostragem, fornecendo resultados mais adequados para inferência populacional do efeito dos fatores de risco.

## RESULTADOS

O número de unidades primárias de amostragem de cada subpopulação foi distribuído de forma proporcional à quantidade de propriedades existentes em cada uma das cinco unidades operacionais do serviço oficial de defesa sanitária animal do Distrito Federal.

No presente estudo foram amostradas 336 propriedades, das quais 224 possuíam rebanhos considerados pequenos e 112 eram considerados rebanhos grandes, e 1644 animais. A Tabela 1 demonstra os dados censitários da população bovina do Distrito Federal à época do estudo e a amostragem por subpopulação.

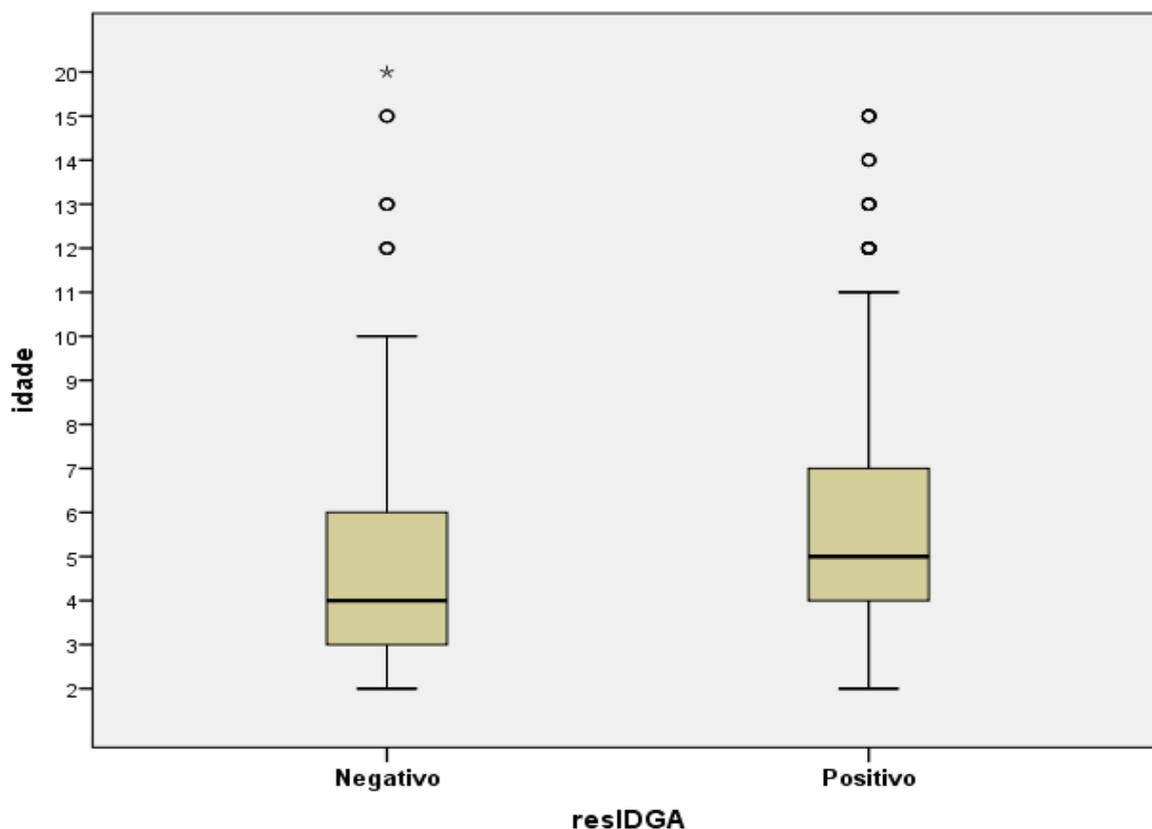
**Tabela 1.** Dados censitários da população bovina do Distrito Federal, por tamanho de rebanho, 2015.

Tamanho de rebanho*	Rebanhos com atividade reprodutiva		Fêmeas com $\geq 24$ meses	
	Existentes	Amostrados	Existentes	Amostradas
Menores	2082	224	10336	864
Maiores	645	112	33337	780
TOTAL	2727	336	43673	1644

\* Rebanhos menores apresentavam menos de 15 fêmeas com mais de 24 meses. Rebanhos maiores apresentavam 15 ou mais fêmeas com mais de 24 meses

Dos 336 rebanhos, 247 foram classificados como positivos para LEB, sendo 148 dentre os rebanhos menores e 99 dentre os rebanhos com 15 ou mais fêmeas. Dos 1644 animais amostrados no Distrito Federal, 766 foram classificados como positivos. Dos 766 animais reagentes positivos, 382 pertenciam a rebanhos menores e 384 pertenciam a rebanhos maiores.

A influência da idade dos animais considerando os resultados dos testes diagnósticos (IDGA) ficou evidente, como pode ser observado no Boxplot elaborado com o software IBM SPSS® 2.0 (figura 4). Cerca de 50% dos animais amostrados que foram classificados como positivos para a LEB possuíam 5 anos de idade e quando consideramos apenas os animais negativos, 50% dos animais tinham apenas 4 anos de idade. Evidenciando assim a tendência dos animais acometido pela LEB serem mais velhos do que os animais negativos.



**Figura 4.** Boxplot da idade dos animais, conforme resultado no teste diagnóstico para LEB, por subpopulação no Distrito Federal.

Os cálculos de prevalência foram ponderados para respeitar as proporções reais de cada subpopulação.

Na tabela 2 encontra-se as prevalências aparentes de rebanhos, por tamanho de rebanho, no Distrito Federal.

