

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ANIMAIS PERSISTENTEMENTE INFECTADOS PELO VÍRUS DA DIARRÉIA
VIRAL BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS NÃO VACINADOS, CRIADOS
EM REGIME SEMI-INTENSIVO: FREQUÊNCIA, FATORES DE RISCO E
GEORREFERENCIAMENTO DE FOCOS**

Glenda Lima de Barros

São Luis-MA

2014

GLENDALIMA DE BARROS

**ANIMAIS PERSISTENTEMENTE INFECTADOS PELO VÍRUS DA DIARRÉIA
VIRAL BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS NÃO VACINADOS, CRIADOS
EM REGIME SEMI-INTENSIVO: FREQUÊNCIA, FATORES DE RISCO E
GEORREFERENCIAMENTO DE FOCOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção de grau de mestre em Ciência
Animal.

Área de Concentração: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Hélder de Moraes Pereira

São Luis-MA

2014

Barros, Glenda Lima de.

Animais persistentes infectados pelos vírus da diarreia viral bovina em rebanhos leiteiros não vacinados criados em regime semi-intensivo: frequência, fatores de risco e georreferenciamento de focos / Glenda Lima de Barros.– São Luís, 2014.

88 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2014.

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 28 / 03 / 2014, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

Prof. Dr. Fábio Henrique Evangelista de Andrade

Prof. Dr. Hélder de Moraes Pereira

Orientador

Este trabalho é dedicado às pessoas que sempre estiveram ao meu lado pelos caminhos da vida, me acompanhando, apoiando e acreditando em mim: Meus pais Raymundo e Marluce, minha avó Leopoldina e minha irmã Glauce.

Dedico também a uma pessoa muito especial em minha vida, Wagner Vicente, pois sei que sempre poderei contar com ele em todas as etapas de minha vida.

Vocês são muito especiais para mim. Amo muito todos vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, por me manter na fé e crê que posso a cada dia superar meus limites.

Ao meu pai Raymundo Barros, minha mãe Marluce Barros, minha avó Leopoldina Lima e irmã Glauce Barros pelo incentivo, compreensão e vibração com cada vitória conquistada em minha vida.

À Wagner Vicente, pela compreensão, companheirismo, conselhos, dedicação e amor a mim dedicado.

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pela oportunidade de realização desta pós-graduação.

Ao meu Orientador Professor DSc. Hélder de Moraes Pereira, pela oportunidade e confiança depositada em mim para desenvolver este projeto, além da amizade construída.

Ao Professor DSc. Hamilton Pereira Santos pelo incentivo e confiança na pós graduação, além do carinho, amizade e respeito desde a época da graduação.

A todos os professores do Curso de Mestrado em Ciência Animal, por terem contribuído para minha formação.

Aos amigos Nancyleni Chaves e Danilo Bezerra pela ajuda, troca de ideias e incentivos durante toda a pós graduação.

A Mayra Oliveira e Gabriel Xavier por terem contribuído diretamente para a realização desta pesquisa.

Aos amigos do Grupo de Estudos e Pesquisa com Ruminantes Domésticos Priscila, Rafael, Emerson, Jéssica, Beatriz, Pablo, Natália, Carol, Diego, Daniela, Adriana, Robert, Pedro e Walter que fizeram com que as horas dedicadas ao laboratório fossem mais divertidas e menos cansativas.

As minhas colegas de mestrado, “turma das meninas”, agradeço pelos momentos de descontração frente às angústias vividas durante o curso.

A secretária Francisca (“Fran”) pelo empenho, amizade, dedicação e carinho.

À bibliotecária Soraya Menezes pela amizade e pelo “socorro” prestado sempre que precisei dos serviços da biblioteca.

Muito Obrigada!

