

## AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE CONTROLE DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA LEUCOSE ENZOÓTICA BOVINA

### APPRAISAL METHODS For CONTROLLING THE INFECTION BY ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS

Fátima Machado Braga<sup>1</sup> Carlos Willi van der Laan<sup>2</sup> Daniza Coelho Halfen<sup>3</sup> Telmo Vidor<sup>4</sup>

#### RESUMO

Foram avaliadas três alternativas de controle da infecção pelo vírus da Leucose Bovina: a) eliminação dos animais soropositivos; b) segregação dos animais soropositivos; c) manejo misto dos animais, com adoção de medidas recomendadas para evitar a transmissão do vírus. O primeiro teste sorológico realizado em oito propriedades leiteiras revelou a presença da infecção com índices que variaram entre 2,5% (1/40) e 58,1% (18/31). Duas propriedades com baixo nível de infecção inicial (<10%) optaram pela eliminação total dos animais positivos. Uma dessas propriedades apresentou resultados imediatos, com taxa de incidência nula (0/39) durante o período de doze meses, enquanto a outra, que não eliminou prontamente o animal positivo, apresentou incidência de 20,0% (3/15) no mesmo período. A eliminação dos animais reagentes, nas propriedades que apresentaram um baixo nível de infecção, demonstrou ser uma forma eficiente para a erradicação da infecção. A segregação dos animais soropositivos, com a formação de dois rebanhos, foi implantada em uma propriedade, onde apenas um animal soroconverteu durante o experimento, observando-se uma incidência de 4,5% (1/22) ao final do estudo. As propriedades que adotaram o programa de controle através do manejo misto de animais infectados e não infectados apresentaram resultados muito variados, demonstrando índices de soroconversão entre 2,6% (1/38) a 50,0% (4/8), indicando que esse tipo de controle necessitaria de um tempo maior para alcançar os objetivos. Foi possível a obtenção de descendentes soronegativos através da substituição ou inativação pelo calor do leite materno administrado aos terneiros. A redução dos níveis de infecção em um rebanho, sem a necessidade do

descarte imediato dos animais infectados, é possível a partir da substituição de ventres pelas novilhas da própria granja.

**Palavras-chave:** Leucose enzoótica bovina, vírus da Leucose bovina, controle.

#### SUMMARY

Three procedures for the control of bovine leukemia virus infection (BLV) were evaluated: a) elimination of seropositive animals; b) segregation of animals into seropositive and seronegative groups; c) combined management and use of strict procedures to minimize viral transmission. The first serological testing in eight dairy farms demonstrated a prevalence ranging of 2.5% (1/40) to 58.1% (18/31). Two farms with a low prevalence (<10%) decided to cull the seropositive animals. In one of these farms, the culling of positive animals resulted in eradication of the infection, demonstrated by the absence of seropositive reactors in the following tests. In the second farm, where the only seropositive animal was kept in the herd, the incidence reached 20% (3/15) in a six months period. The culling of the reactors in farms with low levels of infection seemed to be the most efficient procedure for eradication the infection. Segregation of reactors and negative animals into two groups was adopted in one farm, where only one animal seroconverted during the experiment, resulting in an incidence of 4.5% (1/22). The farms where a combined management was adopted presented a incidence ranging between 2.6% (1/38) and 50% (4/8). These results suggested that this procedure would require a longer period of observation in order to evaluate

<sup>1</sup>Médico Veterinário, MSc, Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS, Brasil. CEP: 96010-900; FAX: (0532) 759004. Autor para correspondência.

<sup>2</sup>Médico Veterinário, MSc, Professor adjunto, Faculdade de Veterinária, UFPel..

<sup>3</sup>Médico Veterinário, MSc, Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, UFPel.

<sup>4</sup>Médico Veterinário, Doutor, Professor Adjunto, Faculdade de Veterinária, UFPel.

*its efficacy. It has been possible to obtain seronegative offspring from positive dams when a substitutive or heat-inactivated milk was used. The reduction of the level of infection in a herd, without immediately culling the infected animals may be possible by replacing older animals with heifers born in the same farm.*

**Key words:** *bovine leukemia virus, enzootic bovine leukosis, control.*

## INTRODUÇÃO

O termo Leucose Enzoótica Bovina é usado para descrever duas condições relacionadas aos bovinos, o linfossarcoma, que é provavelmente a doença neoplásica mais comum do gado leiteiro, e a linfocitose persistente (LP), condição linfoproliferativa freqüentemente observada em bovinos clinicamente normais provenientes de rebanhos onde o linfossarcoma é prevalente (STRAUB, 1981).