**Tabela 2.** Prevalência aparente de rebanhos infectados pelo BLV no Distrito Federal, por tamanho de rebanho.

Tamanho de rebanho*	Nº de rebanhos positivos	Prevalência aparente (%)	Intervalo de confiança (95%)
Menores	148	66,07	[59,83 – 72,30]
Maiores	99	88,39	[82,43 – 94,35]
Total	247	71,35	[66,30 – 76,39]

\*Rebanhos menores apresentavam menos de 15 fêmeas com mais de 24 meses. Rebanhos maiores apresentavam 15 ou mais fêmeas com mais de 24 meses.

Foi verificada uma proporção média de 60,06% de animais infectados nas propriedades positivas, sendo que o índice de soropositividade foi bastante heterogêneo entre as propriedades, variando de 14,28% a 100% de animais acometidos dentre os 247 rebanhos positivos.

Na tabela 3 exhibe-se as prevalências aparentes em fêmeas com 24 meses ou mais de idade, por tamanho de rebanho, no Distrito Federal.

**Tabela 3.** Prevalência da infecção pelo BLV em fêmeas com 24 meses ou mais de idade no Distrito Federal, por tamanho de rebanho.

Tamanho de rebanho*	Nº de animais positivos	Prevalência aparente (%)	Intervalo de confiança (95%)
Menores	382	45,42	[40,52 – 50,31]
Maiores	384	35,45	[21,94 – 48,96]
Total	766	37,81	[26,91 - 48,71]

\*Rebanhos menores apresentavam menos de 15 fêmeas com mais de 24 meses. Rebanhos maiores apresentavam 15 ou mais fêmeas com mais de 24 meses

Os cálculos ponderados estimaram uma prevalência de 71,35% [IC 95%: 66,30-76.39] de LEB em rebanhos e 37,81% [IC 95%: 26,91-48,71] em fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses de idade. As medidas pontuais de prevalência estimada na subpopulação de rebanhos revelaram ser mais elevadas na subpopulação constituída por rebanhos maiores. A prevalência estimada na subpopulação de animais foi maior em rebanhos menores, embora não se possa afirmar com 95% de confiança que haja diferença das prevalências entre as subpopulações com base nos intervalos de confiança.

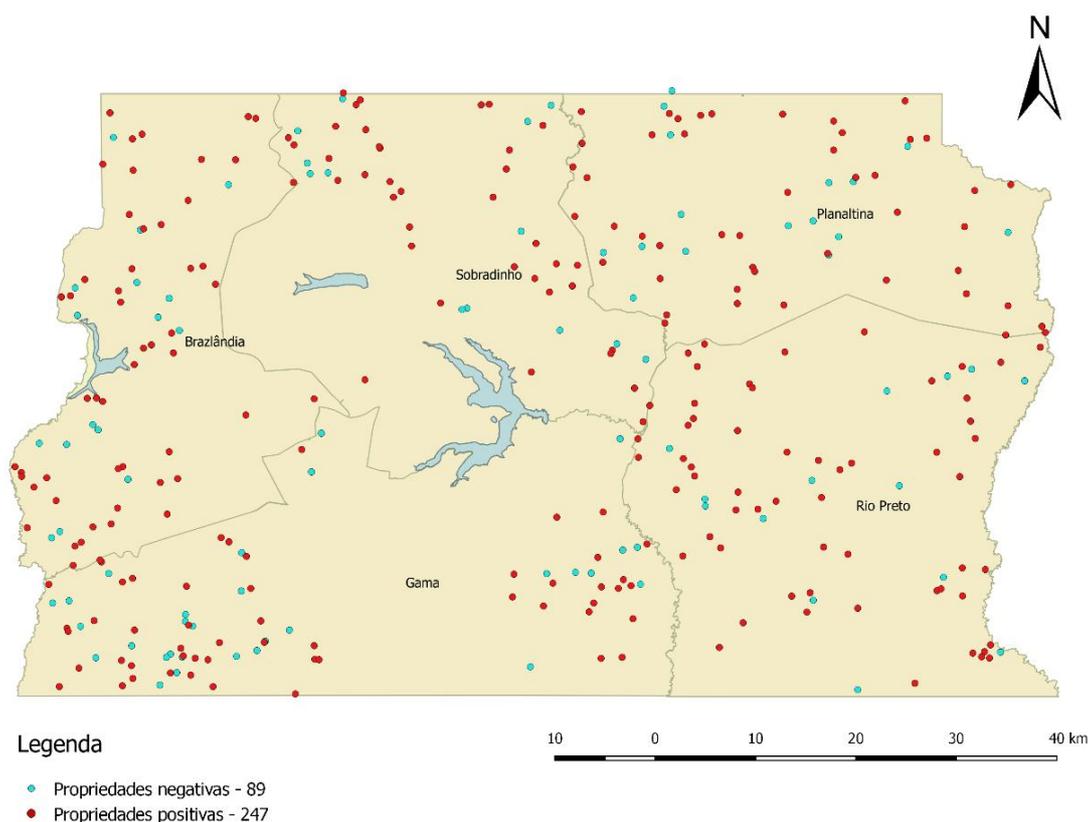
Na tabela 4 foi considerada a população estudada e as prevalências em rebanhos no DF conforme tamanho de rebanhos e com base nos intervalos de confiança. A partir do valor da prevalência no DF foi possível estimar o número provável de rebanhos infectados pelo BLV existentes no Distrito Federal.

**Tabela 4.** Estimativa do número de rebanhos infectados pelo BLV no Distrito Federal.

Tamanho de rebanho*	Rebanhos cadastrados	Prevalência			Número provável de rebanhos infectados		
		Limite inferior	Valor médio	Limite Superior	Limite inferior	Valor médio	Limite Superior
Menores	2.082	0,5983	0,6607	0,7230	1246	1376	1505
Maiores	645	0,8243	0,8839	0,9435	532	570	609

\*Rebanhos menores apresentavam menos de 15 fêmeas com mais de 24 meses e rebanhos maiores apresentavam 15 ou mais fêmeas com mais de 24 meses.