Seja Você Mesmo

*Dê sempre o melhor...
E o melhor virá.
Às vezes as pessoas são egocêntricas,
Ilógicas e insensatas...
Perdoe-as assim mesmo.
Se você é gentil, as pessoas podem
Acusá-lo de egoísta e interesseiro...
Seja gentil assim mesmo.
Se você é um vencedor, terá alguns
Falsos amigos e alguns inimigos verdadeiros...
Vença assim mesmo.
Se você é honesto e franco,
As pessoas podem enganá-lo...
Seja honesto e franco assim mesmo.
O que você levou anos para construir,
Alguém pode destruir de uma hora para outra...
Construa assim mesmo.
Se você tem paz e é feliz,
As pessoas podem sentir inveja...
Seja feliz assim mesmo.
O bem que você faz hoje
Pode ser esquecido amanhã...
Faça o bem assim mesmo.
Dê ao mundo o melhor de você,
Mas isso pode nunca ser o bastante...
Dê o melhor assim mesmo.
E veja você que, no final das contas,
É entre você e Deus...
NUNCA SERA ENTRE VOCÊ E ELES!*

- Madre Tereza de Calcutá -

RESUMO

BARROS, G.L. **Animais persistentemente infectados pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina em rebanhos leiteiros não vacinados, criados em regime semi-intensivo: Frequência, Fatores de Risco e Georreferenciamento de Focos.** [Animals persistently infected with bovine viral diarrhea virus in dairy herds not vaccinated, raised in semi-intensive system: Frequency, Risk Factors and Georeferencing Spotlights]. 2014. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2014.

A Diarréia Viral Bovina (BVD) é uma das principais doenças infecciosas dos bovinos. Os animais persistentemente infectados (PI) pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) possuem grande importância na epidemiologia da doença, devido à eliminação de altos títulos virais em todas suas secreções e excreções, servindo assim como reservatórios do vírus, sendo constante fonte de infecção para animais susceptíveis. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo identificar os animais persistentemente infectados no rebanho bovino leiteiro não vacinado, criado em regime semi-intensivo no Estado do Maranhão. Trabalhou-se com 92 rebanhos leiteiros, pertencentes a 23 municípios localizados nas regionais de Açailândia, Bacabal, Ilha de São Luís, Imperatriz e Pedreiras. Foram amostradas 920 fêmeas leiteiras estratificadas segundo a faixa etária (< 3 anos, entre 3 a 7 anos e > 7anos). As amostras de soro foram submetidas às provas de AcELISA e AgELISA, para a identificação dos animais PI e em cada propriedade avaliada, aplicou-se um questionário epidemiológico para investigar fatores que poderiam estar associados à infecção persistente. Do total de amostras testadas, 0,86% (8/920) apresentaram resultado positivo para AgELISA e negativo para AcELISA, sendo por isso classificadas como animais persistentemente infectados. Apenas as regionais de Imperatriz e Bacabal apresentaram animais PI, com frequência de 2,14% (6/280) e 1% (2/200), respectivamente. Dos 23 municípios amostrados, 12(52,17%) apresentaram animais PI, com 17,39% (16/92) dos rebanhos como pelo menos um animal virêmico. A maior frequência (1,08% - 3/276) de animais PI foi observada na categoria de animais com idade inferior a três anos e a menor (0,72% - 2/276) em fêmeas com idade acima de sete anos. Dentre as variáveis consideradas fatores de risco, o contato com fômites e animais de rebanhos vizinhos apresentaram significância estatística ($P < 0,05$) associada à presença de animais PI. O estudo espacial demonstrou que a infecção pelo BVDV encontra-se amplamente distribuída nas bacias leiteiras do estado do Maranhão. Estes resultados demonstram a expressiva disseminação do BVDV nas regionais estudadas, caracterizada pela identificação de animais PI.

Palavras – chave: Epidemiologia, viremia, BVDV, ELISA, pestivírus.

ABSTRACT

BARROS, G.L. **Animals persistently infected with bovine viral diarrhea virus in dairy herds not vaccinated, raised in semi-intensive system: Frequency, Risk Factors and Georeferencing Spotlights.** [Animais persistentemente infectados pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina em rebanhos leiteiros não vacinados, criados em regime semi-intensivo: Frequência, Fatores de Risco e Georreferenciamento de Focos]. 2014. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2014.

