

Universidade Federal de Minas Gerais  
Conselho de Pós-Graduação  
Escola de Veterinária

AVALIAÇÃO DE ALTERNATIVAS DE CONTROLE DE LEUCOSE ENZOÓTICA  
BOVINA EM REBANHO BOVINO DE LEITE

Paulo Lourenço da Silva

Belo Horizonte  
Minas Gerais  
1988

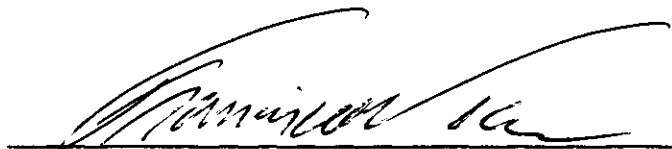
Paulo Lourenço da Silva

AVALIAÇÃO DE ALTERNATIVAS DE CONTROLE DA LEUCOSE ENZOÓTICA  
BOVINA EM REBANHO BOVINO DE LEITE

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária  
Área: Epidemiologia

Belo Horizonte  
Minas Gerais  
1988

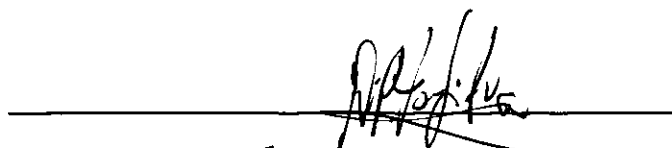
Aprovada em: 02/03/1988



PROF. FRANCISCO CECÍLIO VIANA  
- Orientador -



PROF<sup>a</sup> CELINA MARIA MODENA



PROF. JOSÉ AILTON DA SILVA



DR. ISRAEL JOSÉ DA SILVA



DR. TITO LIVIO MACHADO JUNIOR

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, saúde, fé, esperança e felicidade.

Ao Professor FRANCISCO CECÍLIO VIANA, pela orientação, apoio, amizade e salutar convivência no decorrer do curso.

Ao Dr. ISRAEL JOSÉ DA SILVA, Coordenador do Programa de Pesquisa em Saúde Animal da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG, pela colaboração durante a colheita do material, sugestões apresentadas e pelo incentivo e amizade.

Ao Professor EDMUNDO BENEDETTI pela orientação nas análises estatísticas.

Ao Professor DAVID PEREIRA NEVES pela orientação e sugestões no controle biológico de vetores.

Aos Professores JOSÉ AILTON DA SILVA e CELINA MARIA MODENA, pelas sugestões apresentadas.

Ao Professor JOSÉ MARIA LAMAS DA SILVA, pela amizade, incentivo e ensinamentos ministrados.

Aos Professores do curso de Pós-Graduação, pelos ensinamentos ministrados.

Ao RENATO JOSÉ FRANCO BRANDÃO pelo desenho do mapa da Fazenda Experimental de Cambuquira.

A todos os colegas do curso de Pós-Graduação, pela agradável convivência, amizade, companheirismo e apoio dedica

do.

À Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade concedida.

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais pela receptividade.

Ao PICD/CAPES, pela bolsa concedida.

A todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

O presente trabalho contou com o apoio financeiro da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA e da Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia - FEP-MVZ.

## BIOGRAFIA DO AUTOR

PAULO LOURENÇO DA SILVA, filho de Edgar José da Silva e Júlia Lourenço da Silva, nasceu na cidade de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, aos 21 dias do mês de janeiro de 1956.

Graduou-se em Medicina Veterinária pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais em dezembro de 1978.

Em janeiro de 1979, foi contratado pela GRANJA REZENDE S/A, como supervisor técnico das granjas de matrizes e avós.

Em abril de 1981, foi contratado, através de concurso público, como professor auxiliar de ensino - nível I para o curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, na área de Doenças Infecto-Contagiosas.

Em março de 1985, iniciou o curso de Pós-Graduação à nível de mestrado no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, na área de Epidemiologia.

## RESUMO

O estudo da avaliação de alternativas de controle da Leucose Enzoótica Bovina (LEB), foi aplicado num rebanho de 110 animais das raças holandesa e jersey, pertencente a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Cambuquira, Minas Gerais, onde a prevalência inicial da doença era de 70,19%, com o objetivo de avaliar a eficiência de um conjunto de medidas preventivas, apropriadas a determinado sistema de produção, a fim de prevenir a transmissão horizontal do Vírus Leucose Bovina (VLB). Para verificação do estado sorológico dos bovinos, utilizou-se como diagnóstico, a prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), em placa, com antígeno glicoprotéico. Foram acompanhados 47 bezerros, do nascimento aos 19 meses de idade, período de execução do programa de controle, num total de oito testes sorológicos. Após o nascimento, os bezerros eram separados das mães, sendo que 13 bezerros receberam colostro e/ou leite de vacas soronegativas, e 34 bezerros receberam colostro e/ou leite de vacas soropositivas, aquecido à 56°C por 30 minutos. Dos 13 bezerros que ingeriram colostro e/ou leite de vacas soronegativas, somente um apresentou reação soropositiva durante todo o período considerado, e neste caso, não se descartou a possibilidade de transmissão através de vetores, onde infecção transplacentária, uma vez que, este bezerro era filho de vaca soropositiva. Dos 34 bezerros que ingeriram colostro e/ou leite de vacas soroposi-



tivas à LEB, aquecido à 56°C por 30 minutos, dois apresentaram reação soropositiva ao primeiro teste, negativando-se ao reteste, e cinco ficaram reagentes após a desmama. Ao final do estudo, verificou-se que 79,16% dos bezerros desmamados deste grupo, apresentaram reações soronegativa à prova de IDGA. Adotou-se ainda neste rebanho, como medidas de controle da LEB, a separação dos bezerros em grupos soronegativos e soropositivos à prova de IDGA; uso individual de agulhas nas colheitas de sangue, medicações e vacinações; lavagem e desinfecção dos instrumentos cirúrgicos com iodoform e controle de insetos hematófagos, através da distribuição adequada de dejetos orgânicos oriundos da limpeza do curral. A prevalência da LEB no rebanho diminuiu significativamente ( $P < 0,01$ ) durante o período estudado, de 70,19% para 38,18%. Apesar das dificuldades operacionais verificadas no decorrer do estudo, tais como, prática não definida de descarte, falta de medidas rigorosas na entrada e saída de animais do rebanho e inadequada infra-estrutura de campo, os resultados alcançados podem ser considerados satisfatórios. Concluiu-se que, a intervenção sobre as variáveis relacionadas à transmissão horizontal da LEB determinou a redução da prevalência da LEB no rebanho no período estudado.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. LITERATURA CONSULTADA.....	5
2.1. Controle.....	5
2.2. Colostro e leite.....	8
2.3. Transmissão transplacentária.....	10
2.4. Transfusões de sangue, agulhas, seringas e instrumentos cirúrgicos.....	10
2.5. Insetos.....	12
2.6. Resistência do VLB.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Caracterização da propriedade.....	14
3.2. Caracterização, manejo e histórico da LEB no rebanho.....	14
3.3. Colheita de amostras sangüíneas.....	16
3.4. Teste sorológico.....	16
3.5. Controle da transmissão horizontal da LEB.....	17
3.5.1. Aleitamento dos bezerros.....	17
3.5.2. Separação dos animais em grupo soropositivos e soronegativos.....	17
3.5.3. Utilização de agulhas, instrumental cirúrgico e luvas descartáveis.....	20

	Página
3.5.4. Controle de moscas.....	20
3.6. Análise estatística.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1. Análise estatística.....	23
5. CONCLUSÕES.....	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

## LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA I - Resultados da prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) em bovinos, segundo a faixa etária, antes da implantação do programa de controle da LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira - Cambuquira, Minas Gerais, maio de 1985.....	27
TABELA II - Resultados da prova de IDGA em bovinos, segundo a faixa etária, após a implantação do programa de controle da LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira - Cambuquira, Minas Gerais, dezembro de 1985.....	29
TABELA III - Resultados da prova de IDGA em bovinos, segundo a faixa etária, após a implantação do programa de controle da LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira - Cambuquira, Minas Gerais, dezembro de 1986.....	30
TABELA IV - Resultados da prova de IDGA em bezerros que ingeriram colostro e/ou leite de vacas soronegativas à LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira - Cambuquira, Minas Gerais, 1986.....	32

TABELA V - Resultados da prova de IDGA em bezerros que ingeriram colostro e/ou leite de vacas <u>soro</u> positivas à LEB, aquecido a 56°C por 30 minutos. Fazenda Experimental de Cambuquira - Cambuquira, Minas Gerais, 1986.....	33
---	----

## LISTA DE GRÁFICOS

	Página
GRÁFICO 1 - Prevalência de bovinos reagentes à prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), após a implantação do programa de controle da LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira - Cambuquira, Minas Gerais, maio / 1985 a dezembro de 1986.....	28

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Recipiente para aquecimento do colostro e/ou leite. Detalhe do Termostato.....	18
FIGURA 2 - Recipiente para aquecimento do colostro e/ou leite. Detalhe da resistência.....	19
FIGURA 3 - Capacidade de aquecimento do colostro e/ou leite.....	19

## 1. INTRODUÇÃO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é uma enfermidade neoplásica dos órgãos hematopoiéticos, causada pelo Vírus Leucose Bovina (VLB, Retroviridae: Oncovirinae). Desde o isolamento das partículas virais tipo C de leucócitos de bovinos com LEB (MILLER et alii, 1969), foi possível diferenciar Leucose Esporádica Bovina - forma não associada com VLB, que acomete preferencialmente animais jovens da Leucose Enzoótica Bovina, referida como forma adulta e considerada uma das mais comuns enfermidades neoplásicas diagnosticada em bovinos (FERRER, 1980). Entretanto, é importante distinguir infecção e doença produzida pelo VLB, ou seja, infecção pelo VLB não é sinônimo de LEB. Assim o linfossarcoma se desenvolve em cerca de 5% de bovinos infectados pelo VLB (MILLER, 1980). A infecção pelo VLB, é hoje considerada como problema emergente, de importância sanitária e econômica, não só porque o VLB impõe sérias restrições à exportação e importação de bovinos de alto potencial genético, mas também devido a mortalidade que ele causa, e as possíveis repercussões da infecção sobre a produtividade dos bovinos acometidos.

Os animais que manifestam a forma clínica da enfermidade são, geralmente, os mais velhos. As alterações ocorrem com maior frequência no tecido linfóide, acometendo um ou mais linfonodos, que geralmente apresentam pronunciado aumento de volume (duas a dez vezes em relação ao tamanho normal). À ne-



croscopia são observadas alterações macroscópicas no fígado, baço, rins, útero, trompas, sistema nervoso e região orbital, enquanto que, microscopicamente, são observadas infiltrações difusas de células neoplásicas pleomórficas nos tecidos e órgãos.

