

Relação entre leptospirose e o vírus da leucose enzoótica em bovinos leiteiros no município de Uberaba, Minas Gerais

Ana Paula Navarro Gonçalves^{1*}, Jandra Pacheco dos Santos¹,
Maritssa Corrêa Caetano Afonso¹, Alvaro Ferreira Júnior¹

RESUMO

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) e a Leptospirose bovina são doenças de grande impacto econômico na pecuária brasileira. O diagnóstico pode ser realizado por meio da detecção de anticorpos séricos específicos. Não há estudos que demonstrem uma correlação entre a sorologia de Leucose e Leptospirose em bovinos. O objetivo desta pesquisa foi investigar a associação entre os resultados sorológicos positivos dessas duas doenças infecciosas. Foram utilizadas 200 amostras de soro sanguíneo de fêmeas bovinas de aptidão leiteira com idade igual ou superior a 24 meses, sendo 100 soros positivos e 100 soros negativos para anticorpos anti-*Leptospira* spp., testados por meio de soroaaglutinação microscópica (SAM). Os 200 soros foram submetidos à prova de Imunodifusão em Gel de Agar (IDGA) para diagnóstico de anticorpos específicos anti-LEB. Anticorpos anti-LEB foram detectados em 30% (60/200; IC_{95%}: 24,8%-35,2%) dos soros estudados (n=200). Foi verificada uma diferença estatística (P<0,05) entre o diagnóstico de anticorpos anti-LEB entre as fêmeas soropositivas para leptospirose (37%; IC_{95%}:27,5%-46,5%) e as soronegativas (23%; IC_{95%}:14,8%-31,3%). As fêmeas expostas ao contato com leptospiros tiveram 1,97 mais risco de serem soropositivas para LEB. Os resultados obtidos sugerem a existência de uma associação entre a soropositividade para LEB e a leptospirose bovina.

Palavras-chave: Aborto, Leucemia, Linfoma, Sorodiagnóstico

Introdução

No Brasil, a bovinocultura é de grande importância para o agronegócio. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016), essa atividade foi responsável, em 2016, por um lucro significativo na agropecuária brasileira. Ela foi determinante para uma

¹ Universidade de Uberaba.

* Corresponding author: apngoncalves7@gmail.com. Av. Nenê Sabino, 1801, Campus Aeroporto, bloco A, Uberaba-MG, Cep: 38055-500.

Artigo recebido em: 05/07/2016. Aceito para publicação em: 23/02/2017.

movimentação aproximada de 180 bilhões de reais. Nesse contexto, é necessária a vigilância sobre as doenças que podem infectar os bovinos e prejudicar sua produção (PEREIRA et al., 2013).

A Leucose Enzoótica Bovina (LEB) é causada por um vírus da família *Retroviridae*. Apresenta distribuição mundial e a maioria dos animais infectados é assintomático. Acomete animais acima de dois anos de idade, sendo mais frequente em fêmeas leiteiras. É transmitida principalmente pela via horizontal, por exemplo, por meio de fômites, vacinação e palpação retal (RAJÃO et al., 2014; SPADETTO; DIAS, 2013; YAMADA et al., 2013). A leucocitose, caracterizada por uma linfocitose persistente, pode ser diagnosticada em 30% dos bovinos infectados (JULIANO et al., 2014; KANNO et al., 2014). Os animais com infecção crônica podem desenvolver imunossupressão e neoplasias em órgãos linfóides secundários, por exemplo, os linfonodos (RAMOS et al., 2016; TROIANO et al., 2013). O diagnóstico de contato com o vírus da LEB (VLEB) pode ser realizado por meio do método sorológico de Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), o qual é específico, de fácil execução, de baixo custo e utilizado como base em esquemas de erradicação mesmo sendo não muito sensível (OIE, 2011). Nessa técnica são pesquisados anticorpos séricos específicos dirigidos contra alvos antigênicos conservados do VLEB. O teste de IDGA não diferencia entre anticorpos de infecção natural e de imunização materna. Os anticorpos anti-VLEB podem ser detectados após 3 a 16 semanas pós-infecção e os maternos podem ser detectados por até sete meses após a ingestão do colostro. Em fêmeas no periparto (2 a 6 semanas pré- e 1 a 2 semanas pós-parto) os anticorpos anti-VLEB podem ser indetectáveis, devido a transferência para o colostro (OIE, 2011).