The Bovine Viral Diarrhea (BVD) is a major infectious disease of cattle. Persistently infected (PI) animals by bovine virus diarrhea virus (BVDV) have great importance in the epidemiology of the disease, due to the elimination of high virus titers in all their secretions and excretions, serving as reservoirs of the virus, and constant source of infection for susceptible animals. In this way, the research aimed to identify persistently infected animals in dairy cattle not vaccinated, raised in semi-intensive system in the state of Maranhão. The study was realized in 92 dairy herds, belonging to 23 districts located in the regions of Açailândia, Bacabal, Ilha de São Luis, Imperatriz and Pedreiras. 920 dairy females stratified according to age band (< 3 years, between 3-7 years and > 7 years) were sampled. Serum samples were analysed through the AcELISA and AgELISA techniques for the identification of PI animals and it was applied an epidemiological questionnaire during the sample collect to research the factors that could be associated to persistent infection. From the 920 serum analysed samples, 0.86% (8/920) were positive to AgELISA e not reagent for AcELISA, thus classified as persistently infected animals. Only the regions of Imperatriz and Bacabal had PI animals, they obtained frequency of 2.14% (6/280) and 1% (2/200), respectively. In the 23 studied 12 (52.17%) had PI animals, with 17.39% (16/92) of the herds as at least one animal with viremia. The highest frequency (1.08% - 3/276) of PI animals was observed in the category of animals under the age of three years and the lowest (0.72% - 2/276) in females over the age of seven years. Among the variables considered risk factors, contact with fomites and animals from neighboring herds were statistically significant ($P < 0.05$) associated with the presence of PI animals. The spatial study demonstrated that BVDV infection is widely distributed in the dairy regions of the state of Maranhão. These results demonstrate the significant spread of BVDV in the study regional characterized by the identification of animals PI.

Key-words: Epidemiology, viremia, BVDV, ELISA, pestivirus

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	19
	2.1. Objetivo Geral.....	19
	2.2. Objetivos Específicos.....	19
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
	3.1. Etiologia.....	21
	3.2. Epidemiologia.....	24
	3.3 BVDV no Brasil.....	28
	3.4. Patogenia e sinais clínicos.....	30
	3.4.1. Infecções pós-natais.....	31
	3.4.2. Infecção fetal.....	32
	3.4.3. Doença das Mucosas (DM).....	35
	3.5. Diagnóstico.....	37
	3.6. Diagnóstico diferencial.....	38
	3.7. Controle e profilaxia.....	39
4.	MATERIAIS E MÉTODO.....	44
	4.1. Região.....	44
	4.2. Rebanhos.....	44
	4.3. Coleta das amostras.....	45
	4.4. Análises sorológicas das amostras.....	47
	4.5. Fatores de risco.....	49
	4.6. Georeferenciamento de focos.....	50
	4.7. Planejamento estatístico.....	50
5.	RESULTADOS.....	52
6.	DISCUSSÃO.....	61
7.	CONCLUSÃO.....	69
	REFERÊNCIAS.....	71
	ANEXOS.....	83
	APÊNDICES.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Distribuição das propriedades e amostras de acordo com as regionais.....	46
Tabela 2.	Frequência do Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras de 23 municípios pertencentes a 05 regionais da Bacia Leiteira do Estado do Maranhão.....	54
Tabela 3.	Fatores de risco associados à presença de animais PI em rebanhos da bacia leiteira do Estado do Maranhão.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Representação esquemática do vírus da Diarreia Viral Bovina.....	22
Figura 2.	Esquema estrutural do genoma do BVDV. Representação das regiões codificantes para as proteínas estruturais e não estruturais do vírus, e demonstração de como pode ocorrer a alteração do biótipo não-citopático para citopático.....	24
Figura 3.	Consequências da infecção de fêmeas prenhes pelo BVDV, de acordo com o biótipo do vírus e o tempo de gestação.....	34
Figura 4.	Placas e reagentes incluídos no kit AgELISA utilizado.....	48
Figura 5.	Frequência do Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas na bacia leiteira do estado do Maranhão.....	52
Figura 6.	Frequência do Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras nas regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Bacabal, Pedreiras e Açailândia.....	53
Figura 7.	Frequência de rebanhos com fêmeas bovinas leiteiras viremicas ao BVDV.....	55
Figura 8.	Frequência de fêmeas bovinas positivas para o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) de acordo com a faixa etária na bacia leiteira do Estado do Maranhão.....	56
Figura 9.	Georreferenciamento de focos da infecção de animais PI, TI e não virêmicos nas regionais das bacias leiteiras do Estado do Maranhão, 2014.....	58