As principais informações sobre a doença no Brasil (achados anátomo-patológicos) estão descritas em MERKT et alii (1959), sob a forma de comunicação pessoal, e referem-se a: caso suspeito de material colhido de um matadouro no Rio de Janeiro (SANTOS, 1958); caso diagnosticado em São Paulo (BUENO, 1958) e caso da doença em animal da raça zebu, em Minas Gerais (MACHADO, sem data). Entretanto, coube a MERKT et alii (1959) a primeira divulgação científica da leucose bovina no país, no Rio Grande do Sul, quando um animal da raça holandesa apresentou sinais clínicos e resultado positivo à prova hematológica (chave de GÖETZE, 1956). Contudo, são relativamente recentes os trabalhos de prevalência da LEB no país, e apesar de parciais, evidenciam em algumas regiões trabalhadas, prevalências de 35,6% em 1013 bovinos de leite de diferentes raças, procedentes de 16 municípios do Estado de São Paulo (ALENCAR FILHO et alii, 1979); 70,86% em um rebanho composto de 230 bovinos holandês preto e branco, em diferentes faixas etárias, no Estado de Minas Gerais (MODENA, 1981); 49,25% referente a 1444 bovinos de 12 rebanhos leiteiros no Estado do Rio de Janeiro (ROMERO & ROWE, 1981); 20,7% em 695 bovinos de leite no Estado do Paraná (KANTEK-NAVARRO et alii, 1983); 40,62% em 1274 bovinos procedentes de 8 rebanhos leiteiros e 15,61% em 1652 bovinos de 3 rebanhos de corte, em 8 regiões do Estado de Minas Gerais (MODENA et alii, 1984a); e prevalência média de 28,39% em 317 soros procedentes de sete microrregiões na Região da Zona da Mata, Minas Gerais (SANTOS et alii, 1985).

A implantação de programas de controle /erradicação da LEB tem sido feita em vários países da Europa, desde o fim da segunda guerra mundial. No início, esses programas basearam-se na detecção de rebanhos infectados, através de exames clínicos (presença de tumores), com notificação obrigatória da doença. Cada rebanho identificado era, então, examinado através de

testes hematológicos, e, se os animais apresentassem linfocitose persistente, o rebanho era isolado permanentemente ou sacrificado, sendo, neste caso, o proprietário indenizado. Na Alemanha, os programas de controle da LEB, fracassaram após 10 anos da implantação, com persistência de muitos rebanhos infectados, evidenciando-se que as chaves hematológicas falharam na identificação dos portadores do VLB clinicamente, inaparentes, ou seja, a maioria dos bovinos VLB-infectados (FLENSBURG & STREYFFERT, 1977).

Com os conhecimentos alcançados em anos recentes (etiologia viral, mecanismos de transmissão da doença), e subsequente desenvolvimento de técnicas sorológicas mais específicas e sensíveis para identificação de bovinos infectados pelo VLB, em relação às chaves hematológicas, vários países passaram a adotar a partir de 1979, a prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), utilizando antígeno glicoprotéico no diagnóstico de rotina e nos programas de controle/erradicação da LEB (VAN DER MAATEN & MILLER, 1978). Alguns países, membros da Comunidade Econômica Européia (C.E.E.), têm adotado o teste anual de IDGA em todos os bovinos acima de dois anos de idade, e, em caso de resultados positivos, o rebanho é isolado, com sacrifício dos reagentes. Todos os animais do rebanho, neste caso, com mais de seis meses de idade, são retestados e os reagentes são imediatamente sacrificados. Somente após três testes negativos, intervalados de quatro meses, o rebanho passa a ser considerado livre. Devido à conotação política e sócio-econômica da LEB, torna-se imperativo desenvolver novas medidas estratégicas, a fim de se conseguir o controle efetivo desta enfermidade, uma vez que, pela qualidade genética dos bovinos nas Américas, a erradicação da LEB, utilizando métodos europeus (teste de IDGA e sacrifício dos reagentes), não é uma medida alternativa pragmática para produtores de raças puras. A infecção pelo VLB vem adquirindo importância significativa no decurso dos últimos anos, tanto pelas perdas diretas que causa a nível de rebanhos infectados, como pelas perdas indiretas que atingem as relações de comércio internacional na comercialização de bovinos e/ou sêmen. A importação de bovinos de alguns

países da Europa e América do Norte com o argumento de aumentar a variabilidade genética e a produção de leite, tem constituído em importantes fator de risco à entrada da LEB no Brasil, segundo trabalhos de MUCHALUAT (1971), KANTEK-NAVARRO et alii (1982), BIERGEL et alii (1983) e MODENA et alii (1983). A prevalência da infecção pelo VLB a nível de país e as perdas e conômicas causadas pela doença são difíceis de serem estimadas quantitativamente, devido à dificuldade de diagnóstico e à inexistência de informações dos matadouros. Contribui também para isso o fato de não existir comercialmente no país a produção do antígeno específico (produção em fase experimental), o que restringe a adoção de medidas preventivas de controle/erradicação da doença. Assim, seria necessário o conhecimento da prevalência da LEB no Brasil, associado às diferentes formas de produção, para melhor avaliação das medidas utilizadas no controle de enfermidade.

Foi objetivo deste estudo avaliar a eficiência de um conjunto de medidas preventivas, apropriadas à determinada forma de produção, a fim de prevenir a transmissão horizontal do VLB em um rebanho leiteiro com 70,19% de prevalência inicial da doença. O trabalho foi conduzido na Fazenda Experimental de Cambuquira (FECB), do Governo do Estado de Minas Gerais. Para se atingir o objetivo global, foram propostos os seguintes objetivos específicos:

1. avaliar a separação de bezerros em grupos soronegativos e soropositivos à LEB, pela prova de IDGA;
2. verificar a eficiência do uso de colostro e ou leite de vacas soronegativas à LEB, na alimentação de bezerros, e também do colostro e ou leite pré-aquecido à 56°C por 30 minutos, proveniente de vacas soropositivas à LEB;
3. introduzir medidas de controle, relacionadas à transmissão horizontal da LEB, através da utilização de agulhas individuais nas práticas sanitárias e desinfecção de instrumentos cirúrgicos;
4. empregar medidas que reduzam a população de insetos hematófagos.

## 2. LITERATURA CONSULTADA

### 2.1. Controle

MAMMERICKX et alii (1978) reportaram que a erradicação da LEB é factível, mesmo em rebanhos com altas taxas de infecção, através da identificação de reagentes pelo teste de IDGA, a cada seis meses com sacrifício dos reagentes. No trabalho foram adotadas medidas sanitárias complementares a fim de evitar a transmissão horizontal, pelo uso de agulhas e instrumentos cirúrgicos esterilizados, controle de insetos, controle do sistema de ordenha (ordenhadeiras mecânicas e procedimentos de ordenha), esterilização do colostro e ou leite fornecido aos bezerros, eliminação de vacas velhas e vacas com mamite crônica e introdução de animais livres de leucose no rebanho provenientes de rebanhos VLB-livres.

FERRER (1980) com base nos mecanismos naturais da transmissão do VLB, sugeriu que os programas de controle da LEB não necessariamente deveriam incluir o sacrifício dos bovinos VLB-infectados, e que o princípio mais importante dos programas de controle da LEB seria a identificação e isolamento dos bovinos em grupos soronegativos e soropositivos e adoção de medidas rigorosas, a fim de evitar a transmissão do vírus por vetores ou fômites. Sugeriu ainda, que a administração de colostro e/ou leite de vacas não infectadas ou de vacas infectadas pelo VLB, pré-aquecido à 56°C por 30 minutos, poderia consti-

tuir-se num caminho efetivo para a proteção de bezerros contra a infecção pelo VLB, nos primeiros meses de vida.

RUPPANNER & STEPHEN (1980) consideraram a prova de IDGA e medidas de manejo no rebanho, como estratégia de controle a serem implantadas a nível do rebanho, tendo como principal vantagem o não sacrifício de bovinos soropositivos, e como desvantagem a dificuldade para o fazendeiro em promover mudanças na rotina da propriedade, com resultados do programa de controle evidentes somente a longo prazo (dois a quatro anos). Os autores sugeriram exame clínico e teste sorológico de todos os animais do rebanho, sendo que aqueles identificados como soronegativos seriam isolados dos soropositivos, e estes gradativamente substituídos, quando descartados, por novilhas soronegativas. A prevenção da transmissão horizontal do VLB seria feita através dos seguintes procedimentos: aleitamento de bezerros com colostro e/ou leite de vacas soronegativas ou colostro e/ou leite pasteurizado, esterilização de agulhas e instrumental cirúrgico e proibição da entrada de animais soropositivos no rebanho.

THEILEN et alii (1982) reportaram que a prova de IDGA e o sacrifício dos bovinos soropositivos têm comprovado sucesso em alguns países da Europa, mas são dispendiosos, se não proibitivos economicamente em países com elevadas taxas de infecção pelo VLB.

RUPPANNER et alii (1983) trabalharam com um rebanho leiteiro composto de 130 vacas e demonstraram que é possível estabelecer um "pool" de novilhos soronegativas, a partir de um rebanho soropositivo, através de implantação de medidas de controle baseadas em prova de IDGA do rebanho, separação dos animais em grupos soronegativos e soropositivos, em três propriedades equidistantes cerca de 5 Km entre si, administração de colostro e/ou leite de vacas soronegativas aos bezerros e programa de controle de vetores. Além disso, sugerem que certas práticas de manejo, com o objetivo de prevenir a transferência de sangue de um animal infectado pelo VLB para outro, se relacionam com desinfecção de instrumentos cirúrgicos (agulhas, apare

lhos de tatuar, descornar e castrar), uso de luvas descartáveis para palpação retal, além de uma política de substituição dos animais soropositivos à LEB.

MODENA et alii (1984) como o objetivo de controlar a LEB, realizaram estudo em 12 bezerros - filhos de vacas leiteiras positivas à LEB, de diferentes raças e idades, importadas dos EUA e Canadá. Após o nascimento, os bezerros eram separados e três receberam colostro das mães (soropositivas) e leite de vacas soronegativas. Foram controlados possíveis fatores de transmissão horizontal, como insetos hematófagos (Stomoxys calcitrans) e instrumentos cirúrgicos (agulhas). Os bezerros foram retestados cinco vezes no intervalo de um ano, utilizando-se para o diagnóstico a prova de IDGA. Os resultados observados no período foram negativos para todos os bezerros e os autores concluíram que não houve transmissão de enfermidade através das variáveis consideradas.

STRAUB (1984a) demonstrou a possibilidade de se obter rebanhos não infectados a partir de vacas infectadas pelo VLB, através da identificação sorológica, política de descarte das vacas reagentes, separação dos animais soronegativos dos soropositivos e controle de insetos hematófagos.

THOMAS et alii (1984) sugeriram como medidas práticas no controle da LEB em rebanhos leiteiros, a prova de IDGA em todos os animais, separação dos animais soronegativos dos soropositivos, administração de colostro e/ou leite de vacas soronegativas aos bezerros, uso individual de agulhas, lavagem e desinfecção de instrumentos cirúrgicos, especialmente, aparelhos de tatuar, descornar e castrar, controle de insetos e uma política de substituição do rebanho, no caso de animais recém-adquiridos, de acordo com a prova de IDGA.