A leptospirose bovina é uma zoonose que provoca perdas reprodutivas em bovinos e é causada por bactérias do gênero *Leptospira* (LILENBAUN; SOUZA, 2003; DOS SANTOS et al., 2012). Esse microrganismo pode penetrar barreiras físicas integras ou com abrasões. A leptospirose

apresenta uma fase de leptospiremia e outra de leptospirúria com portadores renais. A eliminação de leptospira na urina é intermitente e o isolamento bacteriano é difícil. A aglomeração de bovinos e a presença de roedores, os quais são reservatórios e disseminadores desta bactéria por meio de sua urina, aumenta o risco de infecção (FIGUEIREDO et al., 2009; SALABERRY et al., 2011). Além disso, a transmissão da bactéria também ocorre por meio da urina de bovinos no estágio de portador renal. O diagnóstico de exposição pode ser feito por meio de detecção de anticorpos séricos aglutinantes, utilizando a técnica de sorroaglutinação microscópica (SAM) (CHIARELI et al., 2012; SOUZA et al., 2012; MINEIRO et al., 2014; SALGADO et al., 2014; McCONNEL et al., 2015; PEITER et al., 2015).

Foi demonstrado que bovinos infectados com o vírus da LEB, no momento da realização da vacinação contra febre aftosa, desenvolvem uma menor resposta humoral pós-vacinal (PUENTES et al., 2016). A LEB reduz a expressão de citocinas envolvidas na resposta adaptativa humoral, tais como o Interferon gama (IFN- γ), a interleucina-2 (IL-2) e IL-4 (AMILLS et al., 2002). Nesse contexto, Devlin et al (2017) demonstraram que a infecção por leptospiras patogênicas pode induzir a produção de IL-10 levando também à diminuição da produção de IFN- γ e, assim, contribuindo para a persistência do estado de portador renal do hospedeiro infectado. O IFN- γ produzido após a vacinação de bovinos com a lipoproteína LipL32 de leptospiras resultou em uma resposta imunológica protetora (DEVESON LUCAS et al., 2014). Considerando que o IFN- γ caracteriza a resposta protetora contra a leptospirose, a infecção pelo vírus da LEB apresenta potencial para prejudicar a resposta vacinal em bovinos.

O objetivo desta pesquisa foi investigar a existência de uma associação entre os resultados positivos de sorologia para LEB e Leptospirose em bovinos leiteiros adultos.

Material e métodos

O estudo foi realizado no laboratório de Medicina Preventiva do Hospital Veterinário de Uberaba (HVU), Minas Gerais. Foram utilizadas amostras de soro de 200 fêmeas bovinas leiteiras com idade superior a 24 meses, do ano de 2013, escolhidas randomicamente e cedidas pela soroteca do mesmo laboratório. As amostras foram submetidas ao diagnóstico de leptospirose por meio do teste SAM (PEITER et al., 2015; PINHO et al., 2014). Soros com 50% de aglutinação ou superior, na diluição 1:100, foram considerados positivos. De acordo com o resultado da SAM, os soros foram distribuídos em dois grupos: (i) soropositivos (n=100) e (ii) soronegativos (n=100). Foram detectados anticorpos aglutinantes anti-*Leptospira* contra oito sorovares de um painel de quinze sorovares testados (Tabela 1).

Tabela 1: Frequência de diagnóstico de anticorpos específicos contra sorovares de *Leptospira* spp. por meio de soroaglutinação microscópica em 100 amostras de soro bovino obtidas no Hospital Veterinário de Uberaba, MG, no ano de 2013.

Sorovares*	Frequência %(n)
Grippotyphosa	51 (51/100)
Hardjo	65 (65/100)
Hebdomadis	41 (41/100)
Icterohaemorrhagiae	10 (10/100)
Pomona	3 (3/100)
Pyrogenes	3 (3/100)
Tarassovi	3 (3/100)
Wolffi	60 (60/100)

* Os 15 sorovares testados foram: Australis, Autumnlalis, Batavial, Bratislava, Canicola, Copenhageni, Djaseman, Grippotyphosa, Hardjo, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Tarassovi e Wolffi.

Para o diagnóstico sorológico da infecção pelo VLEB, os dois grupos, *Leptospira* positivo (n=100) e *Leptospira* negativo (n=100), foram submetidos ao teste IDGA. Utilizou-se o kit produzido pelo Instituto Tecnológico do Paraná (TECPAR), seguindo as recomendações do fabricante.