LISTA DE APÊNDICES E ANEXOS

Anexo I.	Países em que se encontram documentadas infecções pelo vírus da Diarreia Bovina Viral.....	83
Anexo II.	Mapa das Unidades Regionais de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão.....	84
Apêndice A.	Ficha Cadastral da Propriedade.....	86
Apêndice B.	Questionário Epidemiológico.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS

AgELISA	ELISA para detecção de antígenos
AGED	Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão
BVD	Diarréia Viral Bovina
BVDV	Vírus da Diarréia Viral Bovina
CP	Efeito citopático
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
IA	Inseminação Artificial
MN	Monta Natura
NCP	Efeito não citopático
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
OR	<i>Odds Ratio</i>
PI	Animais Persistentemente Infectados
RNA	Ácido Ribonucleioco
TI	Animais transitoriamente Infectados

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A atividade leiteira tem um importante papel na sustentabilidade das propriedades agrícolas, tanto no autoconsumo, como na geração de renda. O Estado do Maranhão apresenta grande potencial para o desenvolvimento da pecuária leiteira moderna. Dos estados que compõem a Região Nordeste, o Maranhão, está menos exposto a fatores como, instabilidades climáticas periódicas existentes o que permite uma programação a médio prazo, capaz de definir um efetivo de rebanho, compatível com as potencialidades de produção da região.

É oportuno afirmar que os ganhos de produtividade estão relacionados, basicamente, ao uso de tecnologias capazes de melhorar a eficiência dos fatores de produção, principalmente genética, alimentação e sanidade dos animais. No que se refere à sanidade do gado leiteiro no Estado do Maranhão avanços consideráveis ainda são esperados, principalmente ao que se refere às doenças infecciosas, como a Diarréia Viral Bovina.

O vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) tem distribuição mundial sendo responsável por perdas econômicas, produtivas e reprodutivas em rebanhos bovinos. O agente etiológico é um RNA vírus da família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*, espécies BVDV-1 e BVDV-2 (ICTV, 2000). O BVDV é classificado em biotipos citopatogênico, ou seja, vírus capazes de se replicar em células causando efeito citopático e não citopatogênico, que também replicam-se em células mas são incapazes de causar efeito citopático (FRAY et al., 2000; VOGEL et al., 2001).

A Diarréia Viral Bovina (BVD) é caracterizada, principalmente, por alterações no sistema reprodutivo dos bovinos (BROWNLIE, 1990), ocasionando importantes perdas econômicas à bovinocultura (GOENS, 2002). Porém, esses prejuízos são difíceis de serem quantificados, devido aos poucos sinais clínicos que são apresentados pela enfermidade na maioria das infecções (SANDVIK, 2004). As maiores perdas resultam da infecção de fêmeas prenhes, podendo ocorrer reabsorção embrionária, abortamentos,

mumificações, natimortalidade, malformações fetais, nascimento de bezerros fracos e persistentemente infectados (PI) (DIAS & SAMARA, 2003).

Os animais PIs são imunotolerantes já que o sistema imunológico não responde ao BVDV, o mesmo continua a multiplicar-se, infectando tecidos do animal, sendo excretado ao longo da sua vida (HOUE, 1999). Estes animais são os que possuem maior importância na epidemiologia da enfermidade, devido à eliminação de grande quantidade de vírus, servindo como reservatórios do vírus, sendo constante fonte de infecção para animais não imunes (PETERS et al., 1987; HOUE, 1999).

A prevalência dos animais PI é baixa nos rebanhos, geralmente em torno de 0,5% a 2%, e os aspectos clínicos são insuficientes para a identificação desses animais. Desta forma, foram desenvolvidas estratégias para o diagnóstico dos rebanhos infectados com o BVDV (HOUE 1992, HOUE, 1994, PILLARS & GROOMS, 2002). A pesquisa sorológica pode ser utilizada para determinar a existência ou não de bovinos PI nos rebanhos, pois a presença de um bovino reagente num rebanho não vacinado é uma evidência suficiente que caracteriza a exposição da população ao BVDV (SMITH & GROTELUESCHEN, 2004).