JOHNSON et alii (1985) conduziram estudo, a fim de desenvolver estratégias de controle para a LEB, utilizando rebanho leiteiro composto de 114 vacas, das quais 95% eram soropositivas à prova de IDGA. Instituíram, como medidas estratégicas de controle da LEB, a separação dos animais em grupos etários compreendidos entre 0-15 meses, 16-23 meses e acima de 24

meses de idade. As instalações destes grupos, distavam 90 metros uma das outras, e 1,21 Km de outras unidades com vacas soropositivas e soronegativas. Outras medidas adotadas foram o uso individual de agulhas, desinfecção de material cirúrgica, programa de controle de vetores e teste de IDGA mensal, a partir de 6-7 meses de idade, e em casos positivos os animais eram removidos para os rebanhos soropositivos. Após três anos de observações, a prevalência da LEB neste rebanho caiu de 95% para 34%. Os autores concluíram que o controle, e possivelmente a erradicação da LEB é aparentemente factível, e a rapidez com que os resultados das medidas de controle são alcançados dependem da prevalência da infecção no rebanho, do grau de aplicação das medidas sanitárias e da boa vontade do fazendeiro para separar e substituir vacas soropositivas.

## 2.2. Colostro e leite

CHANDER et alii (1978) demonstraram que a maioria dos bezerros nascidos de vacas soropositivas apresentam-se soronegativos ao nascimento, entretanto, podem se tornar soropositivos logo após o nascimento por absorção do colostro, com persistência de anticorpos por períodos de dois a sete meses, antes de se tornarem negativos, o que indica a presença de anticorpos maternos residuais, adquiridos através do colostro.

FERRER & PIPER (1978) reportaram que, apesar da frequência com que o VLB e/ou linfócitos infectados pelo VLB podem estar presentes no colostro e/ou leite de vacas infectadas a transmissão do VLB através desta via parece ser relativamente infreqüente, provavelmente devido à presença de anticorpos neutralizantes que bezerros, nascidos de vacas infectadas pelo VLB, adquiriram através do colostro, por um período de aproximadamente seis meses.

MILLER & VAN DER MAATEN (1979) administraram colostro e leite de vacas infectadas pelo VLB em cordeiros, que tornaram-se soropositivos após dois a três meses, e permaneceram assim por seis meses, tempo de duração do estudo.

VAN DER MAATEN et alii (1981) demonstraram que bezerros recém-nascidos que receberam  $10^6$  linfócitos infectados pelo VLB em colostro livre de anticorpos específicos tornaram-se infectados, e bezerros alimentados com colostro contendo anticorpos específicos com  $10^7$ ,  $10^8$  ou  $10^9$  linfócitos VLB - infectados pelo VLB não se infectaram, e que a imunidade passiva adquirida pelo colostro era suficiente para prevenir a infecção em animais jovens até aproximadamente quatro meses de idade.

KENYON et alii (1982) sugeriu a possibilidade do colostro conter pequenas quantidades de anticorpos, insuficientes para neutralizar o VLB, e neste caso poderia ser um veículo de células infectadas pelo VLB. O autor concluiu que embora esta situação seja infrequente, o VLB tem sido detectado no colostro e/ou leite de vacas infectadas.

THURMOND & BURRIDGE et alii (1982) demonstraram que bezerros recém-nascidos recebem, dependendo do estado sorológico da mãe, colostro com ou sem anticorpos específicos, e que a imunidade passiva, adquirida com colostro previne a infecção em animais jovens durante um período de três a seis meses de idade.

BIERGEL et alii (1983) testaram 91 bezerros de um rebanho HPB, pela prova de IDGA e apresentaram a seguinte distribuição da LEB, segundo os grupos etários: 0 - 30 dias: 44,4%; 30 - 60 dias: 37,5%; 60 - 120 dias: 30,8%; 120 - 180 dias: 50%; 180 - 360 dias: 41,3%. Demonstraram que estes resultados revelam a possibilidade de ocorrência de anticorpos séricos colostrais que tendem a diminuir com o desenvolvimento etário, e, sugeriram que inicialmente ocorre imunidade passiva adquirida, posteriormente aumento do número de sororeagentes por infecção pelo VLB, como demonstrado nos animais entre 6 e 12 meses, face em que já desapareceram os anticorpos colostrais.

ROMERO et alii (1983) utilizaram a prova de IDGA para detectar a presença de anticorpos contra VLB em bezerros alimentados com leite de vacas livres e infectadas pelo VLB, e, concluíram que o VLB é alimentado no leite de vacas infectadas



constituindo-se em fonte de infecção para bezerros recém-nascidos.

O papel do colostro e ou leite na transmissão do VLB tem sido ponto de controvérsia. STRAUB (1984b) inoculou colostro e leite de vacas infectadas pelo VLB em ovinos por via intraperitoneal e verificou que as evidências de transmissão foram raras, concluindo que o colostro e ou leite administrado a bezerros somente é infectante quando proveniente de animais soropositivos e antígenos positivo, e que somente a presença de anticorpos específicos no colostro e ou leite não previne a infecção no recém-nascido; entretanto KENYON et alii (1982) demonstraram a infectividade do colostro/leite de vacas naturalmente infectada, quando inoculado, via intraperitoneal, em cordeiros recém-nascidos.

### 2.3. Transmissão transplacentária

FERRER et alii (1976); PIPER et alii (1979) demonstraram que aproximadamente 14 a 18% dos bezerros, filhos de vacas infectadas pelo VLB nascem infectados.

FERRER (1980) concluiu que a infecção pré-natal com VLB ocorre por via transplacentária, durante os últimos seis meses de vida intra-uterina, mais propriamente através de células germinativas, ou como consequência de transmissão do VLB para o embrião.

JACOBSEN et alii (1983) demonstraram que somente 3,8% dos bezerros, filhos de vacas naturalmente infectadas, nasceram infectados.

VALIKHOV et alii (1984) sugeriram que a transmissão transplacentária do VLB não é importante na disseminação da doença em um rebanho, sendo que, na maioria das vezes, a progênie de vacas infectadas pelo VLB é livre de vírus, durante os primeiros meses de vida.

### 2.4. Transfusões de sangue, agulhas, seringas e instrumentos cirúrgicos

ROSENBERGER (1963; 1968) relatou a possibilidade de transmissão da leucose bovina através da tuberculização; e demonstrou a transmissão da LEB através de agulhas e seringas, contaminadas previamente, na colheita de sangue de um animal com linfossarcoma.

MAMMERICKX et alii (1978) demonstraram que a forma predominante de transmissão horizontal do VLB é através de linfócitos infectados e não por vírus livre, inoculados por via cutânea ou sub-cutânea, através de agulhas hipodérmicas, instrumentos cirúrgicos ou soluções de continuidade da pele.

FERRER (1980) considerou agulhas, seringas e instrumentos cirúrgicos, contaminados durante intervenções cirúrgicas, em especial descornas e castrações, como importantes meios de transmissão do VLB.

LUCAS & ROBERTS (1982) utilizaram bovinos infectados pelo VLB como fontes de infecção, a fim de demonstrar a importância da tuberculinização na disseminação da LEB, e de um total de 30 animais (15 bezerros e 15 cordeiros), inoculados via intra-dérmica com seringas de tuberculinização contaminadas, três bezerros (20%) e três cordeiros (20%) desenvolveram infecção pelo VLB.

DARLINGTON et alii (1984); DIGIACOMO et alii (1985) demonstraram, à nível de campo, que o uso de aparelhos de descorna, contaminados com sangue de animais infectados pelo VLB, resultaram no aparecimento de anticorpos específicos em animais descornados, detectados pela prova de IDGA, três meses após a descorna.

HORVÁTH et alii (1984) demonstraram experimentalmente a transmissão do VLB em ovinos, através de agulhas hipodérmicas, utilizadas repetidamente sem desinfecção prévia, e sugeriram, como medida preventiva da LEB, fervura das agulhas por 15 minutos ou suspensão por 15 minutos em soluções de formaldeído a 3% ou iodoform a 3%.

MAMMERICKX et alii (1984) correlacionaram a pele, membranas mucosas e serosas, como prováveis vias de contaminação pelo VLB, e verificaram que os riscos de infecção são maio

res quando a integridade dos tecidos epiteliais estão afetados por soluções de continuidade.

## 2.5. Insetos

Visto que as partículas do VLB usualmente não replicam "in vivo" (STOCK & FERRER, 1972) e que o VLB parece infectar somente linfócitos, alguns pesquisadores concordam que bovinos se tornariam infectados mais propriamente pela transmissão de linfócitos infectados do que pela presença de vírus livre (MAMMERICKX et alii, 1978; VAN DER MAATEN & MILLES, 1978). Considerando esta opinião, MAMMERICKX et alii (1978), propuseram a hipótese de inoculação de células infectadas pelo VLB através das vias cutânea (agulhas hipodérmicas, insetos hematófagos, instrumentos cirúrgicos e doenças cutâneas), oral (leite e colostro para bezerros em aleitamento), mamária (lesões de vido à ordenha mecânica) ou mucosa (trato genital).

HAWKINS et alii (1976) observaram que tabanídeos e outros insetos hematófagos podem voar longas distâncias em busca de hospedeiros, podendo disseminar vírus de um rebanho a outro. Entretanto, a área de disseminação pode ser restrita se houver rápida perda na viabilidade linfócitos infectados pelo VLB, transportados pelo vetor.

BECH-NIELSEN et alii (1978) observaram que a transmissão por contato era mais freqüente durante os meses de verão e recuperaram linfócitos infectados pelo VLB de tabanídeos que sugaram vacas infectadas, indicando que os insetos hematófagos têm importante papel na disseminação do VLB.

TYLER (1978); VAN DER MAATEN & MILLER (1978) verificaram que a inoculação intra-dérmica de 2.500 linfócitos infectados pelo VLB (número contido em 0,0005 ml de sangue) poderia transmitir a infecção.

OSHIMA et alii (1981) comprovaram a transmissão do VLB pelos tabanídeos, sob condições naturais a nível de campo, e observaram que a mosca pode sugar vários hospedeiros, desde que o ato alimentar seja interrompido devido à reação do

hospedeiro pela dor da picada.

GUIMARÃES (1984; 1985) relatou que medidas importantes para o controle de moscas consistem no recolhimento dos resíduos alimentares dos côchos e dejetos orgânicos do curral e estábulo, a fim de evitar a formação dos criadouros; e sugeriu armazenamento deste material de forma a permitir o compactamento da massa orgânica, cobrindo os montes com lona plástica, de tal modo que, a fermentação sendo muito elevada, elimina ovos e larvas presentes na superfície.

BUXTON et alii (1985) relataram que a importância das espécies Stomoxys calcitrans, Haematobia irritans e tabanídeos (diptera: Tabanidae) na transmissão mecânica da LEB, está provavelmente limitado a locais onde haja grandes concentrações de animais e insetos, pois a picada dolorosa destes e a consequente reação do animal interrompe a hematofagia facultando a troca intensa de hospedeiros.