A identificação do vírus da Leucose Enzoótica Bovina (BLV) (MILLER *et al.*, 1969) e o subsequente desenvolvimento de técnicas sorológicas sensíveis permitiram o reconhecimento das infecções pelo BLV como prevalentes nos bovinos em muitos países. No Brasil, a ocorrência de casos clínicos de Leucose Bovina, tanto como a presença do agente, são fatos bem documentados (ALENCAR FILHO *et al.*, 1979; ROMERO & ROWE, 1981). O vírus está amplamente disseminado nos bovinos da maioria dos rebanhos leiteiros do Brasil. Nestes rebanhos, bovinos de todas as idades estão infectados, apresentando percentuais de infecção mais altos nos animais adultos (ROMERO *et al.*, 1983).

A infecção é, atualmente, considerada como um problema de importância sanitária e econômica, não só porque a presença do vírus impõe sérias restrições à exportação e importação de bovinos de alto potencial genético, mas também devido a mortalidade que ele causa, e principalmente em razão dos possíveis efeitos da infecção sobre a produtividade dos bovinos atingidos. Devido a importância sanitária da Leucose Enzoótica Bovina, principalmente no que diz respeito ao comércio internacional, diversos países têm estabelecido medidas de controle e erradicação da infecção. Um número crescente de países exige certificado negativo de Leucose Bovina para a importação de animais, sendo que a maioria desses países fazem parte da Comunidade Econômica Européia. O teste sorológico negativo do rebanho é obrigatório em países como a Áustria, Dinamarca, Irlanda, Holanda, Irlanda do Norte e Alemanha (JOHNSON & KANEE-NE, 1992; FENNER *et al.*, 1993). O Brasil também exige o teste sorológico negativo para importação de bovinos. Essa exigência, por parte do Ministério da

Agricultura, colabora com as tentativas de programas de controle, através do impedimento de compra e entrada no país de animais sorologicamente positivos para o BLV. Infelizmente não existe nenhum programa oficial de controle da doença. O objetivo deste trabalho foi estabelecer e avaliar alternativas de controle para o BLV em propriedades leiteiras, nas condições de criação da região de Pelotas, RS.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em oito propriedades comerciais de bovinos leiteiros localizadas na região de Pelotas, sul do estado do Rio Grande do Sul. Todos os animais de cada propriedade foram testados a intervalos de seis meses para determinar a prevalência da infecção pelo BLV, e acompanhados pelo período de um ano. Durante o período do estudo, o número de animais variou entre 248 e 304 bovinos de diversas idades. Os rebanhos eram formados por animais da raça Holandesa e Jersey, com bom manejo sanitário, mantidos em sistema de criação semi-extensivo. As propriedades foram classificadas e identificadas como propriedades A, B, C, D, E, F, G e H. No manejo reprodutivo destas propriedades era utilizada a inseminação artificial, sendo que duas propriedades utilizavam a técnica de transferência de embriões.

Os animais foram testados sorologicamente pela técnica de Imunogeldifusão em ágar (IGDA), utilizando kit comercial (Rhône Mérieux Diagnostics) contendo antígeno glicoprotéico (gp51) do BLV, segundo MILLER & VAN DER MAATEN (1977). Para a realização da técnica de IGDA, foram coletadas amostras de sangue de todos os animais acima de seis meses de idade.

Com o objetivo de avaliar a eficácia de diferentes medidas específicas de manejo no controle da infecção pelo vírus da leucose bovina, foram propostas três alternativas para os proprietários: a) teste sorológico e descarte de todos os animais reagentes, quando o objetivo era a erradicação da infecção; b) segregação dos rebanhos em grupos de animais soropositivos e soronegativos; c) manejo misto dos animais com adoção de práticas de manejo para reduzir o risco de transmissão do vírus.