A repercussão econômica e sanitária da BVD é significativa pela ampla distribuição e alta prevalência nos rebanhos. Estudos recentes têm demonstrado que essa infecção está amplamente difundida no rebanho bovino brasileiro. Chaves (2009) deu início ao estudo desta enfermidade no estado do Maranhão, onde encontrou a soroprevalência de 65,65% de animais não vacinados reagentes ao BVDV.

Os animais persistentemente infectados (PI) representam o ponto-chave da epidemiologia da infecção pela sua importância na perpetuação e disseminação do vírus e por isso constituem-se alvo principal de medidas de combate do agente. Desta forma, surge a necessidade da identificação e eliminação destes animais nos rebanhos maranhenses, uma vez que a existência de animais com anticorpos contra o BVDV em animais não

vacinados sugere que a forma de introdução do vírus nos rebanhos aconteça por intermédio de animais virêmicos.

O objetivo principal deste trabalho é identificar os animais persistentemente infectados (PI) no rebanho bovino leiteiro não vacinado, criado em regime semi-intensivo no Estado do Maranhão. Aliado a isto, busca-se estimar a frequência de animais persistentemente infectados (PI) no estado do Maranhão; identificar a faixa etária de ocorrência para animais persistentemente infectados pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina no Estado do Maranhão; avaliar possíveis fatores de risco associados à ocorrência de animais PI pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina Estado do Maranhão e georreferenciar focos de animais persistentemente infectados pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina no Estado do Maranhão.

OBJETIVOS

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Identificar os animais persistentemente infectados (PI) no rebanho bovino leiteiro não vacinado, criado em regime semi-intensivo no Estado do Maranhão.

2.2 Objetivos específicos

- Estimar a frequência de animais persistentemente infectados (PI) no estado do Maranhão;
- Identificar a faixa etária de ocorrência para animais persistentemente infectados pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina no Estado do Maranhão;
- Avaliar possíveis fatores de risco associados à ocorrência de animais PI pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina Estado do Maranhão;
- Georreferenciar focos de animais persistentemente infectados pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina no Estado do Maranhão.

REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Etiologia

O vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) pertence à família *Flaviridae*, gênero *Pestivirus*, que abriga outros dois vírus antígenicamente relacionados: o vírus da Peste Suína Clássica (CSFV) e o vírus da doença das fronteiras dos ovinos (border disease vírus - BVD) (FRANCKI et al., 1991; DEREGET & LOEWEN, 1995; FLORES et al, 2005). A sua caracterização por meio do uso de anticorpos monoclonais e análise do seu genoma comprovaram que os pestivírus não são espécie-específicos. Desta forma, o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e o BVD que infectam principalmente bovinos e ovinos, respectivamente, podem ocasionalmente infectar suínos, javalis e outros ruminantes domésticos e selvagens da ordem *Artiodactyla*. (EVERMANN, 2006; VILCEK & NETTLETON, 2006).

Os vírions do Vírus da Diarreia Viral Bovina são partículas esféricas, com aproximadamente 50nm de diâmetro, com um envelope lipídico fortemente aderente, que contém três glicoproteínas diferentes (Figura 1) (KREY et al., 2006; TSCHERNE et al, 2008). O genoma do BVDV é uma RNA de fita simples com aproximadamente 12,3Kb de comprimento (LACKNER et al.; 2005). Apresenta duas regiões não traduzidas (UTRs) nas extremidades 5' e 3' e uma fase de leitura aberta (ORF). A ORF codifica uma poliproteína de aproximadamente 4.000 aminoácidos, processada por proteases virais e celulares em 11 ou 12 proteínas estruturais e não-estruturais (DONIS, 1995). Dentre as proteínas estruturais estão o N terminal (N^{Pro}), a proteína do capsídeo (C) e as glicoproteínas do envelope (E^{ms}, E¹ e E²), já as proteínas não estruturais são: P⁷, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5B (LINDENBACH & RICE., 2001) (Figura 2).