NEVES (1986) sugeriu como medidas para o controle de moscas, o recolhimento dos dejetos orgânicos em esterqueiras adequadas ou compactamento da massa orgânica, de tal forma que, a excessiva fermentação mate ovos e larvas presentes. Lonas plásticas, cobrindo os montes de esterco também são eficientes, pois diminuem a área exposta e aumentam a fermentação.

## 2.6. Resistência do VLB

DIGLIO & FERRER (1976) demonstraram que o aquecimento a 56°C, durante 15 minutos destrói completamente a infeciosidade do VLB, mas não afeta significativamente a atividade dos anticorpos neutralizantes contra o VLB (FERRER & DIGLIO, 1976).

AVRAM et alii (1982) demonstraram que o VLB é inativado a 56°C por 30 minutos, a 65°C por 5 minutos e a 73°C por 30 segundos e que os raios ultra-violeta inativam o VLB após 30 minutos. O VLB é também inativado pelo hidróxido de sódio a 0,5% em 30 minutos, formalina 0,05% em oito horas, a 37°C, e fenol 0,5% em 15 dias, a 4°C.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização da propriedade

O estudo foi realizado na Fazenda Experimental de Cambuquira (FECB) de propriedade do Governo do Estado de Minas Gerais, localizada no município de Cambuquira. Este município situa-se no Peneplano do Alto Rio Grande, microrregião 198, "Planalto Mineiro", no circuito das águas do Estado de Minas Gerais, a 310 Km de Belo Horizonte, com área total de 250 Km<sup>2</sup>. O clima apresenta temperatura média anual de 19°C, mínima de 10°C e máxima de 26°C. A sede municipal situada a 950 metros de altitude tem como coordenadas geográficas: 21° 51'00'' latitude sul, 45° 17'50'' longitude oeste, meridiano do Rio de Janeiro.

O experimento foi realizado no período de maio de 1985 a dezembro de 1986.

#### 3.2. Caracterização, manejo e histórico da LEB no rebanho

O rebanho bovino utilizado neste estudo era composto de 110 animais das raças Holandês Vermelho e Branco e Jersey.

A pesquisa agropecuária constituiu-se na principal finalidade da fazenda e, em termos de produção animal, destaca-se

a exploração de leite tipo C e a venda de tourinhos. É freqüente a entrada e saída de bovinos em razão de manejo adotado em outras propriedades da empresa.

Os bezerros após o nascimento recebiam exclusivamente o colostro durante 24 horas, sendo transferidos para bezerreiros individuais, onde eram aleitados através de baldes. Aos 20 dias de idade eram soltos em piquetes, recebendo aleitamento artificial, capim picado e concentrados, até cinco meses de idade manuais.

As vacas eram mantidas em regime de semi-estabulação, com produção média de 9 kg de leite/cabeça/dia, em sistema de duas ordenhas.

A alimentação era principalmente a pasto com suplementação para as vacas leiteiras, composta de silagem de milho e ração com 22% de proteína bruta fornecida no momento da ordenha. Durante o período de seca, recebiam volumoso composto de capim napier triturado, silagem de milho e aveia. A mineralização do rebanho era feita o ano todo, com produtos comerciais, em côchos distribuídos nas pastagens.

As aguadas eram provenientes de fontes superficiais (córregos) e subterrâneas (poços rasos).

Adotava-se neste rebanho, a inseminação artificial, como rotina.

O manejo de resíduos orgânicos até maio de 1985 era feito de forma variável, dependendo da mão-de-obra disponível. O esterco acumulado no estábulo e curral era amontoado em carroça, permanecendo aí por dois a três dias, sendo após este período, espalhado na capineira.

Os animais eram vermifugados de quatro em quatro meses, e o controle de carrapatos era feito de 20 em 20 dias, por aspersão. O esquema de vacinação incluía a febre aftosa, brucelose e carbúnculo sintomático.

O levantamento preliminar da LEB neste rebanho, através da prova de IDGA, revelou uma prevalência de 50,2% em 1982.

Em setembro de 1983, novo levantamento foi realiza-

do, encontrando-se uma prevalência de 56,0%.

Em fevereiro de 1984, iniciou-se um projeto preliminar, objetivando o controle da LEB. A estratégia principal foi a administração de colostro de vacas soronegativas à LEB e de leite em pó aos bezerros, o que resultou, ao final de 10 meses de observações, na obtenção de 20 bezerros soronegativos, de um total de 33 nascidos neste período. Entretanto, o projeto não teve continuidade, sendo retomado com adoção de novas medidas, a partir de maio de 1985, época em que a prevalência chegou a 70,19%.

### 3.3. Colheita de amostras sangüíneas

Foram realizadas oito colheitas de sangue no período de 19 meses de observação, sendo que, em 1985, amostras foram colhidas nos meses de maio, agosto, outubro e dezembro e, em 1986, nos meses de abril, julho, setembro e dezembro.

### 3.4. Teste sorológico

Foi realizada a prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) e, placa descrita por MILLER & VAN DER MAATEN (1976), utilizando-se o kit LEUKASSAY B\*.

A leitura foi realizada após 24 horas, até 48 horas, com auxílio de fonte luminosa, adequada ao método de imunodifusão, provida de ajuste para várias posições com graduação para intensidade de luz, contra fundo escuro.

---

\* LEUKASSAY B - Bovine Leukemia Glicoprotein, Immunodifusion antigen ovine cell line origen; reagent serum and reference seruns, bovine origin PITMAN - MOORE INC., Washington Crossing, N.J. 08560.

### 3.5. Controle de transmissão horizontal da LEB

#### 3.5.1. Aleitamento dos bezerros

a) Administração de colostro e/ou leite sem aquecimento prévio.

Esta prática foi mantida, enquanto se dispunha de vacas negativas à prova de IDGA para leucose, até o período de desmama dos bezerros, segundo recomendações de FERRER (1980).

b) Administração de colostro e/ou leite pré-aquecido.

O colostro e/ou leite de vacas soropositivas à LEB era submetido a um aquecimento térmico ( $56^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos) de acordo com FERRER (1980).

O aleitamento referia-se ao período compreendido do nascimento à desmama.

O colostro e/ou leite foi pré-aquecido em um recipiente semelhante a um "banho-maria", construído de forma artesanal, com o objetivo de minimizar o custo (FIG. 1). Este equipamento foi confeccionado com "folha de flandes", apresentando as seguintes características:

- dimensão: 0,30 x 0,15 x 0,30 m;
- termostato: 15 ampères, variação de 30 a  $70^{\circ}\text{C}$  (FIG. 1);
- resistência: 2000 watts (tipo ebulidor) (FIG. 2);
- capacidade: aproximadamente 3 litros (FIG. 3).

O custo final do aparelho foi de aproximadamente o correspondente a Cr\$ 800.000,00 (oitocentos mil cruzeiros) em abril de 1985, equivalente a 23,4 ORTNs.

#### 3.5.2. Separação dos animais em grupo soropositivos e soronegativos

Essa medida de controle foi recomendada tendo como base os trabalhos de FERRER (1980); RUPPANNER & STEPHEN (1980);





FIG. 1 -- Recipiente para aquecimento  
do colostro e ou leite.  
Detalhe do Termostato.

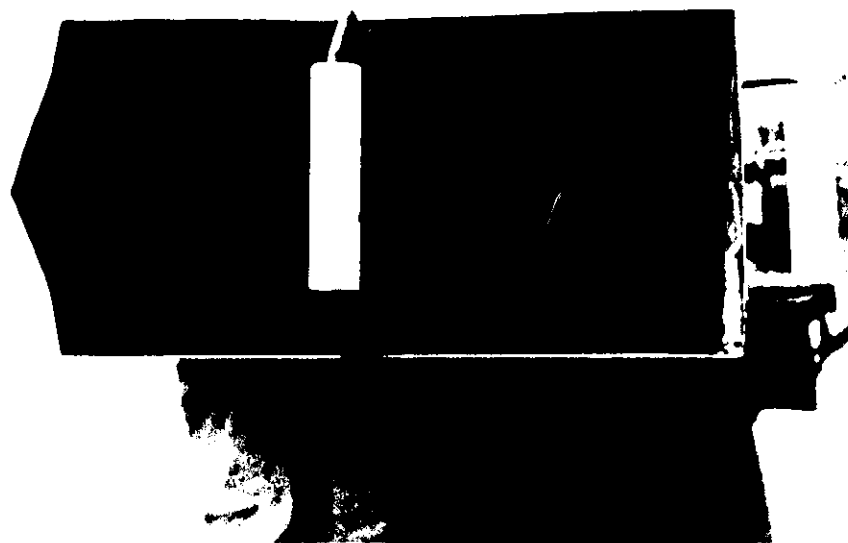


FIG. 2 - Recipiente para aquecimento do colostro e  
ou leite. Detalhe da resistência.

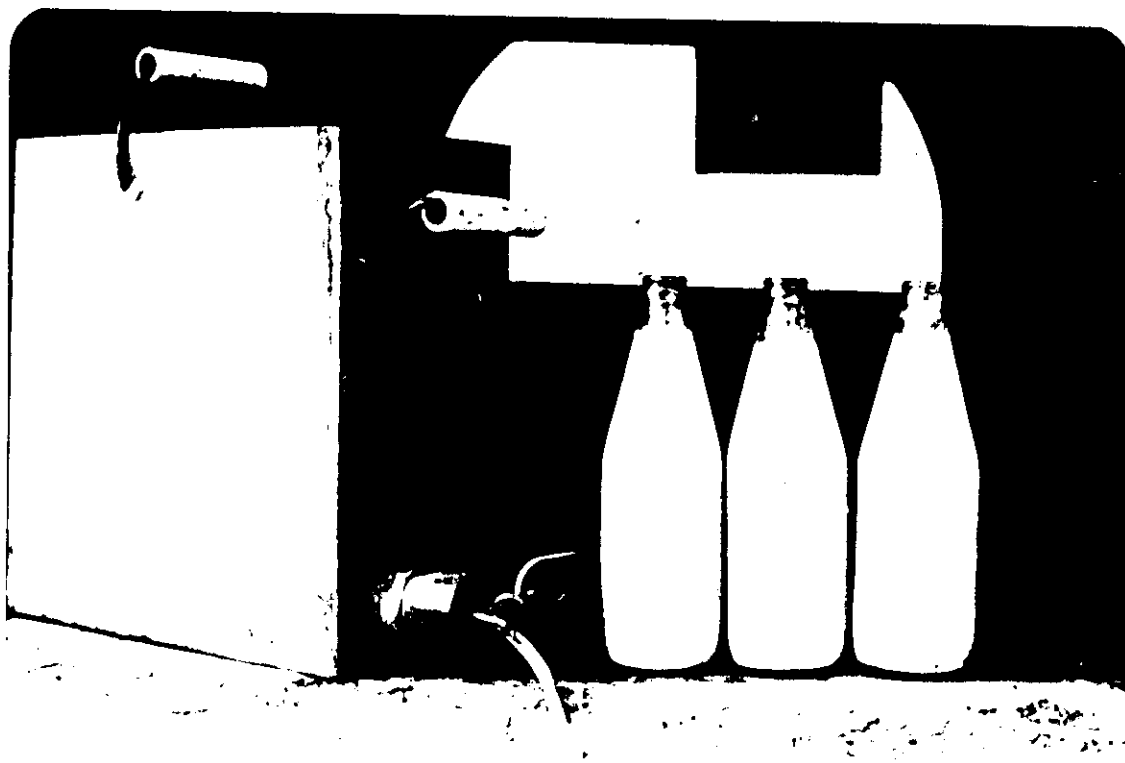


FIG. 3 - Capacidade de aquecimento do colostro e ou  
leite.