A figura 5, elaborada com auxílio do software Qgis® (QUANTUM, 2017), mostra graficamente a localização dos rebanhos positivo.



**Figura 5.** Mapa da distribuição espacial dos rebanhos amostrados e positivos para Leucose Enzoótica Bovina no Distrito Federal.

Após a análise exploratória dos dados, foi realizada a análise univariada das variáveis obtidas a partir do questionário, que representavam alguma associação com a infecção pelo

BLV em rebanhos. Os resultados podem ser visualizados na tabela 5.

A variável “tipo da exploração”, pela característica produtiva no DF, foi recategorizada e agrupadas em “corte” e “leite/mista”, sendo que a tipologia produtiva associada a exploração “leite/misto” apresentou um maior risco de apresentar LEB, corroborando com estudos que demonstraram uma prevalência maior da doença em rebanhos leiteiros (CAMARGOS *et al.* 2002; RADOSTITS *et al.*, 2002). A variável “número de ordenhas por dia”, com intuito de simplificar a análise, foi recategorizada em “presença de ordenha”, sendo a resposta afirmativa, quando os animais eram ordenhados 1 ou mais vezes ao dia ou negativa quando os animais não eram ordenhados.

As variáveis “produção diária de leite por vaca”, “produção diária de leite por propriedade” e “número de vacas em lactação” foram categorizadas após a análise descritiva da produção média de leite de acordo com a realidade observada no Distrito Federal, sendo observada produção média de 50 litros de leite por dia em propriedades e média geral de produção por vaca de aproximadamente 7 litros por dia.

Para a regressão logística, foram selecionadas as seguintes variáveis: "Tipo de exploração”, “ Presença de ordenha”, “Tipo de ordenha”, “Entrega leite”, “Entrega leite para Laticínio”, “Resfria leite”, “Produz Queijo e Manteiga”, “n° de Vacas em lactação”, “Produção diária de Leite por Propriedade”, “Produção diária de Leite por Vaca”.

**Tabela 5.** Análise univariada indicando variáveis com p-valor  $\leq 0,20$ , testadas para associação com rebanhos positivos para o BLV.

	Variável	Negativos	Positivos	p-valor <sup>1</sup>
Tipo de exploração				0.003
	Corte	20	25	
	Leite / Misto	69	222	
Presença de ordenha				0.000
	Sim	50	195	
	Não	39	52	
Tipo de ordenha				0.000
	Não ordenha	30	42	
	Ordenha mecânica	2	34	
	Ordenha manual	57	171	
Entrega leite				0.001
	Sim	7	59	
	Não	82	188	
Entrega leite para Laticínio				0.005
	Sim	1	26	
	Não	88	221	
Resfria leite				0.000
	Sim	0	44	
	Não	89	203	
Produz Queijo e Manteiga				0.012
	Sim	37	141	
	Não	52	106	
Nº de Vacas em lactação				0.000
	Até 3	36	53	
	3 a 7	4	51	
	Acima de 7	43	117	
Produção diária de Leite / Propriedade				0.002
	Até 15L	38	67	
	15 a 50L	9	65	
	Acima de 50L	42	103	
Produção diária de Leite / Vaca				0.005
	Até 10L	46	152	
	10L ou mais	1	35	

<sup>1</sup>p-valor ao Teste do Qui-Quadrado.

As variáveis que permaneceram no modelo final de regressão logística com p-valor  $\leq 0,05$ , foram “presença de ordenha” e a “subpopulação das propriedades”, representando o tamanho do rebanho, conforme apresentado na Tabela 6 que indica a *odds ratio* e respectivos intervalos de confiança (IC: 95%) de cada uma das variáveis.

**Tabela 6.** Modelo de regressão logística no formato *design-based*.

Variável	Odds Ratio	IC 95%	p-valor
Presença de ordenha	3.08	[1.79 – 5.29]	0.000
Propriedades com mais de 15 fêmeas adultas	4.09	[2.12 – 7.90]	0.000

De acordo com o resultado observado na tabela 6, rebanhos onde há presença de ordenha apresentam em média uma chance de 3.08 [IC95% 1.79 – 5.29], vezes maior de apresentar LEB em relação àqueles rebanhos que não são ordenhados. As propriedades com rebanhos maiores, apresentam em média uma chance 4.09 [IC 95%: 2.12 – 7.90] vezes maior de apresentar LEB do que as menores. Evidenciando assim a maior chance de introdução do BLV nas propriedades com maiores rebanhos e com tipologia produtiva leiteira quando comparado as propriedades que não possuem estas características, no DF.

Buscando caracterizar melhor o perfil das propriedades de leite mais especializadas, tabelas cruzadas com as demais características produtivas associadas à produção foram criadas.

**Tabela 7.** Descrição das propriedades (leite ou mistas) de tipologia leiteira no Distrito Federal

Variável	<15 vacas	≥15 vacas
Nº de ordenhas por dia <sup>1</sup>		
1 ordenha	157 (73.36%)	57 (26.64%)
2 ou 3 ordenhas	6 (19.35%)	<b>25 (80.65%)</b>
Tipo de ordenha <sup>1</sup>		
Ordenha manual	156 (74.28%)	54 (25.72%)
Ordenha mecânica	7 (20%)	<b>28 (80%)</b>
Resfria leite <sup>1</sup>		
Sim	8 (18.19%)	<b>36 (81.81%)</b>
Não	155 (77.11%)	46 (22,83%)
Armazena leite na propriedade <sup>1</sup>		
Resfriador ou Tanque de Expansão	8 (18.19%)	<b>36 (81.81%)</b>

<sup>1</sup> Propriedades de leite ou mistas.

Devido a dinâmica da produção leiteira e as características produtivas do DF, dentre as 292 propriedades mistas ou de leite do estudo, apenas 245 estavam ordenhando no momento da aplicação do questionário. As propriedades com tipologia produtiva leiteira (leite ou mistas) que não estavam ordenhando no momento do inquérito tinham potencial produtivo para retomar a ordenhar dos animais a qualquer tempo.

