

HERPESVIRUS BOVINO ASSOCIADO À DIARRÉIA VIRAL BOVINA E À LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA¹

INFECTIOUS BOVINE RINOTRACHEITIS ASSOCIATED WITH BOVINE VIRAL DIARRHOEA AND ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS

**B. ALEXANDRINO², F. C. DIAS³, M. C. OLIVEIRA², I. B. AFFONSO²,
G. T. PEREIRA², S. I. SAMARA^{2*}**

RESUMO

Esta pesquisa verificou a variação da ocorrência do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) pela associação com duas doenças virais: diarreia viral bovina (BVD) e leucose enzoótica bovina (LEB). Como metodologias foram utilizados o teste de vírusneutralização para detecção de BoHV-1 e BVD, e imunodifusão em gel de ágar para LEB. Foram selecionados cinco rebanhos bovinos, de propriedades localizadas em municípios dos Estados de São Paulo e Minas Gerais, sendo três de exploração leiteira, um de corte e um misto, todos com parte dos animais soropositivos ao BoHV-1. Das 278 amostras analisadas, 54,68% (152/278) foram positivas ao BoHV-1, 69,70% (194/278) ao BVDV-1 e 34,33% (96/278) ao VLEB. Na análise estatística, ao relacionar cada enfermidade com o tipo de exploração do rebanho e a idade dos animais, houve diferença significativa ($\alpha=0,01$). Os rebanhos leiteiros foram mais suscetíveis ao BoHV-1 (81,31%) e a LEB (49,53%), enquanto o gado de corte teve como maior ocorrência o BVDV-1 (94,74%). A idade foi fator de risco apenas para o BoHV-1 e a LEB, sendo os animais mais velhos os mais suscetíveis. As análises associativas também indicaram que em rebanhos infectados por BVDV-1 e/ou LEB, a probabilidade de se encontrar o BoHV-1 é maior do que nas isentas dessas duas enfermidades.

PALAVRAS-CHAVE: BoHV-1. BVD. Co-infecção viral em rebanhos bovinos. Imunossupressão. LEB. Soroprevalência.

SUMMARY

This research verified the variation of the occurrence of herpesvirus bovine type 1 (BoHV-1) by its association with two viral infections: bovine viral diarrhoea (BVD) and enzootic bovine leukosis (EBL). The following methodologies were used: virus neutralization test (VNT) for both BoHV-1 and BVD diagnosis, and agar gel immunodiffusion (IDGA) for EBL. Five cattle herds were selected in the states of São Paulo and Minas Gerais, three of them were dairy cattle herds, one beef cattle and one crossbred cattle. Every herd had a number of animals seropositive for BoHV-1. From 278 analyzed samples, 54,68% (152/278) were responsive to BoHV-1, 69,70% (194/278) to BVDV-1, and 34,33% (97/278) to EBLV. The statistical analysis showed significant difference ($\alpha=0,01$) in infection occurrence according to the type of herd and animal age. Dairy cattle were more sensitive to BoHV-1 (81,31%) and to EBLV (49,53%), while in beef cattle the most frequent was BVDV-1 (94,74%). Age was a risk factor only for BoHV-1 and EBLV, the results showed that the older animals were more susceptible. The associative analysis also indicated that among BVDV-1 and/or EBLV infected herds the probability of finding BoHV-1 is higher than among herds where these two infections do not occur.

KEY-WORDS: BoHV-1. BVD. EBL. Immunosuppression. Seroprevalence. Viral co-infection in bovine herds.

¹Pesquisa financiada pela CAPES e FAPESP (Proc.06/55899-4)

²Depto Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brasil. Autor para correspondência: samara@fcav.unesp.br

³Secretaria da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Estado de São Paulo

INTRODUÇÃO

O Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) pertence à família *Herpesviridae* (FENNER, 1987), gênero *Varicellovirus*. É conhecido também como vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina/Vulvovaginite Pustular Infecciosa Bovina (IBR/IPV) (DEL FAVA et al., 2002).

O BoHV-1 tem como característica importante o desenvolvimento do estado de latência (ENGELS & ACKERMANN, 1996). O vírus pode ser reativado quando os animais são expostos a fatores predisponentes estressantes, que diminuem a resistência imunológica, como tratamento com glicocorticóides, parição, transporte ou outras enfermidades (LEMAIRE et al., 1994).