PUPPANNER et alii (1983) e JOHNSON et alii (1985).

A partir da implantação das medidas de controle da LEB, os bezerros que eram manejados conjuntamente nos piquetes I e II (MAPA 1) foram separados em grupos soronegativos (Piquete I) e soropositivos (Piquete II) à prova de IDGA. A distância entre estes piquetes e o estábulo não ultrapassava 40 metros. Os piquetes I e II eram separados por cerca dupla equivalente a uma distância de aproximadamente 20 metros.

### 3.5.3. Utilização de agulhas, instrumental cirúrgico e luvas descartáveis

Os cuidados com relação a esse tópico basearam-se nos trabalhos de MAMMERICKX et alii (1978); FERRER (1980); RUPPANNER et alii (1983) e JOHNSON et alii (1985).

a) Uso individual de agulhas nas colheitas de sangue, medicações e vacinações. Após utilização, as agulhas eram lavadas, fervidas e submergidas em solução desinfetante (iodoform 70 mg/l), colocadas em estufa para secagem e guardadas em recipiente estéril.

b) Lavagem e desinfecção dos instrumentos cirúrgicos após o uso, especialmente, aparelhos de tatuar e desconar.

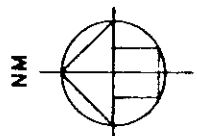
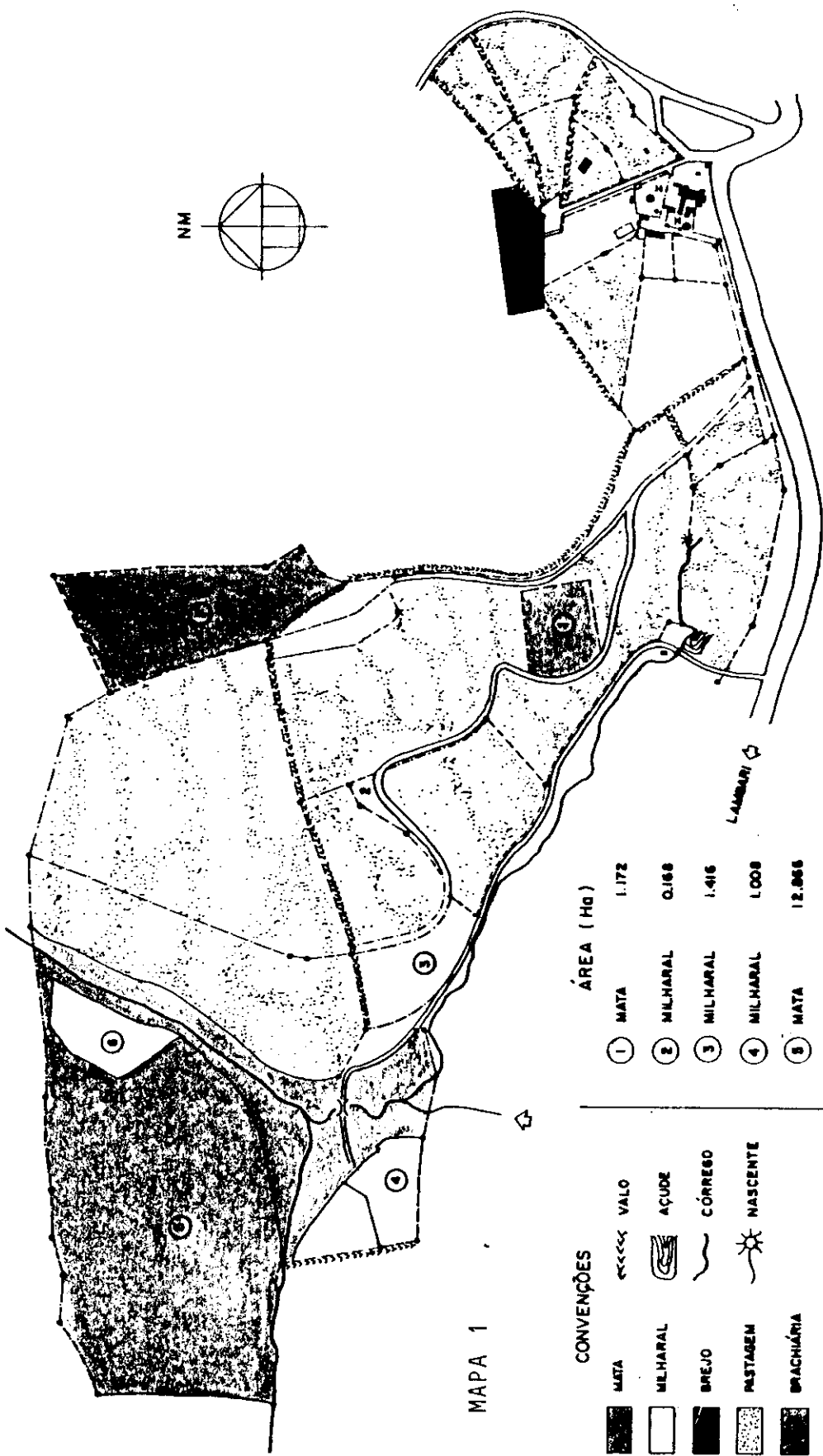
c) Uso de luvas plásticas individual para palpação retal.

### 3.5.4. Controle de moscas

As medidas instituídas para modificar o manejo dos dejetos orgânicos procedentes dos animais da fazenda tiveram como referência as recomendações de GUIMARÃES (1984; 1985) e NEVES (1986).

Para promover a melhoria do manejo dos dejetos oriundos da limpeza do curral, foi recomendado a seguinte rotina:

- acumular, nas proximidades da capineira, o material orgânico, procedente da raspagem de fezes das instalações



MAPA 1

CONVENÇÕES

- MATA
- MILHARAL
- BREJO
- PASTAGEM
- BRACHIÁRIA
- CENTÉRIO
- CONSTRUÇÕES
- ESTRADA
- CERCA
- PONTE
- SILÓ
- VALO
- AÇUDE
- CÓRREGO
- NASCENTE

ÁREA (Ha)

- 1 MATA 1.172
- 2 MILHARAL 0.168
- 3 MILHARAL 1.416
- 4 MILHARAL 1.008
- 5 MATA 12.868
- 6 MILHARAL 1.092
- 7 BRACHIÁRIA 3.966

OBSERVAÇÃO:

- I - PIQUETE DE ANIMAIS SORONEGATIVOS
- II - PIQUETE DE ANIMAIS SOROPOSITIVOS

TÍTULO : ALTERNATIVAS DE CONTROLE DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA EM REBANHO DE LEITE		21
PROJETO : LEVANTAMENTO TOPOGRÁFICO PLANIMÉTRICO	LOCAL : FAZENDA EXPERIMENTAL DE CAMBUQUIRA	
AUTOR : PAULO LOURENÇO DA SILVA		
DATA :	ESC.: 5/ESC.	FOLHA: 01/01
		ÁREA: 80.080 Ha

de três dias consecutivos;

- compactar ligeiramente o monte e cobrir com lona plástica, por um período de 12 dias, a fim de favorecer a fermentação;

- retirar a lona plástica e deixar completar a fermentação, por dois dias, observando a existência ou não de larvas ou pupas de moscas viáveis;

- distribuir o material orgânico na capineira.

### 3.6. Análise estatística

A análise estatística do experimento será através de tabelas de contingência, analisada pelo teste do Chi-quadrado ( $X^2$ ), segundo SNEDECOR & COCHRAN (1969).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

##### 4.1. Análise estatística

1. Prevalência da LEB no rebanho leiteiro da FECB no período de maio a dezembro de 1985. (Teste  $X^2$ ).

Tratamento (medidas de controle)	Animais		Total
	Positivos	Negativos	
Antes	73 (63,14) *	31 (40,86) **	104
Depois	63 (72,86) *	57 (47,14) **	120
	136	88	225

(\*\*) (P < 0,01)

2. Prevalência da LEB no rebanho leiteiro da FECB

no período de maio de 1985 a dezembro de 1986 (Teste  $X^2$ ).

Tratamento (medidas de controle)	Animais		Total
	Positivos	Negativos	
Antes	73 (55,89)**	31 (48,11)**	104
Depois	42 (59,11)**	68 (50,89)**	110
	115	99	214

(\*\*) (P < 0,01)

3. Prevalência da LEB em bovinos desde o nascimento até dois anos de idade da FECB no período de 1985 a dezembro de 1986 (Teste  $X^2$ ).

Tratamento (medidas de controle)	Animais		Total
	Positivos	Negativos	
Antes	22 (13,18)**	26 (34,82)**	48
Depois	06 (14,82)**	48 (39,18)**	54
	28	74	102

(\*\*) (P < 0,01)

4. Tratamentos adotados no controle da LEB em bezerros lactentes da FECB no período de maio de 1985

a dezembro de 1986.

Tratamento	Animais		Total
	Positivos	Negativos	
Bezerros alimentados com colostro e/ou leite de vacas soronegativas	01 (1,66)	12 (11,34)	13
Bezerros alimentados com colostro e/ou leite pré-aquecido à 56°C por 30 minutos de vacas soropositivas	05 (4,34)	29 (29,66)	34
	06	41	47

P.S. Não houve significância entre os tratamentos.

Observa-se na análise 1, que a hipótese nula testada foi rejeitada, uma vez que, a diferença da prevalência da LEB no período de sete meses da implantação do programa de controle foi significativa à nível de 1%. Isto, é um reflexo da eficiência dos tratamentos na prevenção da infecção.

Na análise 2 o mesmo resultado se evidencia. Ocorreu uma redução significativa estatisticamente ( $P < 0,01$ ) da infecção da LEB no período de 19 meses.

Verifica-se na análise 3, que a LEB teve sua prevalência diminuída significativamente ( $P < 0,01$ ) em bovinos de idade variando desde o nascimento até 24 meses.

A análise dos tratamentos propostos para o controle da infecção da LEB está contida no quadro de contingência 4. Observa-se que para a hipótese nula formulada, de que "não há diferença entre os resultados sorológicos para LEB em bezerros



alimentados com colostro e/ou leite de vacas soronegativas e colostro e/ou leite aquecidos de vacas soropositivas", o teste  $X^2$  não apresentou significância estatística, mostrando assim que, os tratamentos foram capazes de controlar a infecção da LEB em bezerros lactentes. O leite aquecido contribuiu significativamente ( $P < 0,01$ ) no controle da disseminação do VLB, reforçando as observações de FERRER (1980), RUPPANNER et alii (1983); THOMAS et alii (1984) e JOHNSON et alii (1985).