A análise de significância estatística foi realizada por meio de comparação entre duas proporções utilizando o Teste Exato de Fischer e o *software* GraphPadPrism 5.0. Foi considerada diferença estatística significativa quanto $P < 0,05$. A razão de ODDs (THRUSFIELD, 2004) foi calculada utilizando o *software* GraphPadPrism 5.0, admitindo-se o intervalo de confiança de 95%.

Resultados e discussão

A presença de anticorpos anti-Leptospiras, em bovinos, é associada à circulação de roedores (SALABERRY et al., 2011), à presença de outras espécies de animais domésticos (LILENBAUN; SOUZA, 2003; DOS SANTOS et al., 2012), à existência de áreas alagadas e à monta natural (FIGUEIREDO et al., 2009). Adicionalmente, a vacinação contra leptospiras aumenta a detecção de anticorpos específicos séricos em bovinos, por outro lado reduz a mortalidade dos animais (SALGADO et al., 2014; McCONNEL et al., 2015).

A infecção pelo vírus da LEB causa perdas econômicas significativas em rebanhos bovinos, por isso é importante desenvolver programas que visem a redução da propagação da doença (GUTIERREZ et al., 2014). O IDGA é utilizado para o diagnóstico da infecção pelo vírus da LEB (VLEB) (RAMOS et al., 2016). Neste estudo, a frequência de diagnóstico de anticorpos anti-VLEB foi de 30% (60/200) [IC_{95%}: 24,8%-35,2%]. A frequência de animais soropositivos para VLEB apresenta ampla faixa de variação, 27,9% no Espírito Santo (STARLING et al., 2013); 56,45% no Paraná (FILHO et al., 2010); 53,8% no Maranhão (SANTOS et al., 2011) e 80,89% no sul de Minas Gerais (AMBRÓSIO, 2015). MACÊDO et al. (2013) observaram 25,0 % de bovinos soropositivos nos rebanhos leiteiros no município de Uberaba (Triângulo Mineiro, MG), o que foi semelhante ao encontrado neste estudo. A detecção de anticorpos específicos VLEB demonstra a ocorrência de exposição ao vírus e não determina a existência de sinais clínicos (TRONO et al., 2001),

assim como, os resultados soronegativos não excluem a infecção (SUH et al., 2005). Nesse contexto, no presente estudo, os resultados positivos anticorpos anti-VLEB podem estar subestimados.

Verificou-se uma diferença estatística significativa ($P < 0,05$) na detecção de anticorpos para VLEB entre as fêmeas bovinas soropositivas (37%; 37/100; $IC_{95\%}$: 27,5%-46,5%) e soronegativas (23%; 23/100; $IC_{95\%}$: 14,8%-31,3%) para *Leptospira* (Figura 1). O cálculo da razão de ODDs revelou valor igual a 1,97 [$IC_{95\%}$: 1,060-6,648]. A infecção por LEB causa a supressão da resposta imunológica do hospedeiro tornando-o susceptível a outros patógenos e prejudicando o resultado de vacinação (AMILLS, 2002; McCONNEL et al., 2015; PUENTES et al., 2016). Bovinos infectados com LEB aumentaram o risco de infecção por *Neospora caninum*, o qual, em semelhança à Leptospiras, depende de IFN- γ para a sua eliminação (VANLEEuwEN et al. 2009; DEVESON LUCAS et al., 2014).