Existem fatores de risco associados à disseminação da doença, sendo o mais importante a introdução, no rebanho, de animais infectados pelo vírus (VAN SCHAİK et al., 2002). Pesquisas mostram que animais mais velhos são mais frequentemente infectados, machos são mais sororreagentes que as fêmeas, quanto mais denso o rebanho maior a disseminação na propriedade, e a participação do gado em leilões e feiras agropecuárias (DIAS et al., 2008; BOELAERT et al., 2005; BARBOSA et al., 2005; SOLIS-CALDERON et al., 2005; VONK NOORDEGRAAF et al., 2004).

Outra enfermidade com destaque epidemiológico é o vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV), um membro da família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* (BOLIN & RIDPATH, 1996). A principal característica desta enfermidade é a existência de animal persistentemente infectado (PI) que se torna imunologicamente tolerante ao BVDV, e por meio dessa fonte de infecção o vírus se mantém na população bovina (DUBOVI, 1998).

Os principais fatores de risco associados ao BVDV: entrada de animal PI no rebanho, vacas sadias que sofrem a infecção aguda durante o estado de gestação e a presença de animal transitoriamente infectado (GOYAL & RIDPATH, 2005). Outros fatores que contribuem com a disseminação dessa enfermidade no rebanho são a densidade da população na propriedade (SOLIS-CALDERON et al., 2005); o tipo de exploração comercial da propriedade (QUINCOZES et al., 2007) e a idade dos suscetíveis (MAINER-JAIME et al., 2001).

A LEB é uma doença contagiosa que também afeta rebanhos e tem importância econômica dentro da bovinocultura. É causada por um retrovírus pertencente à família *Retroviridae*, cujo gênero é o *Deltaretrovirus* (LICURSI et al., 2003).

Por ser uma enfermidade crônica acomete geralmente animais acima de dois anos de idade (TRAININ et al., 2005). A infecção pode resultar em manifestações que academicamente pode ser separadas em três fases diferentes: a primeira, na qual o animal permanece assintomático (60 a 65%), mas que pode ocorrer a soroconversão; na segunda fase, o animal desenvolve também uma linfocitose persistente (20-30%) caracterizada pelo aumento no número de leucócitos e linfócitos em três desvios padrões acima

da leitura normal no período de 90 dias; e a terceira, fase clínica, caracterizada pelo desenvolvimento de linfoma maligno (1 a 5%), geralmente fatal (SAMARA et al., 1997; DUS SANTOS et al., 2007).

Assim, toda essa literatura apresentada despertou o objetivo da pesquisa que foi verificar a possibilidade de variação na ocorrência do BoHV-1 quando houver associação dessa enfermidade com pelo menos uma das enfermidades virais imunossupressoras, quais sejam a BVD e a LEB.

MATERIAL E MÉTODOS

As propriedades foram selecionadas por meio de testes sorológicos para detecção de anticorpos contra o BoHV-1 numa amostragem representativa do rebanho bovino. Foram utilizadas seis propriedades experimentais pertencentes ao Estado de Minas Gerais e Estado de São Paulo, sendo três de exploração leiteira, uma de exploração mista, outra de exploração de gado de corte, que tinham animais soropositivos ao BoHV-1, e uma propriedade controle, de exploração leiteira, onde nenhum animal era soropositivo. Para este estudo foram selecionados rebanhos que obrigatoriamente não recebiam vacinação contra o BoHV-1 e o BVDV-1.

Foram colhidas amostras de sangue de todos os animais dos rebanhos selecionados, por punção da veia caudal mediana ou jugular dos animais, independentemente da idade. Após a colheita, as amostras de sangue foram levadas ao laboratório de viroses da reprodução, do departamento de Medicina Veterinária Preventiva, da UNESP – Jaboticabal, onde foram dessoradas e armazenadas em frascos esterilizados tipo “ependorf”, à temperatura de -20°C, até o momento do uso, contabilizando 351 amostras.

O teste de virusneutralização (VN) foi o método diagnóstico utilizado para detecção de anticorpos contra o BoHV-1, estirpe Nebraska, proveniente da Universidade Estadual de Londrina - PR, e o BVDV-1, estirpe Singer, proveniente do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria – RS, segundo protocolo preconizado pela OIE (2007). A imunodifusão em gel de ágar (IDGA) foi a técnica utilizada para detectar anticorpos contra o vírus da LEB, utilizando as recomendações do fabricante (TECPAR®, Paraná).