A prevalência da LEB no rebanho bovino da Fazenda Experimental de Cambuquira, antes de se iniciar o presente controle, mostrou-se muito elevada (70,19%) TAB. I e GRÁFICO I, uma vez que, ALENCAR FILHO et alii (1979); ROMERO & ROWE (1981); KANTEK-NAVARRO et alii (1983); MODENA et alii (1984a) e SANTOS et alii (1985), encontraram uma variação entre 20,7% e 49,25 % de infecção em rebanhos leiteiros. Decorridos sete meses da implantação de medidas de controle da transmissão horizontal, houve diferença significativa ( $P < 0,01$ ) na prevalência da doença (52,50%) em dezembro de 1985, conforme TAB. I e II. Em 1986, em quatro levantamentos sorológicos realizados, a prevalência diminuiu significativamente ( $P < 0,01$ ) para 38,18%, conforme GRÁFICO I e TAB. III. Observa-se, ainda, nas TAB. I, II e III que a prevalência em animais com até dois anos de idade que era de 45,8% em maio de 1985, caiu para 20,3% em dezembro de 1985 e 9,83% em dezembro de 1986. Estes resultados foram significativos estatisticamente ( $P < 0,01$ ). Considera-se, portanto, bons os resultados, tendo em vista a duração do programa de controle (19 meses) e o aparecimento de outras variáveis interferentes, quais sejam, prática não definida de descarte, falta de medidas rigorosas na entrada e saída de animais do rebanho e a inadequada infra-estrutura de campo; o que não foi observado no trabalho de JOHNSON et alii (1985). Estes autores verificaram uma redução de 95% para 34% na prevalência da LEB, após três anos da implantação de medidas de controle horizontal da doença.

Algumas dificuldades operacionais foram também relatadas por FERRER (1980) e RUPPANNER & STEPHEN (1980), especial

TABELA I - Resultados da prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) em bovinos, segundo a faixa etária, antes da implantação do Programa de Controle da LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira - MG - maio/1985

Idade (anos)	Nº testados	Nº positivos	%
0 - 1	38	17	44,73
1 - 2	10	05	50,00
2 - 3	08	06	75,00
3 - 4	10	08	80,00
4 - 5	08	07	87,50
5 - 6	08	08	100,00
6 - 7	07	07	100,00
> 7	15	15	100,00
Total	104	73	70,19

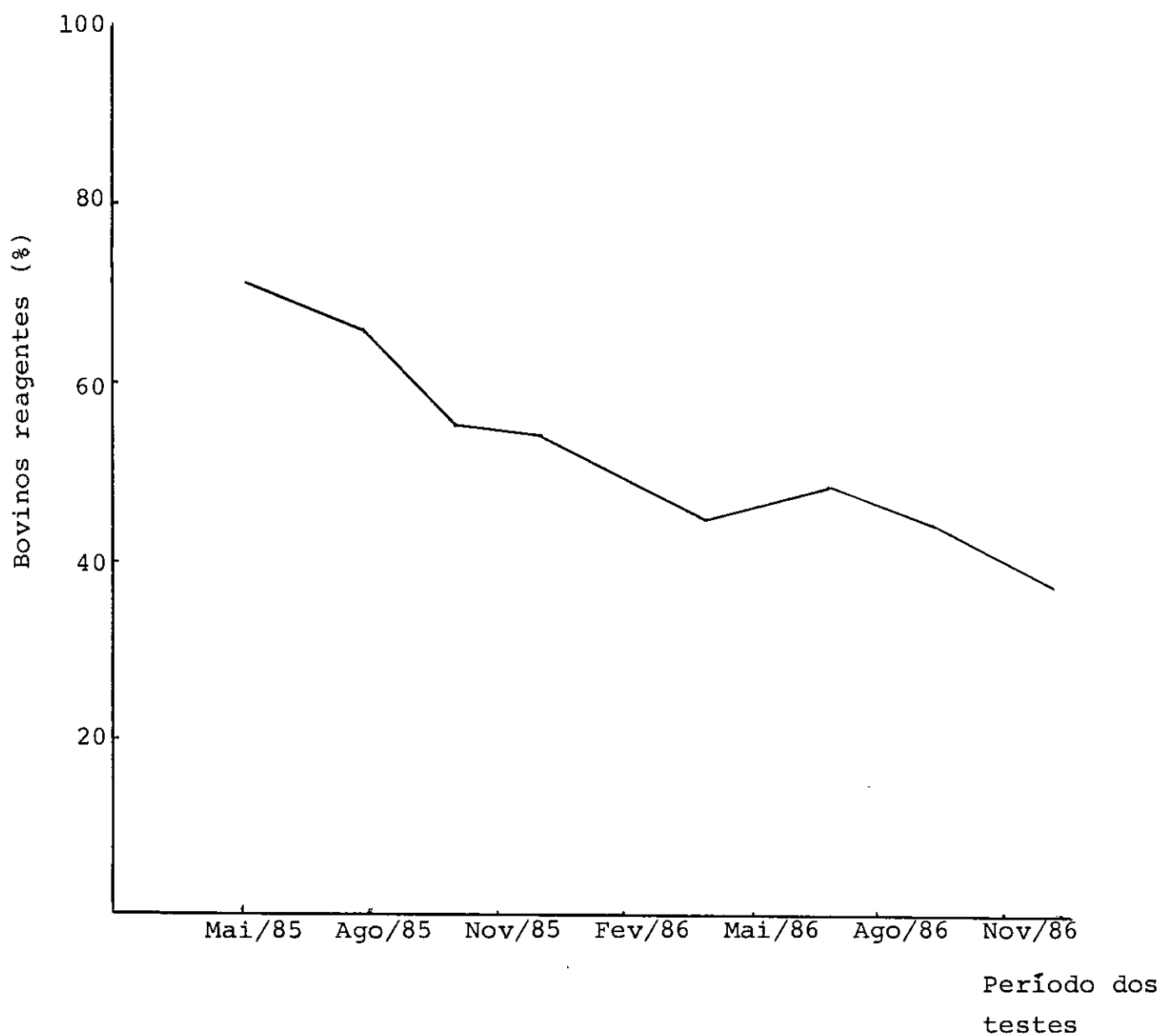


GRÁFICO I - Prevalência de bovinos reagentes à prova de IDGA após implantação do programa de controle da LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira - Cambuquira, Minas Gerais. Maio de 1985 a Dezembro de 1986.

TABELA II - Resultados da prova de IDGA em bovinos, segundo a faixa etária, após a implantação do Programa de Controle de LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira. Cambuquira - MG - 1985

Idade (anos)	Resultados da prova de IDGA											
	Agosto				Outubro				Dezembro			
	Testados	Positivos	%	Testados	Positivos	%	Testados	Positivos	%	Testados	Positivos	%
0 - 1	41	13	31,70	48	09	18,75	48	07	14,58			
1 - 2	11	08	72,72	12	05	41,66	16	06	37,50			
2 - 3	08	05	62,50	08	05	62,50	08	05	62,50			
3 - 4	08	06	75,00	09	07	77,77	07	06	85,71			
4 - 5	09	07	77,77	09	08	88,88	10	08	80,00			
5 - 6	09	09	100,00	07	07	100,00	06	06	100,00			
6 - 7	10	10	100,00	10	10	100,00	10	10	100,00			
> 7	12	12	100,00	14	14	100,00	15	15	100,00			
Total	108	70	64,81	117	65	55,55	120	63	52,50			

TABELA III - Resultados da prova de IDGA em bovinos, segundo a faixa etária, após a implantação do Programa de Controle da LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira. Cambuquira - MG - 1986

Idade (anos)	Resultados da prova de IDGA											
	Abril			Julho			Setembro			Dezembro		
	Testados	Positivos	%	Testados	Positivos	%	Testados	Positivos	%	Testados	Positivos	%
0 - 1	39	07	17,94	38	09	23,68	36	09	25,00	29	02	6,89
1 - 2	30	08	26,66	25	06	24,00	27	04	14,81	32	04	12,50
2 - 3	09	04	44,44	11	06	54,50	10	05	50,00	12	05	41,66
3 - 4	07	05	71,42	06	05	83,33	08	06	75,00	06	04	66,66
4 - 5	08	06	75,00	07	05	71,42	05	03	60,00	07	05	71,42
5 - 6	05	05	100,00	09	06	66,66	06	04	66,66	06	04	66,66
6 - 7	06	06	100,00	07	07	100,00	05	05	100,00	06	06	100,00
> 7	09	09	100,00	10	10	100,00	12	12	100,00	12	12	100,00
Total	113	50	44,24	113	54	47,78	109	48	44,03	110	42	38,18

mente quando não se decidiu adotar política de sacrifício dos soropositivos, em favor do emprego de medidas relacionadas ao controle da transmissão horizontal da doença. Os resultados obtidos até o momento abrem perspectivas para que se atinja a erradicação dentro de três a cinco anos, desde que mantidas as atuais estratégias e asseguradas melhores condições de manejo, como preconizaram FERRER (1980) e JOHNSON et alii (1985).

Como já mencionado, não houve diferença estatística entre os tratamentos administrados para bezerros lactentes. Na TAB. IV verifica-se que de 13 bezerros nascidos a partir de maio/85 e acompanhados até dezembro/86, apenas 1/13 foi positivo (7,69%) resultado consonante com os de MODENA et alii (1984). O único caso sororeagente à LEB, corresponde a um bezerro filho de vaca soropositiva e nesse caso, não se descarta a possibilidade de transmissão através de vetores, aspecto difícil de ser avaliado a nível de campo, ou de infecção transplacentária segundo trabalhos de FERRER et alii (1976), PIPER et alii (1979); FERRER (1980) e JACOBSEN et alii (1983), apesar deste meio de transmissão não se constituir de grande importância na disseminação da doença, conforme citação de VALIKHOV et alii (1984). Deve-se ressaltar que, a não disponibilidade de vacas soronegativas e a época de nascimentos diluída na TAB. IV, permitiram que deste tratamento fosse estocado colostro.