Para avaliar a eliminação de reagentes como alternativa para obtenção de rebanhos livres do BLV, foram selecionadas duas propriedades (A e B) que apresentaram índices de infecção relativamente baixos (<10%), e, portanto, compatíveis com a eliminação dos animais. Após o primeiro teste sorológico, foram descartados todos os animais positivos ao teste de Imunogeldifusão. Os rebanhos foram controlados

durante todo o período de doze meses, com testes de todos os animais a cada seis meses, para a detecção de possíveis novos casos. Além disso, foram recomendadas as seguintes medidas para evitar a disseminação do vírus: introdução somente de animais sorologicamente negativos no rebanho (todo animal adquirido deveria ser testado antes da entrada no rebanho e mantido em isolamento, sendo necessário um segundo teste oito a doze semanas após); uso de agulhas individuais para coleta de sangue, injeções e vacinações; desinfecção dos instrumentos utilizados para tatuagem, brincagem e descorne, entre um animal e outro, com álcool iodado; uso de luvas obstétricas individuais para palpação retal; uso de receptoras soronegativas para transferência de embriões.

A segunda alternativa testada foi o manejo em separado, que consistiu na separação, com manejos independentes, dos animais sorologicamente positivos dos soronegativos. Esse procedimento teve a finalidade de eliminar progressivamente os animais soropositivos, atingindo assim a condição de um rebanho livre da infecção, sem maiores perdas econômicas. A segregação dos animais soropositivos foi realizada somente na propriedade C. O rebanho foi testado e dividido em dois grupos, BLV-positivo e BLV-negativo, mantidos em poteiros separados, com uma distância aproximada de 200 metros, para reduzir ao máximo o risco de transmissão horizontal do vírus. O proprietário recebeu orientação para que o plantel de animais soronegativos fosse manejado sempre em primeiro lugar, e que todo o animal incorporado apresentasse sorologia negativa. O rebanho foi controlado durante todo o período, com testes de todos os animais a cada seis meses, com o objetivo de monitorar a presença de anticorpos anti-BLV.

A terceira alternativa de controle da infecção do BLV foi avaliar um manejo com um rebanho único, formado de animais soronegativos e soropositivos. Para a avaliação do método de descarte gradual e orientado dos animais reagentes positivos, foram selecionadas cinco propriedades (D, E, F, G e H) com diferentes níveis de infecção. Durante o acompanhamento das propriedades, alguns animais soropositivos, assim como soronegativos, foram abatidos e descartados. Os animais soropositivos foram identificados através de brinco numerados com cores diferentes e manejados num único rebanho, junto com os soronegativos, seguindo as mesmas orientações das demais granjas sobre os cuidados para impedir a

disseminação do BLV entre os animais infectados e suscetíveis. Com a finalidade de facilitar o manejo, foi recomendado o uso de dois aparelhos identificados nos tratamentos injetáveis, como vacinações: um exclusivo para soropositivos e outro para soronegativos.

Os terneiros, filhos de vacas reagentes, foram separados logo após o nascimento, evitando-se assim a ingestão de colostro não tratado. Foram aplicadas duas alternativas de fornecimento do colostro de acordo com as condições da propriedade. Uma delas foi a inativação do colostro, das mães soropositivas, a uma temperatura de 56°C durante 30 minutos (BAUMGARTENER *et al.*, 1976) (propriedades D, E, F e G). A outra foi a utilização de vacas amas de leite soronegativas para alimentar os terneiros filhos de vacas soropositivas (propriedades B, E, F e G). Na falta de disponibilidade de amas na época do nascimento, a alternativa foi o tratamento do colostro através do calor. Na propriedade H não houve controle dos terneiros nascidos de vacas soropositivas. A propriedade C utilizou colostro congelado de vacas soronegativas.

## RESULTADOS

Os resultados iniciais dos testes sorológicos de 248 bovinos acima de seis meses de idade indicaram que 17,7% (44/248) dos animais testados eram soropositivos para o BLV. Foram identificados animais reagentes positivos em todas as propriedades. Observou-se uma redução no percentual de reagentes positivos (nível de infecção) em três propriedades (A, D e G), e um aumento em outras três (E, F e H), enquanto que a prevalência manteve-se estável em duas propriedades (B e C) (Tabela 1).

Tabela 1 - Evolução sorológica para o BLV em rebanhos leiteiros submetidos a três diferentes propostas de controle.