Os dados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado (χ^2) para verificar se houve diferença significativa ($\alpha = 0,01$) em relação às enfermidades estudadas com a faixa etária e o tipo de exploração da propriedade bem como a possível associação do BoHV-1 com o BVDV-1 e a LEB. Foi realizado o teste do desdobramento do χ^2 como comparação de médias, para verificar qual a faixa etária ou o tipo de exploração que diferiu significativamente (ZAR, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão apresentados na forma de tabela. Foram colhidas 351 amostras de sangue de bovinos originários das seis propriedades de pequeno (P1, P2 e P3) e médio (P4 e P5) porte, e da propriedade controle (P6) (Tabela 1). Das propriedades estudadas, quatro pertencem ao Estado de São Paulo, P1, P3, P4 e P6, perfazendo um total de 233 amostras, sendo 73 advindas do rebanho P6; e duas ao Estado de Minas Gerais, P2 e P5, com 118 amostras. De acordo com os resultados, o presente trabalho mostrou em primeira instância, a ocorrência de três enfermidades virais, o

BoHV-1, a BVD e a LEB, que também estão disseminadas em grande parte do mundo.

A ocorrência do BoHV-1 encontrada nesta pesquisa foi de 54,7% (152/278). Segundo estudos realizados por diversos autores, a prevalência deste vírus no Brasil está entre 28,9% a 82,7% (GALVÃO et al., 1963; MOLNÁR et al., 2001; ROCHA et al., 2001). No Estado de São Paulo a ocorrência foi de 52,5% (84/160), portanto muito próximo dos 53,9% obtidos por Alfieri (1998). No Estado de Minas Gerais a ocorrência encontrada foi de 66,1% (68/118), que foi superior aos 58,2% encontrados por Rocha et al. (2001) nesse mesmo Estado (Tabela 2).

Tabela 1. Porcentagem (%) dos animais com reações positivas (R) na análise laboratorial da imunodifusão em gel de ágar para a leucose enzoótica bovina (LEB) junto com as médias geométricas (δ) dos títulos de anticorpos obtidos na virusneutralização para o BoHV-1 e o BVDV-1, separados pelo tipo de exploração dos rebanhos.

Propriedade	Tipo de exploração	N° de amostras analisadas	BoHV-1			BVDV-1			LEB	
			R	%	δ	R	%	δ	R	%
P1	Leite	31	26	83,9	179	14	45,2	70	19	61,3
P2	Leite	42	34	80,9	86	30	71,3	63	9	21,4
P3	Leite	34	27	79,4	123	5	14,7	25	25	73,5
Total (leite)		107	87	81,3	125	49	45,8	41	53	49,5
P4	Mista	95	31	32,6	25	73	76,8	63	40	42,1
P5	Corte	76	34	44,7	45	72	94,7	784	3	3,9
Sub-total		278	152	54,7	75	194	69,8	144	96	34,5
P6 (controle)	Leite	73	3	4,1	18	3	4,1	127	56	76,7
Total		351	242	44,2	68	197	56,1	94	152	43,3

Tabela 2. Porcentagem (%) de animais com reação positiva na análise laboratorial de virusneutralização para o BoHV-1 e BVDV-1, e na imunodifusão em gel de Agar para a LEB, separados pela faixa etária e tipo de exploração da propriedade.

Tipo de exploração	Enfermidade					
	IBR		BVD		LEB	
	reagentes/total	%	reagentes/total	%	reagentes/total	%
Corte	34/76 ^A	44,7	72/76 ^A	94,2	3/76 ^A	3,9
Leite	87/107 ^B	81,3	49/107 ^B	45,8	53/107 ^B	49,5
Mista	31/95 ^A	32,6	73/95 ^C	76,8	40/95 ^B	42,1
Faixa etária						
Bezerros	13/35 ^a	37,1	14/35 ^a	40	0/35 ^a	0
Jovens	24/65 ^a	36,9	48/65 ^b	73,9	15/65 ^b	23,1
Adultos	115/178 ^b	64,6	132/178 ^b	74,2	81/178 ^c	45,5

Em cada coluna, letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($\alpha = 0,01$)

Em relação ao BVDV-1, a ocorrência encontrada de 69,8% (194/278) está próxima dos 66,32% achados por Quincozes et al. (2007) e 61,47% por Figueiredo et al. (1997), mas diferente dos 47,7% encontrados por Pituco & Del Fava (1998). No Estado de São Paulo, a ocorrência desta enfermidade foi de 57,5% (92/160), valores também próximos aos 56,49% encontrados por Samara et al. (2004); e no Estado de Minas Gerais foi de 86,4% (102/118), índice bem maior que os 57,56% que Samara et al. (2004) encontraram no mesmo Estado (Tabela 2).