Em outubro de 1985, apenas três vacas permaneceram soronegativas, fato que resultou na administração a todos os recém nascidos de colostro e/ou leite pré-aquecido a 56°C por 30 minutos, segundo recomendações de DIGLIO & FERRER (1976); FERRER & DIGLIO (1976) e AVRAM et alii (1982) (TAB. V). Dos 34 bezerros submetidos a esse tratamento, dois apresentaram soropositivos ao primeiro teste e negativos ao reteste. Ainda na TAB. V, aparecem cinco outros bezerros que ficaram reagentes após a desmama. Verificou-se, pois, que até dezembro/86 existiam 19 bezerros negativos em 24 bezerros desmamados (79,16%) e considerando as dificuldades de manejo já mencionadas, esses achados aparentemente são muito favoráveis. O equipamento adaptado para o tratamento térmico do colostro e/ou leite corres-

TABELA IV - Resultados da prova de IDGA em bezerros que ingeriram colostro e/ou leite de vacas soronegativas à LEB. Fazenda Experimental de Cambuquira. Cambuquira, MG, período 1985 e 1986

Nº bezerros	Nascimento	Resultados IDGA						
		1985			1986			
		23/08	22/10	10/12	23/04	30/07	23/09	15/12
271	20.05.85	N	N	N	N	N	N	N
4977	20.05.85	N	N	N	N	N	N	N
4978	27.05.85	N	N	N	N	N	N	N
4980	01.07.85	N	N	N	N	N	N	N
4981	16.07.85	P	P	P	P	P	P	P
275	28.07.85	P*	P	N	N	N	N	N
277	03.08.85	N	N	N	N	N	N	†
279	19.08.85	P*	N	N	N	N	N	N
4982	20.08.85	P*	N	N	N	N	N	N
280	02.09.85		N	N	N	N	N	N
281	04.09.85		N	N	N	N	N	N
282	23.09.85		N	N	N	N	N	N
283	09.10.85		N	N	N	N	N	N

N = Negativo P = Positivo † = Morreu

\* Bezerros que acidentalmente ingeriram colostro de suas mães (soropositivas)

TABELA V - Resultados da prova de IDGA em bezerros que ingeriram colostro e/ou leite de vacas soropositivas à LEB, aquecido à 56°C por 30 minutos. Fazenda Experimental de Cambuquira - Cambuquira - MG, período de 1985 e 1986

Nº bezerro	Nascimento	Resultados IDGA					
		1985		1986		23/09	15/12
		22/10	10/12	23/04	30/07		
284	11.10.85	N	N	N	P	P	P
285	11.10.85	N	N	P	P	P	P
286	17.10.85	N	N	N	P	P	P
287	28.10.85		N	N	N	N	N
288	29.10.85		N	N	N	N	**
290	15.11.85		N	N	N	N	N
4983	13.12.85			N	N	N	N
4984	14.12.85			N	N	N	N
291	17.12.85			N	N	N	N
292	19.12.85			N	P	P	P
4986	09.01.85			N	P	P	P
4987	30.01.86			N	N	N	N
294	01.02.86			N	N	N	N
4989	20.02.86			N	N	N	N
296	25.02.86			P	N	N	N
297	10.03.86			N	N	N	N



TABELA V - (continuação)

Nº bezerros	Nascimento	Resultados de IDGA						
		1985			1986			
		22/10	10/12	23/04	30/07	23/09	15/12	
298	10.03.86			N	N	N	N	N
299	06.04.86			N	N	N	N	N
301	22.04.86			N	N	N	N	N
302	04.05.86				N	N	N	N
303	03.05.86				N	N	N	N
4990	30.05.86				N	N	N	N
304	01.06.86				N	N	N	N
305	07.06.86					N	N	N
4999	31.07.86						N	N
307	01.09.86						N	N
5000	04.09.86						N	N
5001	17.10.86						N	N
5002	24.10.86						N	N
308	25.10.86						N	N
309	07.11.86						N	N
5003	12.12.86						N	N
310	13.12.86						N	N
5004	15.12.86						N	N

N = Negativo

P = Positivo

\*\* = Venda

pondeu, de acordo com esses resultados, aos requisitos de eficiência, baixo custo e fácil operacionalidade.

Acidentalmente, sete bezerros foram amamentados com colostro/leite de vacas soropositivas à LEB sem tratamento térmico; destes, quatro apresentaram-se soropositivos ao primeiro teste (15 a 50 dias após o nascimento), negativando-se entre cinco a seis meses de idade. De acordo com MILLER & VAN DER MAATEN (1979); KENYON et alii (1982); ROMERO et alii (1983); STRAUB (1984b), o colostro e/ou leite poderia atuar como fonte de infecção do VLB, entretanto, segundo trabalhos de CHANDER et alii (1978); FERRER & PIPER (1978); VAN DER MAATEN et alii (1981); THURMOND & BURRIDGE (1982); BIERGEL et alii (1983), em um período de seis meses, os bezerros em aleitamento podem não se infectar pela ingestão de colostro e/ou leite de vacas infectadas pelo VLB, em função dos anticorpos presentes (imunidade passiva adquirida). Por outro lado, observou-se que três bezerros permaneceram soronegativos após ingestão de colostro e/ou leite de vacas soropositivas sem tratamento térmico. Esses resultados estão concordantes com os de BIERGEL et alii (1983) e discordantes com os de FERRER et alii (1976) que encontraram a maioria dos bezerros soronegativos dentre os filhos de vacas soropositivas à LEB.

Outra medida de controle da LEB, adotada neste experimento, foi a separação dos bezerros em grupos soronegativos e soropositivos. Embora cinco bezerros tenham soroconvertido em positivos, no transcorrer do experimento, evidenciou-se que a separação em grupos pelo estado sorológico foi, aparentemente importante no controle da LEB. Manejo este já preconizado por FERRER (1980); RUPPANNER & STEPHEN (1980); RUPPANNER et alii (1983); MODENA et alii (1984); STRAUB (1984a); THOMAS et alii (1984); JOHNSON et alii (1985).

Quanto ao uso de agulhas e material cirúrgico, pode-se considerar que essa fonte de infecção foi descartada, a partir da introdução da fervura por 15 minutos e desinfecção por iodoform (70 mg/l), bem como pelo uso individual de todo o instrumento utilizado. Esses cuidados foram orientados de acordo

com os trabalhos de ROSENBERGER (1963, 1968); MAMMERICKX et alii (1978); FERRER (1980); LUCAS & ROBERTS (1982); DARLINGTON et alii (1984); HORVÁTH et alii (1984); MAMMERICKX et alii (1984); DIGIACOMO et alii (1985).

A transmissão através de insetos hematófagos provavelmente ocorreu neste experimento. A presença de insetos (Stomoxys calcitrans) foi constatada em todos os piquetes, inclusive larvas e pupas nos cantos dos bebedouros e restos de alimentos. A separação entre bezerros de grupos soronegativos e soropositivos (Piquetes I e II) foi prejudicada pela proximidade dos piquetes e estábulos. Tendo em vista a possibilidade de os insetos hematófagos constituírem-se em vias potenciais de transmissão da LEB, conforme trabalhos de STOCK & FERRER (1972); HAWKINS et alii (1976); BECH-NIELSEN et alii (1978); MAMMERICKX et alii (1978); TYLER (1978); VAN DER MAATEN & MILLER (1978); OSHIMA et alii (1981); BUXTON et alii (1985) entretanto, as medidas implantadas de acordo com as recomendações de NEVES (1986) e GUIMARÃES (1984, 1985), resultaram na diminuição desses insetos na propriedade. O aparecimento de cinco bezerros soropositivos dentre 62 bezerros ao final do experimento, evidenciou que o risco pode ser minimizado caso tivesse melhores condições de infra-estrutura qual seja, distribuição de piquetes para melhor manejo dos animais.

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

1. apesar dos bezerros soronegativos serem criados próximo ao piquete dos bezerros soropositivos e das instalações (20 e 40 metros respectivamente) a separação dos grupos soronegativos e soropositivos, reduziu a infecção pelo VLB no rebanho;

2. bezerros nascidos de vacas soropositivas, alimentados com colostro e/ou leite de vacas soronegativas e mantidos separados, permaneceram soronegativos durante a execução do trabalho (19 meses), exceto, em um único caso, que pode ter ocorrido infecção transplacentária ou por vetores;

3. a maioria dos bezerros nascidos de vacas soropositivas alimentados com colostro e/ou leite de vacas soropositivas aquecido a 56°C por 30 minutos e mantidos separados permaneceram soronegativos;

4. a intervenção sobre outros variáveis relacionados à transmissão horizontal da LEB, tais como, uso individual de agulhas, desinfecção de instrumentos cirúrgicos e controle de insetos hematófagos através da distribuição adequada de dejetos orgânicos, possivelmente contribuiu para a redução da infecção pelo VLB.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALENCAR FILHO, R.A.; MAZANTI, M.T.; DAHER SAAD, A.; POHL, R. Levantamento preliminar da infecção pelo vírus leucemia linfática crônica (L.L.C.) dos bovinos no Estado de São Paulo. Biológico, São Paulo, 45(3/4):47-54, 1979.
2. AVRAM, N.; PAUNESCU, G.; GRANDINARU, D.; LUNGEANU, A.; MIRONESCU, D. Resistance of bovine leukosis virus to some physical and chemical factors. Lucr. Inst. Cercet. Vet. Bioprep. Pasteur, Bucharest, 16:69-75, 1982.
3. BECH-NIELSEN, S.; PIPER, C.E.; FERRER, J.F. Natural mode of transmission of the bovine leukemia virus: Role of blood-sucking insects. Am. J. Vet. Res., Scahumburg, 39(7) : 1089-92, 1978.
4. BIERGEL, E.H.; D'ANGELINO, J.L.; BENESI, F.J.; HAGIWARA, M. K.; PRADO, M.S. Considerações sobre a leucose enzoótica dos bovinos adultos em rebanhos leiteiros criados no Estado de São Paulo. I. Prevalência sororeagentes. In: SEMANA VETERINÁRIA, 2; São Paulo, 1983. Trabalhos apresentados. São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, 1983. p.70.
5. BUENO, D. 1958. Comunicação pessoal. In: MERKT, H.; GIUDICE, J.C.O.; MULLER, J.A. Leucose bovina. Rev. Esc. Agr.

- Vet., Rio Grande do Sul, 2(3):7-27, 1959.
6. BUXTON, B.A.; HINKLE, N.C.; SCHULTZ, R.D. Role of insects in the transmission by stable flies, horn flies and tabanids. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 46(1):123-6, 1985.
  7. CHANDER, S.; SAMAGH, B.S.; GREIG, A.S. BLV - antibodies in serial sampling over five years in a bovine leukosis herd. Ann. Rech. Vet., Paris, 9(4):797-802, 1978.
  8. DARLINGTON, R.L.; DIGIACOMO, R.F.; EVERMANN, J.F. Bovine leukemia virus transmission by dehornig in dairy heifers. Bovine Pract., West Lafayette, 19:144-146, 1984.
  9. DIGIACOMO, R.F.; DARLINGTON, R.L.; EVERMANN, J.F. Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy calves by dehorning. Can. J. Comp. Med., Ottawa, 49(3):340-2, 1985.
  10. DIGLIO, C.A.; FERRER, J.F. Induction of syncytia by bovine C-type leukemia virus. Cancer Res., Baltimore, 36(3):1056-67, 1976.
  11. FERRER, J.F. Bovine lymphosarcoma. Adv. Vet. Sci. Comp. Med., New York, 24:2-68, 1980.
  12. FERRER, J.F.; DIGLIO, C.A. Development of an in vitro infectivity assay for the C-type bovine leukemia virus. Cancer Res., Baltimore, 36(3):1068-73, 1976.
  13. FERRER, J.F.; PIPER, C.E. An evaluation of the role of milk in the natural transmission of BLV. Ann. Rech. Vet., Paris, 9(4):803-7, 1978.
  14. FERRER, J.F.; PIPER, C.E.; ABT, D.A. Natural transmission of the bovine C-type leukemia virus (BLV). Biol. Haematol., Basel, 36:235-7, 1976.
  15. FLENSBURG, J.C.; STREYFFERT, B. An evaluation of Danish leukosis control schemes. In: Bovine leucosis: Various Methods of Molecular Virology. Commission of the European

Communities, Luxemburg, 1977. p.387-404.