Os RNA vírus são altamente mutáveis, e os que apresentam orientação positiva, como o BVDV, estão sujeitos a modificações genômicas que envolvem mutações pontuais ou recombinação do RNA viral (BOLIN & GROOMS, 2004). As mutações pontuais são extremamente comuns, uma vez

que as polimerases virais são incapazes de detectar ou reparar os erros ocorridos durante a replicação, como acontece nos vírus DNA (GOENS, 2002). Assim, na infecção pelo BVDV, o ciclo de replicação viral pode gerar novas variantes (mutantes) e o acúmulo de alterações genômicas pode gerar potencialmente novos tipos virais (subespécies) (THIEL et al., 1996; HAMERS et al., 2001; BOLIN & GROOMS, 2004; BACHOFEN et al., 2008; PETERHANS & SCHWEIZER, 2010). No caso do BVDV, a mutação não tende a criar novos genótipos, mas pode alterar o biótipo viral (BOLIN & GROOMS, 2004).

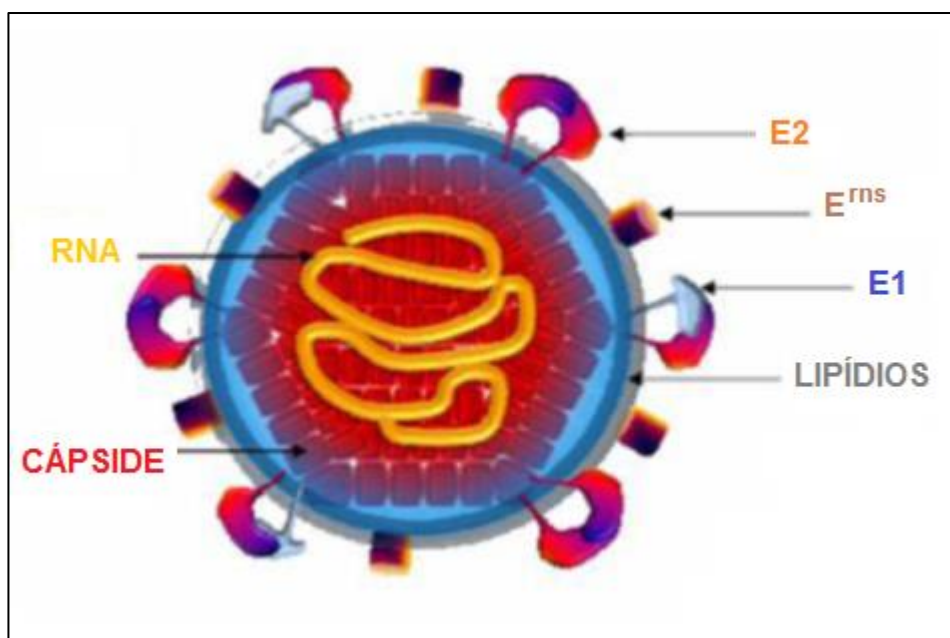


Figura 1. Representação esquemática do vírus da Diarreia Viral Bovina (FEVEREIRO, 2008).

A análise e comparações da sequência de bases derivadas das regiões 5'UTR, N^{Pro} e E2 permitiu a classificação filogenética das diferentes espécies, tipos e subtipos de pestivírus (GIANGASPERO et al., 2008; KADIR et al., 2008; HORNBERG et al., 2009). Dois grupos antigênicos principais já foram identificados: genótipo BVDV tipo 1 e genótipo BVDV tipo 2 (HOUE, 2003) cada um com vários subgenótipos (BOLIN & GROOMS, 2004). Atualmente, encontram-se identificados cerca de 15 subgenótipos do BVDV-1 (1a a 1o), e 4

subgenótipos do BVDV-2 (2a a 2d) (GIANGASPERO et al., 2008; XUE et al., 2008; HORNBERG et al., 2009). O BVDV-1 inclui isolados clássicos de virulência baixa ou moderada, além de cepas tradicionalmente usadas na pesquisa, enquanto o BVDV-2 inclui isolados de doenças severas isolados na América do Norte, cepas de baixa virulência e isolados previamente classificados como atípicos (HAMERS et al., 2002).