Neste trabalho a ocorrência geral da LEB foi de 34,5% (96/278). Para o Estado de Minas Gerais, a ocorrência foi de 10,2% (12/278), e para o Estado de São Paulo de 52,5% (84/160); neste último os resultados foram semelhantes aos 47,4% obtidos por Megid et al. (2003). A prevalência da LEB no Brasil também varia muito, de no mínimo, 9,2% encontrada por Moraes et al. (1996) no Estado do Rio Grande do Sul, até o máximo de 70,9% no Estado de Minas Gerais (LEITE et al., 1984) (Tabela 2).

A análise estatística referente à infecção pelo BoHV-1 nas diferentes faixas etárias mostrou que os animais adultos foram os mais acometidos. Os bezerros e os animais jovens tiveram prevalências parecidas, 37,1% (13/35) e 36,9% (24/65), respectivamente; não diferindo estatisticamente entre si. Quanto ao tipo de exploração o gado de leite foi mais sororreagente, com prevalência de 81,3% (87/107), seguido do gado de corte com 44,7% (34/76) e os menores índices foram dos animais da exploração mista com 32,6% (31/95). Resultados diferentes foram observados por Dias et al. (2008) que encontraram uma maior prevalência no sistema de criação de gado de corte, e a menor no gado destinado a exploração mista. As prováveis causas dos resultados, obtidos particularmente no presente estudo, podem ser advindas do fato dos animais destinados a exploração do gado de leite possuir uma maior longevidade e manejo mais intensivo que os outros dois tipos. Além disso, para os animais de exploração leiteira, o manejo adotado na criação de bezerros permite que os adultos fiquem separados por mais tempo dos animais mais jovens.

Segundo Boelaert et al. (2005), dois fatores favorecem a infecção do BoHV-1 nos animais mais velhos: primeiro é que animais com idade mais avançada têm maior probabilidade de contato com o vírus; o segundo fator pode estar relacionado ao manejo intensivo, o que provoca um maior estresse no animal. O estresse promove uma liberação do vírus latente, ocasionando uma viremia, que pode resultar em excreção do vírus para o meio ambiente, conseqüentemente ficando livre para infectar outros animais suscetíveis (LEMAIRE et al., 1994).

O resultado da análise estatística relacionada ao BVDV-1 com o tipo de exploração da propriedade também foi significativo. No presente estudo, os rebanhos leiteiros, misto e de gado de corte, foram diferentes entre si, sendo a maior prevalência para a exploração de corte, 94,7% (72/76); seguida pela mista, 76,8% (73/95) e a menos acometida foi a exploração leiteira, 45,8% (49/107). Esses dados divergem dos

resultados obtidos por Quincozes et al. (2007) cujo tipo de exploração mais acometido foi a mista, seguida pela corte e a menos acometida a leiteira. Em relação à idade, se excluída a faixa etária dos bezerros, de zero a oito meses de idade, pela possível interferência de anticorpos de origem colostrálica, as outras faixas etárias não foi um fator de risco para esta enfermidade, sendo a prevalência de 74,2% (132/178) nos animais adultos e 73,9% (48/65) nos jovens. Estes dados corroboram com os resultados obtidos por Quincozes et al. (2007), que não obteve em seu estudo diferença significativa em relação à idade, porém divergem dos resultados encontrados por Mainar-Jaime et al. (2001) que encontraram um maior acometimento do BVDV-1 nos animais adultos.