## DISCUSSÃO

A prevalência aparente da infecção pelo BLV em animais no DF foi estimada em 37,81% [IC 95%: 26,91-48,71], demonstrando a disseminação do BLV no Distrito Federal, evidenciando o avanço da LEB pelo país. Quando observamos o resultado do estudo, é possível afirmar, com 95% de confiança, que a prevalência em animais é similar a prevalência média de rebanhos leiteiros da região Centro-Oeste, 40,13%, e o intervalo de confiança abrange os valores das prevalências médias estimadas nas seguintes regiões do país: Nordeste, 29,94%; Sul, 34,41% e Sudeste, 46,72%. A região Norte, com 18,30% é a única que apresentou prevalência média consideravelmente menor (PEREIRA *et al.*, 2013). As maiores taxas de prevalência são comumente relatadas na região Sudeste e Centro-Oeste (FERNANDES *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2013).

Se considerarmos apenas os estudos realizados nos estados de Goiás e Minas Gerais, que são as UFs que mais destinam bovinos ao Distrito Federal (LICURGO, 2016), o Distrito Federal aparece com prevalência em animais similares ao estado de Goiás, conforme relatado por Andrade e Almeida (1991) que demonstraram uma prevalência média de aproximadamente 36% (239/670) e também por Peixoto *et al.* (2016) que estimou uma prevalência de infecção pelo BLV de 29,29% (765/2612) em bovinos de diversas raças na região do Sítio Histórico e Patrimônio Cultural Kalunga. Em Minas Gerais outro resultado semelhante foi relatado por Camargos *et al.* (2002), no qual a prevalência da LEB em animais foi estimada em 38,7% no sistema de produção de leite tipo C. Outros estudos nacionais encontraram prevalências similares às do DF, sendo que Birgel *et al.* (1991), amostrando rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo, demonstrou uma prevalência de infecção pelo BLV em 42,9% (1162/2708) dos animais e Fernandes *et al.* (2009), em estudo realizado em Tocantins, encontrou uma prevalência em animais de 37% (326/881; IC 95%: 32,8-41,2) utilizando metodologia e características produtivas semelhantes ao do presente estudo, com amostragem de rebanhos com fêmeas de idade igual ou superior a 24 meses, em lactação e mais de 30 dias de paridas.

No Distrito Federal a prevalência aparente da infecção pelo BLV em propriedades foi de 71,35% [IC 95%: 66,30-76,39]. A prevalência de infecção pelo BLV em propriedades no DF está dentro da faixa intermediária das prevalências relatadas no Brasil. Ao analisar os resultados descritos na literatura científica, considerando a heterogeneidade dos métodos utilizado nos estudos nas várias UFs, a prevalência da infecção pelo BLV em propriedades no DF demonstrou semelhança ao encontrado em Alagoas com 70,6% (12/17) propriedades positivas (PINHEIRO JUNIOR *et al.*, 2013) e 72,73% (40/55) relatado no Paraná (SPONCHIADO, 2008). Em Minas Gerais, utilizando métodos semelhantes ao do presente estudo, foram amostradas bovinos fêmeas, mestiças, com idade superior a 24 meses por meio da prova de IDGA, sendo descrita uma prevalência ligeiramente acima da registrada no DF com 79,5% das propriedades com ao menos uma amostra positiva para LEB (MACEDO *et al.*, 2013). Prevalências em propriedades com valores mais baixos quando comparados ao DF foram descritos no nordeste do Rio Grande do Sul com 61,5% (16/26) (FRANDOLOSO, 2008) e em Garanhuns, Pernambuco com 63,2% (12/19) (SANTOS *et al.*, 2013). Resultados demonstrando alta prevalência em propriedades foram observados no Paraná por Leuzzi Júnior *et al.*, (2003) onde animais positivos estavam distribuídos em 100% propriedades amostradas e também na região norte de Tocantins onde taxas de prevalência em propriedades atingiram 94,7% (36/38) (FERNANDES *et al.*, 2009).

Diversos estudos demonstraram fatores associados a disseminação do BLV entre propriedades, dentre os principais fatores estão: intenso fluxo de animais entre os rebanhos, introdução de animais importados de outros Estados que apresentam elevados índices da LEB sem a observância de critérios sanitários, principalmente provenientes da região Sudeste, destacando-se São Paulo e Minas Gerais, (MELO, 1999; MENDES *et al.*, 2011), e a limitação do teste diagnóstico (IDGA) em casos de infecções recentes e animais com baixa resposta imune (REBHUN, 2000).

A proporção média de animais reagentes nas propriedades positivas foi em média de 60,06%, variando de 14,28% a 100% dentre as 247 propriedades positivas, corroborando com os achados do estudo realizado em Pernambuco que descreveu a soropositividade dos animais variando de 0,1% a 77,9% dentro dos rebanhos amostrados (SANTOS *et al.*, 2013). Em estudo realizado durante vários anos em um rebanho da universidade do Paraná, foi descrita prevalência dentro do rebanho estudado entre 50,3% a 80,5% (BARROS FILHO, 2010). Achados similares foram demonstrados na Colômbia por Ramírez *et al.*, (2016), que descreveram uma prevalência intra-rebanho da LEB variando de 17,1% a 82,3%.

Observando a taxa de animais positivos dentro dos rebanhos do DF, é encorajado a adoção de medidas de controle em rebanhos considerados com alta prevalência (> 60%), sendo indicado testar e separar o rebanho em positivo e negativo, reduzindo assim a transmissão do BLV. Medidas básicas de manejo e higiênico-sanitário também devem ser adotadas, minimizando a transmissão iatrogênica do vírus. Em rebanhos onde o índice de prevalência for baixo a estratégia de testar e eliminar os animais positivos pode ser adotada (BRUNNER *et al.*, 1997). Na entrada de qualquer bovino na propriedade, deverá ser realizado o teste diagnóstico para detecção da LEB com simultânea separação dos animais, uma vez que em uma infecção recente o animal ainda pode não ter anticorpos detectáveis contra o BLV (MODENA *et al.*, 1983).