PROPRIEDADE	1ºTESTE	2ºTESTE	3ºTESTE	%SOROCONVERSÃO
A <sup>a</sup>	*1/40(2,5**)	0/42(0,0)	0/51(0,0)	0,0
B <sup>a</sup>	1/16(6,2)	2/24(8,3)	1/16(6,2)	20,0
C <sup>b</sup>	3/29(10,3)	4/29(13,8)	4/30(13,3)	4,5
D <sup>c</sup>	8/37(21,6)	9/45(20,0)	6/45(13,3)	6,9
E <sup>c</sup>	4/16(25,0)	2/16(12,5)	7/13(53,8)	50,0
F <sup>c</sup>	7/39(17,9)	6/35(17,1)	11/52(21,1)	10,7
G <sup>c</sup>	18/31(58,1)	11/20(55,0)	18/50(36,0)	33,3
H <sup>c</sup>	2/40(5,0)	9/47(19,1)	10/47(21,3)	2,6

\* animais reagentes/total de animais testados.

\*\* % de reagentes sorológicos.

<sup>a</sup> eliminação

<sup>b</sup> manejo separado

<sup>c</sup> manejo misto.

No primeiro levantamento sorológico realizado, 204 animais apresentaram resultado negativo à IGDA, 16 desses animais foram descartados durante o período. Na última avaliação realizada um ano após, entre os 188 animais inicialmente testados, 17 soroconverteram, determinando uma incidência média de 9,0% de infecção, variando entre 0,0% a 50,0% (Tabela 1). Alguns destes animais que soroconverteram apresentaram uma reação fracamente positiva à IGDA. Apenas uma propriedade (A) não apresentou casos novos durante o período.

## DISCUSSÃO

Os dados obtidos na propriedade A indicam que a eliminação dos animais reagentes apresenta resultados imediatos para a erradicação da infecção. Esse rebanho manteve-se livre da infecção após três ciclos de testes sorológicos, utilizando-se a técnica de IGDA. Nesses casos, o eventual aparecimento de reagentes nos testes subsequentes deveria ser seguido da imediata remoção desses animais. Esses resultados assemelham-se aos encontrados por RUPPANNER *et al.* (1983), KAJA *et al.* (1984) e SHETTIGARA *et al.* (1986).

Embora essa proposta seja economicamente inviável para a grande maioria das propriedades, principalmente naquelas com altos índices de positividade, é a ideal para os rebanhos que apresentem índices baixos de infecção e que sejam compatíveis com a eliminação de todos os animais soropositivos. Resultados diferentes foram obtidos na propriedade B, na qual, apesar da eliminação dos reagentes, novos positivos foram identificados nos testes subsequentes. Provavelmente os casos novos, que determinaram a incidência de 20,0% entre os 15 animais que permaneceram na propriedade no período de um ano de observação, foram devido a demora na eliminação dos animais soropositivos, propiciando a infecção de outros animais pela disponibilidade de uma fonte de infecção. Animais infectados que permanecem no rebanho são um problema em programas de controle da infecção, pois representam um risco de transmissão do vírus para outros animais. Também é possível que o animal soropositivo no segundo teste já estivesse infectado por ocasião da primeira sorologia, servindo como fonte de infecção para os outros animais. Para que uma propriedade possa ser considerada controlada ou livre da infecção são necessários dois a três testes consecutivos, em que todos os animais apresentem reação negativa, com intervalos que variam entre 30 a 60 dias até seis meses, pois animais que tenham infectado-se recentemente pelo BLV podem apresentar

uma reação falso-negativa devido a níveis não detectáveis de anticorpos. Esta observação é destacada por JOHNSON & KANEENE (1991) e AGRETI *et al.* (1993). Também PELZER & SPRECHER (1993) comentam que estes animais podem ser identificados em um segundo teste, a partir de quatro semanas após a primeira coleta de sangue, período este em que a taxa de anticorpos alcança níveis detectáveis através da técnica de IGDA. SHETTIGARA *et al.* (1986) também atribuíram os novos casos a infecções não detectadas por ocasião da sorologia anterior ou pela falha no seguimento das orientações pelo proprietário. A eliminação dos animais reagentes deve ser realizada imediatamente após os resultados do teste sorológico, mantendo-se todas as demais medidas para evitar a transmissão do vírus entre os animais. Como o período de observação foi de um ano, algumas granjas necessitariam de um período de acompanhamento maior para verificar se houve redução no nível de infecção, ou mesmo erradicação da infecção.