Relacionando os resultados da LEB com a faixa etária dos animais e o tipo de exploração das propriedades, houve diferença significativa para ambas as análises. A maior prevalência, 49,5% (53/107) foi observada na exploração de leite, seguida de 42,1% (40/95) na exploração mista e apenas 3,9% (3/76) para a exploração de gado de corte. Em relação à faixa etária, todos os grupos foram diferentes significativamente entre si, sendo os animais mais velhos os mais acometidos, apresentando prevalência de 45,5% (81/178), depois pelos jovens, 23,1% (15/65), e por último os bezerros com prevalência de 0% (0/35).

Os resultados obtidos, neste trabalho, em relação à LEB estão de acordo com a literatura pertinente, no que diz respeito aos animais mais velhos e aos originários de propriedades de exploração leiteira que são os mais acometidos por essa enfermidade. Segundo Dus Santos et al. (2007), o principal meio de transmissão da LEB é pela forma iatrogênica, por meio do manejo, como, por exemplo, a vacinação sem troca de agulha e a palpação de vários animais com a mesma luva, entre outros. Também pelo fato da LEB ser uma enfermidade de infecção crônica acomete com maior frequência os animais mais velhos (TRAININ et al., 2005).

Na associação das enfermidades, o maior índice foi de 25,5% (71/278) para o BoHV-1 junto com o BVDV, 21,9% (61/278) apenas para o BVDV-1; seguido dos 14,4% (40/278) para as três enfermidades concomitantes; 11,9% (33/278) para nenhuma doença; 10,8% (30/278) para o BoHV-1 com a LEB; 7,9% (22/278) para o BVDV-1 com a LEB; 6,1% (17/278) somente para o BoHV-1 e 1,4% (4/278) apenas para a LEB. Vale lembrar que esses resultados foram obtidos ao analisar amostras de sangue provenientes de animais que não foram vacinados contra o BoHV-1 e o BVDV-1.

A possível associação do BoHV-1 com o BVDV-1 e do BoHV-1 com a LEB foi estatisticamente significativa. Apesar de ter encontrado uma maior prevalência de animais acometidos pela associação do BoHV-1 com o BVDV-1, do que pelo BoHV-1 com a LEB, a diferença estatística foi significativamente maior para a última associação citada ($\alpha = 0,01$) do que do BoHV-1 com o BVDV-1 ($\alpha = 0,05$). Os resultados sugerem que propriedades onde há animais com uma

das duas enfermidades, seja ela BDV ou LEB, a probabilidade de ocorrer a BoHV-1 é maior do que em propriedades onde as outras duas enfermidades não ocorrem. Uma das explicações para este fato pode ser a imunossupressão que acomete os animais tanto pela BVDV quanto pela LEB.

A imunossupressão causada pelo BVDV pode determinar uma diminuição na resposta de memória dos linfócitos a outros patógenos (LAMONTAGNE et al., 1989); independente de ser uma infecção aguda ou branda, com isso, aumentar a patogenicidade dos outros microrganismos (HOLLAND et al., 1993); essa situação proporciona um aumento considerável na incidência e na severidade de doenças do trato respiratório, como, por exemplo, as causadas pelo BoHV-1 (POTGIETER, 1997).

Já os animais acometidos pela LEB podem ter uma menor quantidade de IgM no sangue, além de produzir anticorpos inespecíficos, o que indica uma possível deficiência na imunidade humoral (TRAININ et al., 2005).

Na infecção pelo BoHV-1, o vírus consegue migrar até os linfonodos onde fica em latência. O animal então se torna portador e potencial transmissor desta enfermidade para o resto de sua vida (MUYLKENS et al., 2007). O vírus em latência pode levar a subseqüentes e intermitentes episódios de re-excreção viral pelo animal, acompanhados ou não de sinais clínicos (FENNER et al., 1993). A re-excreção do vírus pode ocorrer quando o animal passa por um estresse, ocasionando uma viremia (LEMAIRE et al., 1994). O que determina a ocorrência ou não da re-excreção é o estado imune do animal. Caso o animal tenha quantidade suficiente de anticorpos para debelar o vírus que está sendo lançado na circulação sanguínea, não ocorrerá a excreção viral; porém se a quantidade de anticorpos é insuficiente, o vírus, presente na circulação do animal, será excretado para o ambiente, e conseqüentemente, poderá infectar outros animais suscetíveis (LEMAIRE et al., 1994).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados do presente estudo, foi possível concluir que os três vírus pesquisados estão difundidos nas regiões dos Estados de Minas Gerais e São Paulo, tendo o BVDV-1 a maior prevalência (69,78%), seguido do BoHV-1 (54,68%) e com menor prevalência o VLEB (34,53%); sendo a probabilidade de infecção pelo BoHV-1 maior quando os animais estavam infectados também pelo BVDV ou pelo VLEB. Em relação à faixa etária, os animais adultos foram os mais acometidos por todas as enfermidades pesquisadas. Nas propriedades de exploração de gado de leite, os animais foram mais acometidos pelo BoHV-1 e pelo VLEB; os animais da propriedade de exploração de corte foram mais acometidos pelo BVDV e os menos acometidos para a LEB, e a propriedade de exploração mista apresentou prevalência mediana de BVD e LEB em relação aos outros tipos de exploração, sendo também a menos acometida pelo BoHV-1.