Nos rebanhos mais tecnificados e de sistemas de criação intensivo os animais geralmente são expostos a práticas de manejo que envolvem a palpação retal para a inseminação artificial e para o diagnóstico de gestação; aplicações via intramuscular de diversas vacinas contra doenças infecciosas reprodutivas, controle e tratamento de afecções causadas por protozoários e parasitas, suplementação de vitaminas e minerais com produtos injetáveis, tratamentos de infecções do casco, tratamento de mastite, o uso de ocitocina no momento da ordenha e a utilização de ordenhadeira mecânica (JOHNSON e KANEENE, 1991; FELISBERTO *et al.*, 2017). Em rebanhos infectados, submetidos às mesmas práticas de manejo, o número total de animais no rebanho, além da faixa etária, pode interferir nas taxas de prevalência intra-rebanho da LEB (LEUZZI JUNIOR *et al.*, 2001).

Para melhor caracterizar as variáveis produtivas foi realizada a análise descritiva das propriedades (leite e mistas) com características produtivas relacionadas a tipologia leiteira (Tabela 7). Quando analisadas as variáveis produtivas relacionadas ao tamanho do rebanho, destacou-se que as propriedades leiteiras com rebanhos maiores ordenhavam os animais mais vezes ao dia 80,65% (25/31), utilizavam em sua maioria a ordenha mecânica 80% (28/35) e resfriavam leite em tanque próprio na propriedade 81,81% (36/44). Esta descrição corrobora a associação da presença da LEB a propriedades com tipologia produtiva leiteira mais especializada no DF (JOHNSON e KANEENE, 1991).

A análise de fatores de risco confirmou que a variável relacionada à atividade leiteira é um fator de risco associadas à presença do BLV no rebanho, destacando a variável relacionada às propriedades que ordenhavam, fator que contribui para aumentar o risco da disseminação da doença. Tal achado é explicado pela característica produtiva do Distrito Federal, onde as propriedades com os maiores rebanhos, são as que de fato possuem produção com alguma

especialização na atividade leiteira e com práticas de manejo caracterizadas por sistemas mais intensivos de criação com determinado grau de tecnificação.

Os resultados são coerentes com os achados em diversos estudos sobre os fatores de risco para LEB nas unidades federativas do Brasil, nos quais foram identificados que as principais variáveis associadas à presença da doença estão relacionadas as criações leiteiras em sistemas intensivos (BIRGEL *et al.*, 1995; BRAGA *et al.*, 1998). A ocorrência da LEB encontra-se associada ao manejo implementado nas criações leiteiras, em decorrência da presença de animais de ciclo produtivo longo, com idade média mais alta, muitas vezes sem sinais clínicos evidentes e que são submetidos a sistemas intensivos de criação que adotam práticas tecnificadas, fatores estes considerados de grande relevância na gênese da doença (D'ANGELINO, 1991; BRAGA *et al.*, 1998; SPADETTO *et al.*, 2013).

Assim, a associação estatística da LEB no DF, e a prática de ordenhar não deve ser interpretada simplesmente como uma associação de causalidade direta, mas como indicativo da tipologia produtiva adotada nas propriedades leiteiras que costumam estar mais sujeitas a presença da doença (MENDES *et al.*, 2011). O modelo logístico, desta forma, deve ser interpretado como um modelo preditivo da presença da LEB nas propriedades rurais do DF, e não como um modelo que sugere fatores de risco causais. A disseminação do BLV está intimamente relacionada às práticas de manejo adotadas principalmente em propriedades com sistemas de criação intensivos, com maior índice produtivo e que normalmente adotam a ordenha mecânica, resultando em maior risco da transmissão horizontal de linfócitos infectados pelo vírus. (HOPKINS e DIGIACOMO, 1997).

O tipo de manejo adotado em propriedades leiteiras, relacionados a maior densidade de animais no curral e o tipo de manejo das vacas são fatores de risco apontados. A ordenha mecânica aparece com certa frequência na literatura como fator de risco quando comparado a ordenha manual. Essas variáveis podem estar relacionadas a padrões higiênicos e às BPF (boas práticas de fabricação), já que quando a ordenha mecânica não é higienizada da forma correta, é possível tornar uma fonte de disseminação do BLV (ORTEGA *et al.*, 2016).

Também foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os rebanhos com mais de 15 fêmeas adultas, sendo observado maior risco de ocorrência da LEB em rebanhos maiores (Tabela 6), corroborando com o observado nos estudos de Digiacomo (1992) e de Johnson e Kaneene (1991). O aumento na taxa de infecção do BLV em relação ao tamanho dos rebanhos provavelmente é decorrente da intensificação das práticas de manejo as quais são submetidas as fêmeas em idade reprodutiva e o tempo que os animais permanecem em

atividade, proporcionando a transmissão direta do vírus dentro do rebanho. A manutenção dos animais em boas condições nutricionais e sem a presença evidente de sinais clínicos retarda o descarte de animais e favorece a manutenção e disseminação do BLV no rebanho, devido a cronicidade da doença e o convívio íntimo e prolongado entre bovinos sadios e BLV positivos (BIRGEL *et al.*, 1995; BRAGA *et al.*, 1998; MELO, 1999).

Em análise dos dados da bovinocultura no Distrito Federal evidenciou uma tendência de produtores com rebanhos maiores movimentarem mais animais, podendo contribuir para a disseminação da doença (LICURGO, 2016).