Os resultados observados na propriedade C, que adotou o programa de manejo em separado dos animais, indicaram que esta proposta para o controle da infecção parece ser um método eficiente, pois foi constatada a soroconversão de apenas um animal entre os 22 retestados (4,5%). Esta observação demonstra a possibilidade da manutenção de animais soropositivos na propriedade através da separação física, diminuindo o risco de transmissão do vírus aos animais suscetíveis, uma vez adotadas as medidas recomendadas. As dificuldades associadas ao programa de segregação dos animais incluíram o aumento dos esforços quanto ao manejo destes animais, e a necessidade de espaço em separado para os animais infectados. A segregação dos animais, apesar de considerada pouco prática para muitos proprietários que consideram uma medida difícil de ser implantada, principalmente em rebanhos com uma prevalência considerada elevada, é uma alternativa viável para aqueles produtores que desejam uma condição livre da infecção sem a remoção imediata de um número significativo de animais.

Os resultados observados na Tabela 1 demonstram resultados bastante diferenciados entre as propriedades que optaram pelo manejo misto dos animais. No programa ficou estabelecido que todo animal introduzido no rebanho deveria ser negativo em dois testes consecutivos, com intervalo de 30 a 60 dias. A não observação desta medida poderia resultar na introdução de novas fontes de infecção dentro de rebanhos controlados ou livres da infecção, favorecendo desta forma a disseminação do BLV. As propriedades E, F e H incorporaram animais sorologicamente positivos ao rebanho, apresentando acréscimo nos

índices de infecção observados ao final do período. Desta maneira, para o sucesso de qualquer programa de controle da infecção é imprescindível que os animais de reposição sejam negativos e mantidos em isolamento, sendo necessário um reteste devido a resultados falso-negativos que podem ocorrer em infecções recentes. Esta recomendação foi feita por SHETTIGARA *et al.* (1986), que observou a reintrodução da infecção em propriedades consideradas livres, devido a incorporação de animais soropositivos.

As granjas E, F e G, onde a prevalência inicial foi considerada alta, apresentaram incidência mais elevada durante o período, 50,0%, 10,7% e 33,3%, respectivamente. Observações semelhantes foram feitas por JOHNSON *et al.* (1985), em rebanhos que apresentaram uma disseminação maior da infecção quando comparados a rebanhos com menor número de animais infectados. A situação livre da infecção pelo BLV é mais difícil de ser alcançada nesses rebanhos que apresentam uma alta prevalência, pois as medidas preventivas anti-BLV dificilmente são seguidas a rigor, o que pode ter acontecido nestas propriedades.

A terceira alternativa não pareceu uma maneira eficiente no controle da infecção, para a maioria das propriedades, num curto espaço de tempo. Os resultados obtidos com as medidas de manejo recomendadas aos proprietários foram atribuídos, em parte, ao período do estudo de apenas um ano, considerado pequeno para que os objetivos propostos fossem atingidos. A principal desvantagem deste programa é a necessidade de um tempo prolongado para a observação de resultados satisfatórios e a dificuldade de convencer os proprietários em seguir a rigor as medidas preconizadas.

No final do estudo foi observado que 17 entre os 188 animais (9,0%), inicialmente negativos, soroconverteram (Tabela 1). É possível que alguns desses animais já estivessem infectados à primeira sorologia, porém não foram detectados pela técnica utilizada. JOHNSON & KANEENE (1991) e AGRESTI *et al.* (1993) descrevem que níveis baixos de anticorpos, não detectáveis através da IGDA, ocorrem em infecções recentes, assim como em períodos em que os anticorpos estão sendo mobilizados (período pré-parto e colostrado).

Na maioria das granjas, foi possível a obtenção de ternos negativos a partir de mães soropositivas. Estes dados indicam que é possível a redução da infecção em um rebanho a partir da incorporação de produtos da própria granja, quando são observadas as medidas para prevenir a transmissão do vírus entre os animais, inclusive através do colostro

e/ou leite contaminados, conforme foi observado por ROMERO *et al.* (1982, 1983), através da substituição gradual sem a necessidade de aquisição de animais de outras propriedades. Supõe-se que os cuidados no desmame dos ternos logo após o nascimento não foram seguidos na propriedade G. Provavelmente estes ternos tenham nascido durante a noite e mamado colostro nas primeiras horas de vida, adquirindo desta forma a infecção. Outra possibilidade seria através da infecção intra-uterina ou através do contato com outros meios de transmissão do vírus, como agulhas e instrumentos contaminados com sangue. Talvez, a dificuldade encontrada nessa propriedade, para atingir os objetivos de forma imediata, foi a prevalência inicial muito elevada (58,1%).