AGRADECIMENTOS

A Técnica de Laboratório, Andréa Souza Ramos de Medeiros por total apoio na realização da parte laboratorial deste trabalho e a agência de fomento CAPES e FAPESP (processo nº 2006/55899-4) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ALFIERI, A. A.; ALFIERI, A. F.; MÉDICE, K. C. Conseqüências da infecção pelo herpesvirus bovino tipo 1 sobre o sistema reprodutivo de bovinos. **Semin., Ciência Agrária**, v.19, n.1, p.86-93, 1998.

BARBOSA, A. C. V. C.; BRITO, W. M. E. D.; ALFAIA, B. T. Soroprevalência e fatores de risco para a infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no Estado de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1368-73, 2005.

BOELAERT, F.; SPEYBROEC, N.; KRUIFK, A.; AERTS, M.; BURZYKOWSKY, T.; MOLENBERGHS, G.; BERKVENS, D. L. Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity. **Preventive Veterinary Medicine**, v.69, p.285-95, 2005.

BOLIN, S. R.; RIDPATH, J. F. The clinical significance of genetic variation among bovine viral diarrhoea viruses. **Veterinary Medicine**, v.91, n.10, p.958-61, 1996.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; D'ANGELINO, J. L. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1): revisão e situação atual no Brasil. **Revista Educação Continuada, CRMV- SP/ Continuous Education Journal CRMV-SP**, v.5, n.3, p.300-12, 2002.

DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; MÉDICI, K. C.; FREITAS, J. C.; NETO, J. S. F.; MÜLLER, E. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.3, p.161-68, 2008.

DUBOVI, E. J. Bovine viral diarrhoea virus. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVIRUS BOVINO E VIRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA, Santa Maria. Anais 19p, 1998.

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

ENGELS, M.; ACKERMANN, M. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. **Veterinary Microbiology**, v.53, n.1-2, p.3-15, 1996.