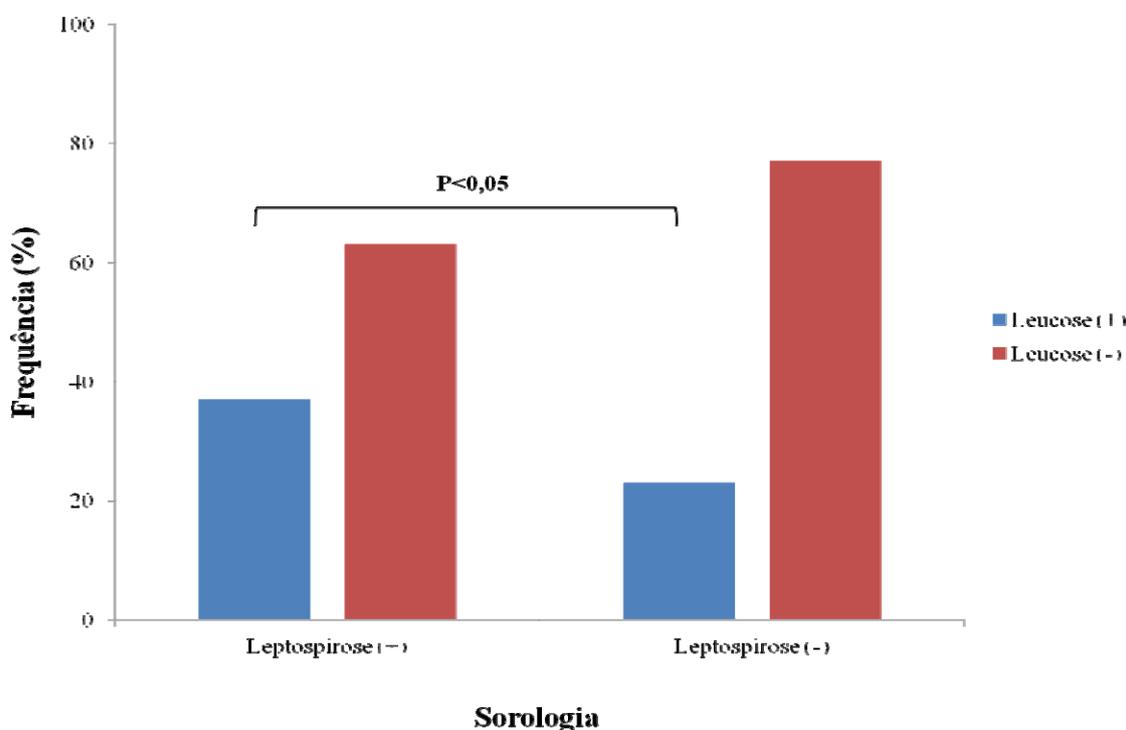


Figura 1: Frequência de detecção de anticorpos específicos para o vírus da Leucose Enzoótica Bovina por meio de imunodifusão em gel de ágar em fêmeas bovinas soropositivas ou soronegativas para leptospirose. Observou-se diferença estatística significativa ($P < 0,05$) na soropositividade para a leucose.

A frequência de soronegatividade para o VLEB foi de 63% e 77% nas fêmeas soropositivas e soronegativas para leptospirosas, respectivamente. A transmissão do VLBE, diferentemente das leptospirosas, depende da transferência de células infectadas do sangue, principalmente linfócitos B infectados (LAIRMORE, 2014). A infecção pelo VLEB pode resultar em imunossupressão e menor resposta humoral no animal infectado (ROBERTS et al., 1989), além disso soronegatividade pode ser observada na vigência do período de periparto em decorrência da transferência de anticorpos para o colostro (OIE, 2011); menor sensibilidade do IDGA para a detecção de anticorpos anti-VLEB e intervalo de janela imunológica (OIE, 2011).

Os estudos sobre o efeito da infecção pelo VLEB sobre a resposta imunológica do hospedeiro sugerem a ocorrência de imunossupressão por meio de diminuição na transcrição dos genes das imunoglobulinas (TEUTSCH; LEWIN, 1996); ocorrência de queda das contagens de linfócitos T periféricos (TRAININ et al., 1976) e redução da resposta humoral pós-vacinal (ERSKINE et al., 2011). Adicionalmente, na fase inicial da infecção pelo VLEB há aumento da expressão de IL-10, uma citocina antagonista do perfil inflamatório T *helper* 1 (Th1), e, no progresso da infecção, há redução na expressão da citocina IL-2 (PYEON et al., 1996).

As citocinas de perfil Th1, Interferon-gama (IFN γ) e Fator de Necrose Tumoral – alfa (TNF α), tem efeito inibidor sobre a propagação do vírus na fase da viremia (KABEYA et al., 1999; USUI et al., 2007). Em modelos de infecção experimental, a resposta imunológica contra as leptospirosas é caracterizada pelo predomínio das citocinas de perfil Th1 (*T helper*1) Interferon-gama (IFN γ), interleucina-2 (IL-2) e também do fator de necrose tumoral – alfa (TNF α) (VERNET-PAUILLAC; MERIEN, 2006). A vacinação de bovinos com bacterina adicionada do adjuvante hidróxido de alumínio também induz a produção de IFN γ (NAIMAN et al., 2001; BROWN et al., 2003). A imunossupressão causada pela infecção do VLEB em bovinos expostos à *Leptospira* necessita de mais investigação, para compreensão do

impacto dessa virose sobre a eficiência da terapia, recidivas e proteção pós-vacinal contra leptospirosas. São necessários estudos para esclarecer a biologia da relação entre leptospirosas e VLEB durante a exposição simultânea em hospedeiros bovinos.