16. GÖETZE, R. Ueber Ursachen und Bekämpfung der leukose des Rindes. Monatsch. Veterinaermed., Jena, 11:169-73, 1956.
17. GUIMARÃES, J.H. Mosca dos estábulos, uma importante praga do gado. Agroquímica, Ciba Geigy, 23:10-14, 1984.
18. GUIMARÃES, J.H. Moscas sinantrópicas. Perspectivas de manejo integrado em aviários no Estado de São Paulo. Agroquímica, Ciba Geigy, 28:10-15, 1985.
19. HAWKINS, J.A.; ADAMS, W.V.; WILSON, B.H. Transmission of equine infectious anemia virus by Tabanus fuscicostatus. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 168:63-4, 1976.
20. HORVÁTH, Z.; FERENCZ, G.; KAJTÁR, J. The role of blood sampling needles in the transfer of enzootic bovine leukosis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS, 5; Tubingen, 1982. Brussels. Commission of the European Communities, 1984. p.306-10.
21. JACOBSEN, K.L.; BULL, R.W.; MILLER, J.M.; HERDT, T.H.; KANEENE, J.B. Transmission of bovine leukemia virus: Prevalence of antibodies in precolostral calves. Prev. Vet. Med., Amsterdam, 1:265-72, 1983.
22. JOHNSON, R.; GIBSON, C.D.; KANEENE, J.B. Bovine Leukemia virus: A herd-based control strategy. Prev. Vet. Med., Amsterdam, 3(4):339-49, 1985.
23. KANTEK-NAVARRO, C.E.; KRUGER, E.R.; WELTE, V.R. Infecção com o vírus da leucose enzoótica bovina em um lote de vacas produtoras de leite importadas do Uruguai. Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, 2(3):125-6, 1982.
24. KANTEK-NAVARRO, C.E.; KRUGER, E.R.; WELTE, V.R. Prevalência do vírus da leucose enzoótica bovina no rebanho leiteiro do Paraná. Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, 3(4): 125-9, 1983.

25. KENYON, S.J.; GUPTA, P.; FERRER, J.F. Presence of the bovine virus (BLV) in milk of naturally infected cows. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS, 4; Bologna, 1980. Hague. M. Nijhoff, 1982. p.289-97.
26. LUCAS, M.H.; ROBERTS, D.H. Transmission of bovine leukosis virus (BLV) in: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS, 4; Bologna, 1980. Hague, M. Nijhoff, 1982. p. 264-8.
27. MACHADO, A.V. Sem data. Comunicação pessoal. In: MERKT, H.; GIUDICE, J.C.O.; MULLER, J.A. Leucose bovina. Rev. Esc. Agr. Vet., Rio Grande do Sul, 2(3):7-27, 1959.
28. MAMMERICKX, M.; BRUCK, C.; BURNY, A.; KETTMANN, R.; PORTE-TELLE, D.; LEUNEN, J. Introductory remarks on natural and experimental transmission of enzootic bovine leukosis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS, 5 ; Tubingen, 1982. Brussels, Commission of the European Communities, 1984. p.233-45.
29. MAMMERICKX, M., CORMANN, A.; BURNY, A.; DEKEGEL, D.; PORTE-TELLE, D. Erradication of enzootic bovine leukosis based on the detection of the disease by the GP immunodiffusion test. Ann. Rech. Vet., Paris, 9(4):885-94, 1978.
30. MERKT, H.; GIUDICE, J.C.O.; MULLER, J.A. Leucose bovina. Rev. Esc. Agr. Vet., Rio Grande do Sul, 2(3):7-27, 1959.
31. MILLER, J.M. Bovine Lymphosarcoma. Mod. Vet. Pract., 38: 588-591, 1980.
32. MILLER, J.M.; MILLER, L.D.; OLSON, C.; GILLETTE, K.G. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference bovine lymphosarcoma. J. Natl. Cancer. Inst., Washington, 43:1297-305, 1969.
33. MILLER, J.M.; VAN DER MAATEN, M.J. Serological detection of bovine leukemia virus infection. Vet. Microbiol., 1:



195-202, 1976.

34. MILLER, J.M.; VAN DER MAATEN, M.J. Infectivity tests of secretions and excretions from cattle infected with bovine leukemia virus. J. Natl. Cancer Inst., Washington, 62: 425-8, 1979.
35. MODENA, C.M. Leucose enzoótica bovina. I. Comparação entre métodos de diagnóstico. II. Evolução sorológica em bezerros. III. Interferência com a vacina anti-febre aftosa. Belo Horizonte, Esc. Vet. UFMG, 1981, 93p. (Tese, mestrado).
36. MODENA, C.M.; ABREU, V.L.V.; SILVA, J.A.; MOREIRA, E.C.; AZEVEDO, N.A.; REHFELD, D.A.M. Ocorrência de infecção pelo vírus da leucose enzoótica bovina em animais importados. Arq. Bras. Vet. Zootec., Belo Horizonte, 35(4):565-73, 1983.
37. MODENA, C.M.; SILVA, J. A.; GOUVEIA, A.M.G.; AZEVEDO, N. A.; REHFELD, O.A.M.; VIANA, F.C. Controle de leucose enzoótica bovina em bezerros de vacas infectadas. In: ENCONTRO DE PESQUISA DA ESCOLA DE VETERINÁRIA, 11; Belo Horizonte, 1984. Belo Horizonte, Núcleo de Assessoramento à Pesquisa, 1984. p.65.
38. MODENA, C.M.; SILVA, J.A.; GOUVEIA, A.M.G.; VIANA, F. C. ; AZEVEDO, N.A.; REHFELD, O.A.M. Leucose enzoótica bovina. I. Prevalência em rebanhos de alta linhagem no Estado de Minas Gerais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., Belo Horizonte, 36(1):39-45, 1984a.
39. MUCHALVAT, M.A. Leucose bovina em um rebanho do Estado de Minas Gerais. Arq. Esc. Vet. UFMG., Belo Horizonte, 23: 321-8, 1971.
40. NEVES, D.P. Parasitologia humana: 6 ed. Rio de Janeiro, Livraria Atheneu, 1986. 451p.

41. OSHIMA, K.; OKADA, K.; NUMAKUNAI, S. Evidence on horizontal transmission of bovine leukemia virus due to blood-sucking tabanid flies. Jap. J. Vet. Sci., Tokio, 43(1) : 79-81, 1981.
42. PIPER, C.E.; FERRER, J.F.; Abt, D.A.; MARSHAK, R.R. Postnatal and prenatal transmission of the bovine leukemia virus under natural conditions. J. Natl. Cancer Inst., Washington, 62:165-8, 1979.
43. PITMAN-MOORE, Inc. Washington Crossing. Bovine leukemia glycoprotein immunodiffusion antigen, ovine cell line origin. Reagent serum and references serums, bovine origin. Leukassay-B. Washington Crossing, 1976. 4p.
44. ROMERO, C.H.; ROWE, C.A. Enzootic bovine leukosis virus in Brazil. Trop. Anim. Hlth. Prod., Edisburg, 13(2):107-11, 1981.
45. ROMERO, C.H.; CRUZ, G.B.; ROWE, C.A.; CARVALHO, E. M. R. Transmissão do vírus da leucemia bovina através da ingestão de leite. Revta. Microbiol., São Paulo, 14(2):109-114, 1983.
46. ROSENBERGER, G. Twelve years of bovine leukosis research at Hanover. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr., Hanover, 70: 410-17, 1963.
47. ROSENBERGER, G. Successful experimental transmission of bovine leukosis. Bibl. Haemat., Basel, 31:136-43, 1968.
48. RUPPANNER, R.; BEHYMER, D.E.; PAUL, S.; MILLER, J.M.; THEILEN, G.H. A strategy for control of bovine leukemia virus infection: Test and corrective management. Can. Vet. J., Ottawa, 24(6):192-5, 1983.
49. RUPPANNER, R.; STEPHEN, R.P. Bovine leukosis: A slightly different view. California Veterinarian, Sacramento, 11: 21-5, 1980.

50. SANTOS, J.A., 1958. Comunicação pessoal. In: MERKT, H. ; GIUDICE, J.C.O.; MULLER, J.A. Leucose bovina. Rev. Esc. Agr. Vet., Rio Grande do Sul, 2(3):7-27, 1959.
51. SANTOS, J.L.; RIBEIRO, M.F.B.; FARIA, J.E.; SALCEDO, J. H. P. Epidemiologia da leucose enzoótica bovina no Estado de Minas Gerais. 1. Prevalência de anticorpos na zona da Mata. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot., 37(4):359-68, 1985.
52. SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. Statistical methods. 6ª ed. Ames. The Iowa State University Press, 1969. 593p.
53. STOCK, N.D.; FERRER, J.F. Replicating C-type virus in phytohemagglutinin - treated buffy coat cultures of bovine origin. J. Natl. Cancer Inst., Washington, 48:985-96, 1972.
54. STRAUB, O.C. The importance of the seropositive dam's state for the transmission and spread of enzootic bovine leukosis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS 5; Tubingen, 1982. Brussels. Commission of the European Communities, 1984a. p.258-64.
55. STRAUB, O.C. The role of colostrum and milk in transmission of enzootic bovine leukosis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS, 5; Tubingen, 1982. Brussels. Commission of the European Communities, 1984b. p.272-9.
56. THEILEN, G.H.; MILLER, J.M.; HIGGINS, J.; RUPPANNER, R.; GARRET, W. Vaccination against bovine leukemia virus infection. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS, 4; Bologna, 1980. Hague, M. Nijhoff, 1982. p.547-60.
57. THOMAS, M.W.; EVERMANN, J.F.; MAAG MILLER, L. Bovine leukosis in a commercial dairy. Agri. Practice, Santa Barbara, 5(2):38-45, 1984.
58. THURMOND, M.C.; BURRIDGE, M.J. A study of the natural transmission of bovine leukemia virus: preliminary results.

- In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS. 4; Bologna, 1980. Hague, M. Nijhoff, 1982. p.244-52.
59. TYLER, L. Enzootic bovine leukosis. Vet. Rec., London, 103 (9):194-8, 1978.
60. VALIKHOV, A.F.; BURBA, L.G.; SHISHKOV, V.P. Virological examination of milk, semen and blood from cattle infected with bovine leukosis virus. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BOVINE LEUKOSIS, 5; Tubingen, 1982. Brussels. Commission of the European Communities, 1984. p.269-71.
61. VAN DER MAATEN, M.J.; MILLER, J.M. Susceptibility of cattle to bovine leukemia virus infection by various routes of exposure. In: ADVANCES IN COMPARATIVE LEUKEMIA RESEARCH, 1977. New York, Hilgers/Yohn, New York, 1978. p.29-32.
62. VAN DER MAATEN, M.J.; MILLER, J.M.; SCHMERR, M.J.F. Effect of colostral antibody on bovine leukemia virus infection of neonatal calves. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 42(9): 1498-500, 1981.