O número estimado de propriedades infectadas pelo BLV no Distrito Federal sugere que a quantidade de focos registrados anualmente através de vigilância passiva no Distrito Federal é subestimado<sup>1</sup>. Os veterinários e produtores rurais precisam de mais informações sobre os impactos econômicos e produtivos que a doença ocasiona, possibilitando uma maior sensibilidade do sistema de vigilância, por conseguinte, incrementando o número de notificações ao SVO, conforme preconizado na Instrução Normativa nº 50 do Mapa (BRASIL, 2013).

Evidenciando os efeitos negativos da infecção pelo BLV em rebanhos leiteiros e as significativas perdas econômicas ocasionadas pela LEB, especialmente para pequenos produtores, Rhodes *et al.*, (2003), estimaram o custo médio anual da infecção subclínica pelo BLV, a uma prevalência de infecção de 50% dentro do rebanho, em US\$ 6.406. No mesmo estudo, os autores estimaram os custos anuais para implementar um programa básico de controle de teste e gerenciamento para a LEB em US\$ 1.765. Portanto, considerando os resultados do presente estudo, evidenciando que a LEB está extensamente distribuída nos rebanhos do DF com a proporção média de animais infectados dentro dos rebanhos positivos estimado em 60,06%, a depender do tamanho do rebanho, é possível inferir que um programa básico de controle de BLV pode ser economicamente vantajoso em rebanhos da região, considerando que a proporção média de animais infectados nos rebanhos do DF é maior que os 12,5% considerados no estudo de Rhodes *et al.*, (2003), como taxa mínima para viabilizar economicamente um programa de controle bem sucedido.

---

<sup>1</sup> Informação do Núcleo de Epidemiologia e Trânsito da Secretaria de Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal

## CONCLUSÕES

Pode-se concluir, com base nos dados obtidos no estudo, que a infecção pelo BLV se encontra amplamente distribuída nos rebanhos bovinos do Distrito Federal, com maior prevalência em rebanhos de maior tamanho, especializados na produção leiteira e que incorporam algum grau de tecnologia à produção.

As práticas de manejo relacionadas aos rebanhos leiteiros e o tipo de criação (semi-intensiva ou intensiva) usadas neste tipo de produção propiciam a introdução, a disseminação e a manutenção do BLV, tornando complexa a execução das medidas de controle (D'ANGELINO et al., 1998).

A elevada prevalência da infecção pelo BLV no DF, confere a necessidade da criação de programa sanitário específico que priorize ações de vigilância baseada em risco, direcionadas principalmente para propriedades com rebanhos bovinos leiteiros de maior produtividade, resultando em medidas estratégicas que visem a diminuição da infecção pelo BLV em criações consideradas de maior risco.

Além da alta prevalência da infecção pelo BLV a característica produtiva do Distrito Federal pode ser um importante entrave para o controle da disseminação do BLV, principalmente devido aos custos inerentes aos programas de controle da doença em propriedades com alta proporção de animais infectados.

Ações de educação em saúde e assistência técnica especializada são essenciais para conscientizar os produtores rurais da importância do correto manejo higiênico-sanitário do rebanho, da necessidade da exigência de testes negativos para a introdução de novos animais no rebanho, da relevância de testar e separar o rebanho soropositivo e da importância da notificação dos casos diagnosticados às autoridades de saúde animal, possibilitando o correto monitoramento e detecção da LEB, permitindo a evolução no controle da doença no Distrito Federal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRINO, B.; DIAS, F. C.; OLIVEIRA, M. C. et al. Herpesvirus bovino associado à diarreia viral bovina e à leucose enzoótica bovina. **Ars Veterinaria**, v. 17, n. 3, p. 169-174, 2011.

ANDRADE, J. R.; ALMEIDA, M. M. Prevalência da leucose enzoótica bovina na bacia leiteira de Goiânia, Goiás. **Hora vet**, v. 10, n. 60, p. 49-53, 1991.

AZEDO, M. R.; MASSOCO, C. D. O.; BLAGITZ, M. G. et al. Influência da infecção pelo vírus da Leucose enzoótica bovina no metabolismo oxidativo de leucócitos circulantes. **O Biológico**, v. 69, n. 2, p. 114, 2007.

BARROS FILHO, I. R.; GUIMARÃES, A. K.; SPONCHIADO, D. et al. Soroprevalência de anticorpos para o vírus da leucose enzoótica em bovinos criados na região metropolitana de Curitiba, Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 511-515, 2010.

BARTLETT, P. C.; NORBY, B.; BYREM, T. M. et al. Bovine leukemia virus and cow longevity in Michigan dairy herds. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 3, p. 1591-1597, 2013.

BARTLETT, P. C.; SORDILLO, L. M.; BYREM, T. M. et al. Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 244, n. 8, p. 914-922, 2014.

BAUERMANN, F. V.; RIDPATH, J. F.; DARGATZ, D. A. et al. Bovine leukemia virus seroprevalence among cattle presented for slaughter in the United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 29, n. 5, p. 704-706, 2017.

BIRGEL, E. H.; D'ANGELINO, J. L.; GARCIA, M. et al. Ocorrência da infecção causada pelos vírus da leucose bovina no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 28(1), 67-73, 1991.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; D'ANGELINO, J. L.; BENESI, F. J. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da Leucose dos bovinos, em animais da raça Jersey, criados no estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 15, n. 4, p. 93-99, 1995.

BIRGEL JUNIOR, E. H.; DIAS, W. M. C.; SOUZA, R. M. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em animais da raça simental, criados no estado de São Paulo. **Ars Veterinaria**, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2006.

BRAGA, F.M.; VAN DER LAAN, C. W.; SCHUCH, L. F. et al. Infecção pelo vírus da Leucose Enzoótica Bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n 1, p. 163-178, 1998.

BRAGA, F. M.; VAN DER LAAN, C. W. Leucose enzoótica bovina. **Doenças de ruminantes e eqüinos**, v. 2, p. 126-134, 2001.