Independente do genótipo ao qual pertence e em função do efeito lítico que possam ocorrer em culturas de células, o BVDV pode ser classificado em 2 biótipos: citopátogênico (CP) e não-citopátogênico (NCP) (POTGIETER, 2004; BOLING & GROOMS, 2004). A replicação de estirpes NCP não induz alterações na morfologia e viabilidade celular, ao passo que a estirpe CP causam vacuolização e morte das células infectadas (BOLIN & GROOMS, 2004; LACKNER et al., 2005).

O biótipo NCP é mais comumente isolado na natureza, replicam em cultura de células sem causar nenhum efeito citopático nas células do hospedeiro (BAKER, 1987), e pode atravessar a placenta estabelecendo infecção persistente, sendo esta a sua característica biológica de maior importância epidemiológica (FRAY et al., 2000). Devido à característica de estabelecer uma infecção persistente, este biótipo é responsável pela circulação permanente do BVDV na população bovina, sendo considerado vírus reservatório (BROWNLIE, 1990; BOOTH et al., 1995; VILCEK & NETTLETON, 2006; PETERAHNS & SCHWEIZER, 2010). Por outro lado, o vírus CP constitui em uma minoria e isolado quase que exclusivamente de bovinos com a doença das mucosas (DM), uma forma clínica rara e fatal da infecção pelo BVDV (FLORES, 2003; BOLIN & GROOMS, 2004).

O vírus CP é gerado a partir do vírus NCP, devido ao fenômeno de mutação, deleção e rearranjos genéticos na proteína viral não estrutural NS2-3, do biótipo NCP, que resultam em expressão da proteína viral NS3 e NS2 (Figura 2) (FRAY et al., 2000; VOGEL et al., 2001; RIDPATH & FLORES, 2007). Tanto as estirpes NCP como as CP levam a expressão da NS2-3 em células infectadas. Porém, a expressão da NS3 só se verifica nas células

infectadas com estirpes CP (BECHER et al., 2002). Desta forma, essa afirmação sugere que esta proteína possa ser utilizada como marcador molecular na caracterização do BVDV (BOLIN & GROOMS, 2004; POTGIETER, 2004; RIDPATH & FLORES, 2007). A reversão do vírus CP para NCP também é possível. A estirpe NCP resultante geralmente perde a capacidade de expressar a NS3. Porém, foram identificados alguns vírus NCP quem mantêm a expressão de NS3, sem causar efeito citopático nas células infectadas (BOLIN & GROOMS, 2004).

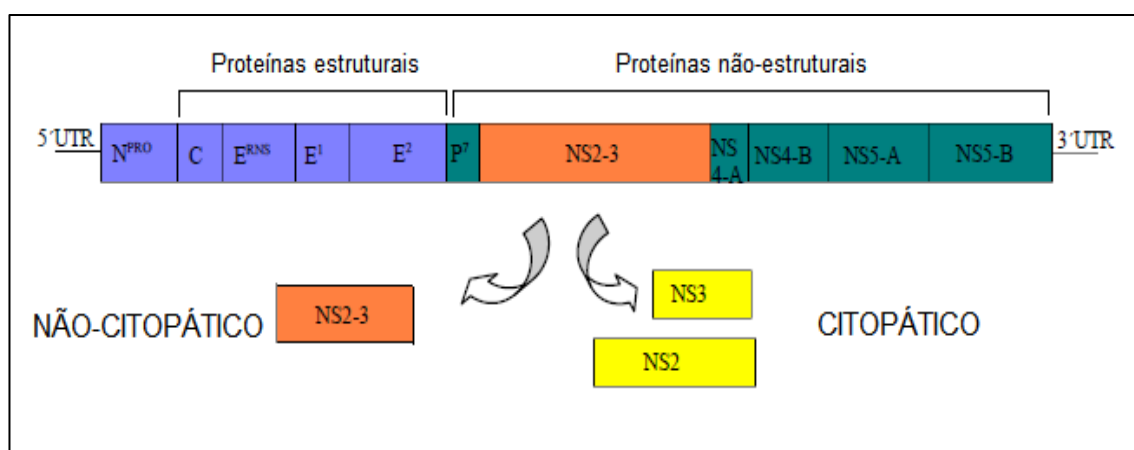


Figura 2. Esquema estrutural do genoma do BVDV. Representação das regiões codificantes para as proteínas estruturais e não estruturais do vírus, e demonstração de como pode ocorrer a alteração do biótipo não-citopático para citopático. Figura adaptada de Ridpath, Flores (2007).