- FENNER, F. J.; GIBBS, E. J.; MURPHY, F. A. Herpesviridae. In: FENNER, F. **Veterinary virology**. 2 ed. New York: Academic Press. 335-368p, 1993.
- FENNER, F. **Veterinary virology**. 1.ed. Londres: Academic Press. 1987, 445p.
- FIGUEIREDO, H. C. P.; VIEIRA, P. R.; LAGE, A. P.; LEITE, R. C. Prevalência de anticorpos contra o vírus da diarreia bovina a vírus em Minas Gerais - Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n.4, p.11-15, 1997.
- GALVÃO, C.; DORIA, J. D.; ALICE, F. J. Anticorpos neutralizantes para o vírus da Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina em bovinos do Brasil. **Boletim do instituto biológico da Bahia**, v.1, n.6, p.15-25, 1963.
- GOYAL, S. M.; RIDPATH, J. F. **Bovine viral diarrhoea virus**. 1ª ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2005, p.261.
- HOLLAND, R. E.; BEZEK, D. M.; SPRENCHEK, D. J.; PATTERSON, J. S.; STEFICEK, B. A.; TRAPP, A. L. Investigation of an epizootic of bovine viral diarrhoea virus infection in calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.202, n.11, p.1.849-54, 1993.
- LAMONTAGNE, L.; LAFORTUNE, P.; FOURNEL, M. Modulation of the cellular immune responses to T-cell-independent antigens in lambs with induced bovine viral diarrhoea virus infection. **American Journal of Veterinary Research**, v.50, p.1604-08, 1989.
- LEITE, R. C.; MODENA, C. M.; MOREIRA, E. C.; ABREU, J. J. Evolução clínica da Leucose Enzoótica Bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.36, n.1, p.47-57, 1984.
- LEMAIRE, M.; PASTORET, P. P.; TIRY, E. Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. **Annales de Médecine Vétérinaire**, v.138, p.167-80, 1994.
- LICURSE, M.; INOSHIMA, Y.; WU, D.; YOKOYAMA, T.; GONZALEZ, E. T.; SENTSUI, H. Provirus variants of bovine leukemia virus in naturally infected cattle from Argentina and Japan. **Veterinary Microbiology**, v.96, p.17-23, 2003.
- MAINAR-JAIME, R. C.; BERZAL-HERRANZ, B.; ARIAS, P.; ROJO-VÁZQUEZ, F. A. Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v.52, p.63-73, 2001.
- MEGID, J.; NOZAKI, C. N.; KURODA, R. B. S.; CRUZ, T. F.; LIMA, K. C. Ocorrência de Leucose Enzoótica Bovina na Microrregião da Serra de Botucatu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.5, p.645-46, 2003.
- MOLNÁR, E.; CAMELO, A. S. A.; SILVA, E. B.; MOLNÁR, L. Prevalência da infecção pelo vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) em bubalinos e bovinos no estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.2, p.252-54, 2001.
- MORAES, M. P.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F.; OLIVEIRA, J. C. D.; REBELATTO, M. C.; ZANINI, M. R.; HÜBNER, S. O.; PEREIRA, N. M. Levantamento sorológico da infecção pelo Vírus da Leucose Bovina nos rebanhos leiteiros do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.26, n.2 p.257-262, 1996.
- MUYLKENS, B.; THIRY, J.; KIRTEN, P.; SCHYNTS, F.; THIRY, E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**, v.38, p.181-209, 2007.
- OIE. Office International des Épizooties. **Manual of standards for diagnostic test and vaccines**. Disponível em: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00132.htm. Acesso em 20 jun 2007.
- PITUCO, E. M.; DEL FAVA, C. Situação do BVDV na América do Sul. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA. Santa Maria. **Anais ...** p. 49-57, 1998.
- POTGIETER, L. N. D. Bovine respiratory tract disease caused by bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.13, n.3, p. 471-81, 1997.
- QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. A.; VIDOR, T.; BROD, C. S. Prevalence and factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in South of Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, n.2, p.269-76, 2007.
- ROCHA, M. A.; GOUVEIA, A. M. G.; LOBATO, Z. I. P.; LEITE, R. C. Pesquisa de anticorpos para IBR em amostragem de demanda no Estado de Minas Gerais, 1990-1999. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.645-47, 2001.
- SAMARA, S. I.; LIMA, E. G.; NASCIMENTO, A. A. Monitoração da Leucose Enzoótica Bovina no gado leiteiro da região de Pitangueiras/SP. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.34, n.6, p.349-51, 1997.
- SAMARA, S. I.; DIAS, F. C.; MOREIRA, S. P. G.; BUZINARO, M. G. Ocorrência da diarreia viral bovina nas regiões Sul do Estado de Minas Gerais e Nordeste do Estado de São Paulo. **Ars Veterinaria**, v.20, n.1, p.75-82, 2004.

SOLIS-CALDERON, J. J.; CORREA, V. M. S.; CORREA, J. C. S. Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: Seroprevalence and risk factors. **Preventive Veterinary Medicine**, v.72, p.253-62, 2005.

TRAININ, Z.; BRENNER, J. The direct and indirect economic impacts of bovine leukemia virus infection on dairy cattle. *Isr. Journal of Veterinary Medicine*, v.60, n.4, p94-105, 2005.

VAN SCHAİK, G.; SCHUKKEN, Y. H.; NIELEN, M.; DIJKHUIZEN, A. A.; BARKEMA, H. W.; BENEDICTUS, G. Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF

dairy farms: a cohort study. **Preventive Veterinary Medicine**, v.54, n.3, p.279-89, 2002.

VONK NOORFEGRAAF, A.; LABROVIC, A.; FRANKENA, K.; PFEIFFER, D. U.; NIELEN, M. Simulated hazards of losing infection-free status in a Dutch BHV1 model. **Preventive Veterinary Medicine**, v.62, n.1, p.51-8, 2004.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 4 ed. New Jersey: Prentice Hall. 1999, 663p.