BRASIL 2013. IN n° 50, de 24 de setembro - Altera a lista de doenças passíveis da aplicação de medidas de defesa sanitária animal e estabelece sua notificação obrigatória. **Ministério da**

**Agricultura Pecuária e Abastecimento.** <www.agricultura.gov.br> Acesso em 16 jul 2018.

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

CAMARGOS, M.F.; MELO, C. B.; LEITE, R. C. et al. Frequência de soropositividade para a leucose enzoótica bovina em rebanhos em Minas Gerais. **Cienc Vet Trop**, v.5, p. 20-6, 2002.

CARNEIRO, P. A. M.; ARAÚJO, W. D.; BIRGEL, E. H. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros criados no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 33, n. 1, p. 111-125, 2003.

CARVALHO, L.; BENESI, F. J.; BIRGEL JÚNIOR, E. H. et al. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da leucose dos bovinos em animais da raça Holandesa Preto e Branca e zebuínos da raça Nelore, criados no Polo Regional de Londrina, Estado do Paraná. **Semina**, v. 17, n. 1, p. 53-57, 1996.

CODEPLAN - Companhia de Planejamento do Distrito Federal – Secretaria de Estado de Planejamento, Orçamento e Gestão do Distrito Federal (SEPLAG) - **Produto Interno Bruto do Distrito Federal 2016, Brasília-DF**, nov. 2018.

D'ANGELINO, J. L.; GARCIA, M.; BIRGEL, E. H. Epidemiological study of enzootic bovine leukosis in Brazil. **Tropical animal health and production**, v. 30, n. 1, p. 13-15, 1998.

DIGIACOMO, R. F. The epidemiology and control of bovine leukemia virus infection. **Veterinary medicine (USA)**, 1992.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Veterinary epidemiologic research**. 2003. AVC Inc., Charlottetown, Prince Edward Island, 2° ed., 865p., 2010.

EMATER-DF (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal) e outros. **Plano Executivo de Desenvolvimento Sustentável da Cadeia Produtiva da Pecuária Leiteira no Distrito Federal 2008/2012**. Brasília, 2008. 52p.

EVERMANN, J. F.; JACKSON, M. K. Laboratory diagnostic tests for retroviral infections in dairy and beef cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 13, n. 1, p. 87-106, 1997.

FELISBERTO, L. S.; ALMEIDA, I. C.; IPOLITO, D. P. et al. Soroepidemiologia da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina em rebanhos leiteiros da região do Caparaó/ES. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 15, n. Suppl 2, p. 287, 2017.

FERNANDES, C. H. C.; MELO, L. E. H.; TENÓRIO, T. D. S. et al. Soroprevalência e fatores de risco da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos em rebanhos leiteiros da região Norte do estado do Tocantins, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo**, v.76, n.3, p.327-334, 2009.

FLORES, E. F.; WEIBEN, R.; PEREIRA, N. M. et al. Prevalência de anticorpos contra o vírus da leucose bovina (BLV) no rebanho leiteiro de Santa Maria/RS. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 18, p. 67, 1988.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; PEREIRA, N. M. et al. Utilização da Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA) no Controle da Infecção pelo Virus da Leucose Bovina (VBL). **Revista Centro de Ciências Rurais**. v.9, n.1-2. p.169-176. Santa Maria ,1989.

FRANDOLOSO, R.; KREUTZ, L. C.; ANZILIERO, D. et al. Prevalência da Leucose Enzoótica Bovina, Diarréia Viral Bovina, Rinotraqueíte Infecciosa Bovina e Neosporose Bovina em 26 propriedades leiteiras do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1102-1106, 2008.

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

HOSMER JR, D. W.; LEMESHOW, S.; STURDIVANT, R. X. **Applied logistic regression**. John Wiley & Sons, 2013.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – *PIB per capita*: IBGE, em parceria com os Órgãos Estaduais de Estatística, Secretarias Estaduais de Governo e Superintendência da Zona Franca de Manaus – SUFRAMA, 2016. Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/df/brasil/panorama>; acessado em 19/10/2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Estimativas da população residente com data de referência 1º de julho de 2017. IBGE, 2017a. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/df/brasil/panorama>; acessado em 19/10/2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Censo Agropecuário. IBGE, 2017b. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/21814-2017-censo-agropecuario.html?=&t=resultados>; acessado em 19/10/2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Área territorial brasileira. Rio de Janeiro: IBGE, 2018. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/df/brasil/panorama>; acessado em 19/10/2018.

INSTITUTO PARANAENSE DE TECNOLOGIA – TECPAR. Bula do antígeno para diagnóstico de leucose enzoótica bovina, Brasil.

JACOBS, R. M.; HEENEY, J. L.; GODKIN, M. A. et al. Production and related variables in bovine leukaemia virus-infected cows. **Veterinary research communications**, v. 15, n. 6, p. 463-474, 1991.

JOHNSON, R.; KANEENE J. B. Bovine leukemia virus. I. Descriptive epidemiology, clinical manifestations and diagnostic tests. **The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)**, 1991.

JOHNSON, R.; KANEENE J. B. Bovine leukemia virus and enzootic bovine leukosis. **Veterinary Bulletin**, v. 62, p. 287-288, 1992.

JULIANO, R. S.; FIORAVANTI, M. C. S.; BRITO, W. M. E. D. et al. Soroepidemiologia da leucemia bovina (Ib) em bovinos curraleiros dos estados de Goiás e Tocantins, Brasil. 2014.

LAWSON, J. S.; SALMONS, B.; GLENN, W. K. Oncogenic Viruses and Breast Cancer: Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV), Bovine Leukemia Virus (BLV), Human Papilloma Virus (HPV), and Epstein–Barr Virus (EBV). **Frontiers in oncology**, v. 8, p. 1, 2018.

LEUZZI JÚNIOR, L. Á.; JÚNIOR, G.; DA SILVA, J. et al. Influência da idade e do tamanho do rebanho na soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos produtores de leite tipo B, na região norte do Estado do Paraná. **Rev. bras. ciênc. vet**, v. 10, n. 2, p. 93-98, 2003.