Uma das principais dificuldades encontradas na implantação de um programa para o controle da infecção foi a falta de motivação apresentada por muitos produtores, em parte, devido a infecção ser, na maioria das vezes, inaparente e, principalmente, pela não visualização dos prejuízos acarretados pela doença. O comprometimento e o entusiasmo para a implantação do programa, por parte dos proprietários, seriam fatores essenciais para a redução na prevalência da infecção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRESTI, A., PONTI, W., ROCCHI, M., *et al.* Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth. *American Journal of Veterinary Research*, v. 54, n. 3, p. 373-378, 1993.
- ALENCAR FILHO, R.A., MAZANTI, M. T., SAAD, A.D.; *et al.* Levantamento preliminar da infecção pelo vírus da leucemia linfática crônica (LLC) dos bovinos no Estado de São Paulo. *Biológico, S. Paulo*, v. 45, p. 47-54, 1979.
- BAUMGARTNER, L.E., OLSON, C., ONUMA, M. Effect of pasteurization and heat treatment on bovine leukemia virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 169, p. 1189-1191, 1976.
- FENNER, J.F., GIBBS, E.P.J., MURPHY, F.A., *et al.* *Veterinary Virology*. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1993. Cap. 33: Retroviridae: p. 561-595.
- JOHNSON, R., GIBSON, C.D, KANEENE, J.B. Bovine leukemia virus: a herd-based control strategy. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 3, p. 339-349, 1985.
- JOHNSON, R., KANEENE, J.B.: Bovine leukemia virus part-1. Descriptive epidemiology, clinical manifestation and diagnostic tests. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v. 13, p. 315-327, 1991.
- JOHNSON, R., KANEENE, J.B. Bovine leukaemia virus and enzootic bovine leukosis. *Veterinary Bulletin*, v. 62, n. 4, p. 287-312, 1992.

- KAJA, R.W., OLSON, C., ROWE, R.F., *et al.* Establishment of a bovine leukosis virus-free dairy herd. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 184, n. 2, p. 184-185, 1984.
- MILLER, J.M., MILLER, L.D., OLSON, C., *et al.* Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 43, p. 1297-1305, 1969.
- MILLER, J.M., VAN DER MAATEN, M.J. Use of glycoprotein antigen in the immunodiffusion test for bovine leukemia virus antibodies. **European Journal of Cancer**, v. 13, p. 1369-1375, 1977.
- PELZER, K.D., SPRECHER, D.J. Controlling BLV infection on dairy operations. **Veterinary Medicine**, p. 275-281, 1993.
- ROMERO, C.H., ROWE, C.A. Enzootic bovine leukosis virus in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 13, p. 107-111, 1981.
- ROMERO, C.H., ZANOCCHI, H. G., AGUIAR, A.A., *et al.* Experimental transmission of enzootic bovine leucosis virus with blood and milk in the tropics. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2, p. 9-15, 1982.
- ROMERO, C.H., CRUZ, G.B., ROWE, C.A. Transmission of bovine leukemia virus through milk ingestion. **Revista Microbiologica**, v. 14, n. 2, p. 109-114, 1983.
- RUPPANNER, R., BEHYMER, D.E., PAUL, S., *et al.* A strategy for control of bovine leukemia virus infection: test and corrective management. **Canadian Veterinary Journal**, v. 24, p. 192-195, 1983.
- SHETTIGARA, P.T., SAMAGH, B.S., LOBINOWICH, E.M. Eradication of bovine leukemia virus infection in commercial dairy herds using the agar gel immunodiffusion test. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 50, p. 221-226, 1986.
- STRAUB, O.C. Enzootic Bovine Leukosis. In: Gibbs, E.P.J. (Ed.). **Virus Diseases of Food Animals**. V. II. London: Academic Press, 1981. Cap. 28, p. 683-718.

**Ciência Rural, v. 27, n. 4, 1997.**