Relation between leptospirosis and enzootic leukosis virus in dairy cattle from uberaba city, minas gerais

Abstract

The enzootic bovine leucosis (EBL) and bovine leptospirosis are infectious diseases that have a negative economic impact on the cattle industry. Diagnosis is carried out by detection the specific antibodies. There are not studies correlating either serological results for EBL and leptospirosis in cattle. The objective of this study was to investigate the presence of an association between the serology results for EBL and *Leptospira* antibodies. Were tested 200 serum samples from adult cows aged over 24 months of which were 100 seropositive and 100 seronegative for anti-*Leptospira* spp. antibodies by microscopic agglutination test (MAT). Agar Gel Immunodiffusion Test (AGID) was carried out to detection of anti-EBL antibodies in all these 200 sera samples. Were detected anti-EBL antibodies in 30% (60/200; 95% CI: 24.8% - 35.2%) of tested sera samples. Statistical difference ($P < 0.05$) was observed between EBL seropositivity among *Leptospira* seropositive cows (37%; 95% CI: 27.5% -46.5%) and seronegative cows (23%; 95% CI: 14.8% -31.3%). The cows exposed to *Leptospira* infection were 1.97 more likely to be seropositive for EBL. The results suggest the existence of a positive association between seropositivity for EBL and bovine leptospirosis.

Keywords: Abortion; Leukemia; lymphoma; serodiagnosis

Referências

AMBRÓSIO, N.A. **Intercorrência da leucose enzoótica bovina e mastite em vacas leiteiras naturalmente infectadas**. 2015. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/9349/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Intercorr%C3%Aancia%20da%20Leucose%20Enzo%C3%B3tica%20Bovina%20e%20mastite%20em%20vacas%20leiteiras%20naturalmente%20infectadas.pdf>. Acesso em: 10-Abr-2016.

AMILLS, M.; RAMIYA, V.; NORIMINE, J.; OLMSTEAD, C.A.; LEWIN, H.A. Reduced IL-2 and IL-4 mRNA expression in CD4+ T cells from bovine leukemia virus-infected cows with persistent lymphocytosis. **Virology**, n. 304, p. 1-9, 2002. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1651>

BROWN, R.A.; BLUMERMAN, S.; GAY, C.; BOLIN, C.; DUBY, R.; BALDWIN, C.L. Comparison of three different leptospiral vaccines for induction of a type 1 immune response to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. **Vaccine USA**, v.21, n. 27-30, p.4448-4458, October 2003. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(03\)00439-0](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(03)00439-0)

CHIARELI, D.; COSATE, M.R.V.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C.; LOBATO, F.C.F.; SILVA, J.A.; TEXEIRA, J.F.B.; MARCELINO, A.P. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.32, n.7, p.633-639, 2012.

DEVLIN, A.A.; HALVORSEN, P.J.; MILLER, J.C.; LASTER, S.M. IL-10 deficient mice express IFN- γ mRNA and clear *Leptospira interrogans* from their kidneys more rapidly than normal C57BL/6 mice. **Immunobiology**, pii:S0171-2985(17)30020-7, 2017.

DEVESON LUCAS, D.S.; Lo, M.; BULACH, D.M.; QUINSEY, N.S.; MURRAY, G.L.; ALLEN, A.; ADLER, B. Recombinant LipL32 stimulates interferon-gamma production in cattle vaccinated with a monovalent *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo subtype Hardjobovis vaccine. **Veterinary Microbiology**, n. 169, p. 163-170, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.12.016>

DOS SANTOS, J.P.; LIMA-RIBEIRO, A.M.; OLIVEIRA, P.R.; DOS SANTOS, M.P.; FERREIRA, A. JR.; MEDEIROS, A.A.; TAVARES, T.C. Seroprevalence and risk factors for Leptospirosis in goats in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, n.1, p.101-106, January 2012. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9894-1>

ERSKINE, R.J.; BARTLETT, P.C.; SABO, K.M.; SORDILLO, L.M. Bovine Leukemia Virus Infection in Dairy Cattle: Effect on Serological Response to Immunization against J5 *Escherichia coli* Bacterin. **Veterinary Medicine International**, Michigan, 07 fev. 2011. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/vmi/2011/915747/abs>>. Acesso em: 25-Abr-2016.