LEUZZI JÚNIOR, L. Á.; JUNIOR, J. S. G.; FREIRE, R. L. et al. Influência da idade e do tamanho do rebanho na soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos produtores de leite tipo B, na região norte do estado do Paraná. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 10, n. 2, 2012.

LICURGO, J. B. Prevalência e fatores de risco da brucelose bovina no Distrito Federal, Brasil, 2015. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 54 p. **Dissertação de Mestrado**.

MACEDO, D. M. R.; BASSI, P.; BITTAR, E. et al. Análise dos fatores de risco e prevalência da leucose enzoótica bovina em três microrregiões do triângulo mineiro/analysis of risk factors and prevalence of enzootic bovine leukemia in three micro regions of the triangulo mineiro. **Ars Veterinaria**, v. 29, n. 4, p. 65, 2013.

MATOS, P. F.; JÚNIOR, E. H. B.; BIRGEL, E. H. et al. Leucose enzoótica dos bovinos: prevalência de anticorpos séricos em bovinos criados na Bahia e comparação entre os resultados do teste de ELISA e da imunodifusão em gel de ágar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 3, p. 171-180, 2005.

MELO, L. E. H. Avaliação da intercorrência entre Leucose Enzoótica, Tuberculose e Leptospirose dos bovinos em rebanhos produtores de leite C do Estado de São Paulo. 1999, 128p. **Tese (Doutorado)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo São Paulo, 1999.

MENDES, E. I.; MELO, L. E. H.; TENÓRIO, T. G. S. et al. Intercorrência entre leucose enzoótica e tuberculose em bovinos leiteiros do estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 1, p. 1-8, 2011.

MODENA, C. M. Leucose enzoótica bovina: I-comparação entre métodos de diagnóstico/II-evolução sorológica de bezerros/III-interferência com a vacina anti-febre aftosa. 1981.

MODENA, C. M.; ABREU, V. L. V.; SILVIA, J. et al. Ocorrência da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina em animais importados. **Arq Bras Med Vet Zoot**, v. 35, n. 4, p. 565-573, 1983.

MURAKAMI, K.; KOBAYASHI, S.; KONISHI, M. et al. The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. **Veterinary microbiology**, v. 148, n. 1, p. 84-88, 2011.

NASCIMENTO, G. T. do. Prevalência e Fatores de Risco da Tuberculose Bovina no Distrito Federal, Brasil, 2015. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 66 p. **Dissertação de Mestrado**.

OIE – World Organisation for Animal Health – **OIE Terrestrial Manual, Enzootic Bovine Leukosis**, chapter. 2.4.10, 2018a.

OIE – World Organisation for Animal Health – **OIE Terrestrial Animal Health Code, Enzootic Bovine Leukosis**, chapter. 11.6, 2018b.

OTT, S. L.; JOHNSON, R. S. J. W.; WELLS, S. J. Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. **Preventive veterinary medicine**, v. 61, n. 4, p. 249-262, 2003.

PEREIRA, A. L. M.; COSTA, A. F.; VESCHI, J. L. A. et al. Soroprevalência da leucose enzoótica bovina-revisão de literatura. **Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2013.

PINHEIRO JUNIOR, J. W.; DE SOUZA, M. E.; PORTO, W. J. N. et al. Epidemiologia da infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina (LEB). **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 258-264, 2013.

QUANTUM, G. I. S. Development Team (2017) QGIS Geographic Information System, Version 2.18. 14-Las Palmas. **Open Source Geospatial Foundation, Chicago**.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. et al. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Guanabara Koogan, 2002.

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

RAMÍREZ VÁSQUEZ, N. F.; VILLAR ARGAIZ, D.; FERNÁNDEZ SILVA, J. A. et al. Seroprevalence and risk factors of several bovine viral diseases in dairy farms of San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. **CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 11, n. 1, p. 15-25, 2016.

RAVAZZOLO, A. P.; COSTA, U. M. Retroviridae. **Virologia Veterinária**, v. 31, p. 819-823, 2007.

RHODES, J. K.; PELZER, K. D.; JOHNSON, Y. J. Economic implications of bovine leukemia virus infection in mid-Atlantic dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, n. 3, p. 346-352, 2003.

RUIZ, V.; PORTA, N. G.; LOMÓNACO, M. et al. Bovine Leukemia Virus infection in neonatal calves. Risk factors and control measures. **Frontiers in veterinary science**, v. 5, p. 267, 2018.

SANTOS, G. R.; DE OLIVEIRA, J. M. B.; BRANDESPIM, D. F. et al. Análise epidemiológica da infecção pelo vírus da Leucose Enzoótica Bovina (LEB), na microrregião Garanhuns, Pernambuco, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 35, n. 4, p. 371-377, 2013.

SEAGRI-DF – Secretaria de Estado de Agricultura e Desenvolvimento Rural do Distrito Federal – Dados de vigilância sanitária animal disponibilizados pela Diretoria de Sanidade Agropecuária e Fiscalização. **Brasília-DF, 2015.**

SERGEANT, ESG, 2018. Epitools epidemiological calculators. **Ausvet Pty Ltd.** Disponível em: <http://epitools.ausvet.com.au>.

SILVA, R. C.; FONTANA, I.; MEIRELLES, F. C. et al. 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.

SPADETTO, R. M. DIAS, A. S. Leucose enzoótica bovina–revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano XI, n. 20, 2013.

SPONCHIADO, D. Prevalência de anticorpos séricos anti-vírus da Leucose Enzoótica Bovina em rebanhos da raça holandesa preta e branca, criados no estado do Paraná. **Dissertação** – Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2008.

STATACORP. 2011. Stata: Release 12. Statistical Software. **College Station, TX**: StataCorp LP.

TOSTES, R. A. Situação da Leucose Bovina no Brasil: uma revisão. In: **Colloquium Agrariae**. p. 42-50. 2005.