FIGUEIREDO, A. de O.; PELLEGRIN, A.O.; GONÇALVES, V.S.P.; FREITAS, E.B.; MONTEIRO, L.A.R.C.; OLIVEIRA, J.M. de.; OSÓRIO, A.L.A.R. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de

Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.29, n.5, p. 375-381, 2009.

FILHO, I.R.B.; GUIMARÃES, A.K.; SPONCHIADO, D.; KRÜGER, E.R.; WAMMES, E.V.; OLLHOFF, R.D.; DORNBUSCH, P.T.; BIONDO, A.W. Soroprevalência de anticorpos para o vírus da Leucose Enzoótica em bovinos criados na região metropolitana de Curitiba Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, p.511-515, 2010.

GUTIÉRREZ, G.; ALVAREZ, I.; MERLINI, R.; RONDELLI, F.; TRONO, K. Dynamics of perinatal bovine leukemia virus infection. **BMC Veterinary Research**, v.10, n.82, April 2014. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-82>

IBGE. Indicadores IBGE. Estatística da Produção Pecuária. Setembro de 2016.

ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201602caderno.pdf, Acesso em 07Mar/2017.

JULIANO, R.S.; FIORAVANTI, M.C.S.; BRITO, W.M.E.D.; ABREU, U.G.P.; SOUZA, S.N. Soroepidemiologia da leucemia bovina (LB) em bovinos curraleiros dos estados de Goiás e Tocantins, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.15, n.3, p. 289-295, 2014. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v15i313369>

KABEYA, H.; OHASHI, K.; OYUNBILEG, N.; NAGAOKA, Y.; AINDA, Y.; SUGIMOTO, C.; YOKOMIZO, Y.; ONUMA, M. Up-regulation of tumor necrosis factor alpha mRNA is associated with bovine-leukemia virus (BLV) elimination in the early phase of infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Japão, v.68, n.2-4, p.255-265, May 1999.

KANNO, T.; ISHIHARA R.; HATAMA, S.; OUE, Y.; EDAMATSU, H.; KONNO, Y.; TACHIBANA, S.; MURAKAMI, K. Effect of freezing treatment on Colostrum to Prevent the Transmission of Bovine Leukemia Virus. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.76, n.2, p.255-257, February 2014. <https://doi.org/10.1292/jvms.13-0253>

LAIRMORE, M.D. Animal Models of Bovine Leukemia Virus and Human T-Lymphotropic Virus Type-1: Insights in Transmission and Pathogenesis. **Annual Review of Animal Biosciences**, USA, v2, p.189-108, February 2014.

LILENBAUM, W.; SOUZA, G.N. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Research in Veterinary Science**, Rio de Janeiro, v.75, n.3, p.249-251, December 2003.

MACEDO, D. M. R.; BASSI, P.B.; BITTAR, E.R.; BITTAR, J.F.F. Análise dos fatores de risco e prevalência da Leucose Enzoótica Bovina em três microrregiões do Triângulo Mineiro. **Revista Encontro de Pesquisa em Educação**, Uberaba, v. 1, n.1, p. 1, 2013.

MCCONNEL, C.; LOMBARD, J.; WAGNER, B.; KOPRAL, C.; GARRY, F. Herd factors associated with dairy cow mortality. **Cambridge Journals Online**, Reino Unido, v.9, n.8, p. 1397-1403, 2015.

MINEIRO, A.L.B.B.; VIEIRA, R.J.; BESERRA, E.E.A.; LEAL, L.M.; SOUSA, F.A.L.; CAMPOS, A.P.; MOREIRA, E.C.; COSTA, F.A.L. Avaliação do controle de leptospirose por vacinação em bovinos de propriedade leiteira no estado do Piauí. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.81, n.3, p. 202-208, 2014. <https://doi.org/10.1590/1808-1657001132012>

NAIMAN, B.M.; ALT, D.; BOLIN, C.A.; ZUERNER, R.; BALDWIN C.L. Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and gammadelta T lymphocytes. **Infection and Immunity**, USA, v.69, n.12, p.7550-7558, December 2001. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.12.7550-7558.2001>

OIE, Reference Laboratories for Enzootic bovine leucosis. In: OIE Terrestrial Manual, 2011. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.11_EB_L.pdf>. Acesso em: 25/Abr/2016

PEITER, M.; ROCHA, J.F.X.; PIVOTO, F.L.; AIRES, A.R.; ROCHA, R.X.; Bragança, J.F.M.; FERREIRA, A.G.T.; LEAL, M.L.T. Prevalência sorológica de *Leptospira* spp em bovinos leiteiros na microrregião de Francisco Beltrão. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, p. 392-395, 2015.

PEREIRA, A. L. M.; COSTA, A.F.; VESCHI, J. L. A.; ALMEIDA, K. S. Soroprevalência da Leucose Enzoótica Bovina – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, v.11, n. 21, p. 1-20, 2013.

PINHO, A.P.V.B.; KURODA, R.B.S.; VASCONCELLOS, S.A.; NETO, J.S.F.; OSSADA, R.; SOUZA, V.A.F.; ROCHA, K.S.; PAZ, G.S.; MORAES, C.C.G. Estudo sorológico da brucelose e leptospirose em equídeos da ilha de Maiandeuá (Algadoal) no Estado do Pará. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 3221-3230, 2014. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n6p3221>

PUNTES, R.; DE BRUN, L.; ALGORTA, A.; DA SILVA, V.; MANSILLA F.; SACCO, G.; LLAMBI, S.; CAPOSSO, A.V. Evaluation of serological response

to foot-and-mouth disease vaccination in BLV infect cows. **BMC Veterinary Research**, v. 12, p. 119, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0749-x>

PYEON, D.; O'REILLY, K.L.; SPLITTER, G.A. Increased interleukin-10 mRNA expression in tumor-bearing or persistently lymphocytotic animals infected with bovine leukemia virus. **Journal of Virology**, USA, v.70, n.8, p.5706-5710, August 1996.

RAJÃO, D.S.; HEINEMANN, M.B.; REIS, J.K.P.; BRAZ, G.F.; HADDAD, J.P.A.; RIBEIRO, A.C.C.L.; LEITE, R.C. Efeito da Infecção pelo vírus da leucose bovina na produção de rebanhos leiteiros mestiços e puros no Brasil. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 891-900, 2014. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n2p891>

RAMOS, G.B.; GOMES, D.O.; SOUZA, M.A.; BOMBONATO, N.G.; CORREIA LIMA, A.M. Intercorrência entre leucose enzoótica e tuberculose me bovinos abatidos em frigorífico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.83, n.1-5, e0152014, 2016. <http://www.scielo.br/pdf/aib/v83/1808-1657-aib-83-e0152014.pdf>, Acesso em 14/03/2017.

ROBERTS, D.H.; LUCAS, M.H.; SWALLOW, C. Comparison of the agar gel immunodiffusion test and ELISA in the detection of bovine leukosis virus antibody in cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Weybridge, v.22, n.3, p.275-281, October 1989. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(89\)90014-7](https://doi.org/10.1016/0165-2427(89)90014-7)

SALABERRY, S.R.S.; CASTRO, V.; NASSAR, A.F.C.; CASTRO, J.R.; GUIMARÃES, E.C.; LIMA-RIBEIRO, A.M.C. Seroprevalence and risk factors of antibodies against *Leptospira* spp. in ovines from Uberlândia municipality, Minas Gerais state, Brazil. **Brazilian journal of microbiology**, Uberlândia, v.42, n.4, p.1427-1433, December 2011.

SALGADO, M.; OTTO, B.; SANDOVAL, E.; REINHARDT, G.; BOQVIST, S. A cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for *Leptospira* spp. Serovars in small holder dairy cattle farms in southern Chile. **BMC Veterinary Research**, Chile, v.10, n.126, June 2014.

SANTOS, H.P.; PEREIRA, H.M.; NASCIMENTO, S.A.; COUTINHO, L.C.A.; TEIXEIRA, W.C.; ARRUDA, R.C.N.; BEZERRA, N.P.C.; BEZERRA, D.C.; CASTRO, R.S. 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, 2011.

SOUZA, M.A.; CASTRO, J.R.; TAVARES, T.C.F.; SOARES, P.M.; SANTOS, M.P.; SILVA, H.O.; LIMA-RIBEIRO, A.M.C. Padronização e validação de Elisa indireto para o diagnóstico da Leptospirose bovina. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 993-999, 2012.

SPADETTO, R. D. M.; DIAS, A. S. Leucose Enzoótica Bovina – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano XI – Número 20 – Janeiro de 2013 – Periódicos Semestral.

STARLING, R.Z.C.; BEZERRE, A.O.; SALARDANE, I.; FERREIRA, P.G.; CLIPES, R.C.; DONATELI, D.N. Soroepidemiologia da leucose enzoótica bovina em propriedades leiteiras do município de Alegre, estado do Espírito Santo, Brasil. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, Rio de Janeiro, 06 dez. 2013. Disponível em: <[http://www.jbca.com.br/v6n12/material dez 2013/2Leucose enzootica bovina.pdf](http://www.jbca.com.br/v6n12/material%20dez%202013/2Leucose%20enzootica%20bovina.pdf)>. Acesso em: 25/Abr/2016

SUH, G.H.; LEE, J.C.; LEE, C.Y.; HUR, T.Y.; SON, D.S.; AHN, B.S.; KIM, N.S.; LEE, C.G. Establishment of a bovine leukemia virus-free dairy herd in Korea. **Journal of Veterinary Science**, n.6, v.3, p.227-230, September 2005.

TEUTSCH, M.R.; LEWIN, H.A. Aberrant expression of immunoglobulin mRNA in bovine leukemia virus-infected cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, USA, v.53, n.1-2, p.87-94, September 1996. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(96\)05558-4](https://doi.org/10.1016/0165-2427(96)05558-4)

THRUSFIELD. **Epidemiologia Veterinária**. 2ª Edição. ROCA. SÃO PAULO, 556p., 2004.

TRAININ, Z.; UNGAR –WARON, H.; MEIROM, R.; BARNEA, A.; SELA, M. IgG and IgM antibodies in normal and leukaemic cattle. **Journal of Comparative Pathology**, USA, v.86, n.4, p.571-580, October 1976. [https://doi.org/10.1016/0021-9975\(76\)90066-9](https://doi.org/10.1016/0021-9975(76)90066-9)

TROIANO, L.D.C.; THOMAZ- SOCCOL, V.; AGOTTANI, J.V.B.; BRODZINSKI, J.; PENHA, T.R.; OZAKI, S.C. Production, Characterization, and Use of Monoclonal Antibodies Against gp51 Protein to Diagnose Bovine Leukemia Virus Infection. **BioResearch Open Acces**, v.2, n.1, p.55-60, February 2013. <https://doi.org/10.1089/biores.2012.0295>

TRONO, K.G.; PÉREZ-FILGUEIRA, D.M.; DUFFY, S.; BORCA, M.V.; CARRILO, C. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection

methods. **Veterinary Microbiology**, Argentina, v.83, n.1, p.235-248, November 2001. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00420-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00420-5)

USUI, T.; KONNAI, S.; OHASHI, K.; ONUMA, M. Interferon-gamma expression associated with suppression of bovine leukemia virus at the early phase of infection in sheep. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Japão, v.115, n.1-2, p.17-23, January 2007.

VANLEEUEWEN, J.A.; HADDAD, J.P.; DOHOO, I.R.; KEEFE, G.P.; TIWARI, A.; SCOTT, A.M. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in randomly sampled Canadian dairy cows and herds. **Preventive Veterinary Medicine**, Canadá, v.93, n.1-2, p.129-138, 2009.

VERNET-PAUILLAC, F.; MERIEN, F. Proinflammatory and Immunomodulatory Cytokine mRNA Time Course Profiles in Hamsters Infected with a Virulent Variant of *Leptospira interrogans*. **Infection and Immunity**, USA, v.74, n.7, p.4172-4179, July 2006. <https://doi.org/10.1128/IAI.00447-06>

YAMADA, T.; SHIGEMURA, H.; ISHIGURO, N.; INOSHIMA, Y. Cell Infectivity in Relation to Bovine Leukemia Virus gp51 and p24 in Bovine Milk Exosomes. **Plos One**, v.8, n.10, p.e77359, October 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077359>