3.2 Epidemiologia

A diarreia viral bovina é uma enfermidade predominantemente subclínica, resultado da grande adaptação do vírus ao seu hospedeiro. Os diversos tipos de vírus produzem uma ampla variedade de quadros clínicos que precisam ser confirmados laboratorialmente (HOUE, 1999; BOLIN & GROOMS, 2004; PETERHANS & SCHWEIZER, 2010).

Geralmente, os animais jovens são os mais suscetíveis, porém, bovinos adultos podem desenvolver doença severa se a infecção ocorrer com genótipos altamente virulentos. Animais não vacinados, vacinados de forma inadequada ou com baixo status imunológico são os mais suscetíveis à infecção e ao desenvolvimento da doença clínica. Porém, animais vacinados podem ser suscetíveis se o isolado de campo for diferente das cepas vacinais (RADOSTITS et al., 2007; FULTON et al., 2009).

O BVDV pode ser transmitido dos animais infectados para os susceptíveis por meio de várias vias, nas quais incluem a ingestão e a inalação de matéria contaminada com secreções oculares e nasais, saliva, urina ou fezes de animais infectados (HOUE, 1999; POTGIETER, 2004; LINDBERG & HOUE, 2005). Porém o vírus pode ser transmitido por insetos hematófagos, fômites, embriões, soro fetal bovino (TARRY et al., 1991; NISKANEN & LINDBERG, 2003; WRATHALL et al., 2006; STHAL et al., 2007; RIKULA et al., 2008).

O vírus pode ainda estar presente no sêmen de touros infectados, levando a sua transmissão através do coito, inseminação artificial e transferência de embriões (CARTER, 2004), isto acontece porque os exames andrológicos geralmente são ineficazes na detecção do BVDV (HOUE, 1999). As técnicas de reprodução assistida, se corretamente monitoradas, podem ser utilizadas na prevenção da disseminação desta enfermidade. Esta afirmação confirma a necessidade da realização de controle dos materiais usados tanto na coleta como na transferência de embriões. Cabe ainda lembrar a importância da avaliação dos fatores relacionados com os animais, como saúde da doadora, dos embriões e da receptora (GARD et al., 2007).

Os animais persistentemente infectados (PI) representam a principal fonte de transmissão do vírus, uma vez que liberam continuamente, durante toda a sua vida, elevadas quantidades destes para o ambiente (HOUE, 1999; LINDBERG & HOUE, 2005; POTGIETER, 2004). Eles apresentam vírus no sangue, soro, leite, urina, fluidos fetais, sêmen, secreções orais, nasais, genitais e oculares (LINDBERG & ALENIUS, 1999; SALIKI & DUBOVI, 2004;

ARENARTH et al, 2009). Os títulos virais em animais PI podem atingir a 10^6 TCID₅₀/mL no soro e no muco vaginal, 10^5 no fluido uterino e 10^4 na urina e fezes (BROCK et al., 1991). Os animais com infecções primárias (agudas) pós-natais são apenas transitoriamente infectados (TI) (POTGIETER, 2004). Estes animais excretam o vírus em quantidade inferior em relação aos PI, e apenas durante alguns dias (HOUE, 1999).

A existência de animais PI que podem permanecer indetectáveis, devido à excreção viral intermitente ou em baixos níveis, também tem sido relatada (BARBER et al., 1985; VOGES et al., 1998). Em especial, a excreção viral intermitente por alguns animais PI tem merecido atenção, pois pode dificultar a sua detecção e, conseqüentemente, a aplicação de medidas de controle (BROCK et al., 1998; THURMOND, 2005).

Desta forma, os animais PI apresentam maior importância para a epidemiologia da BVD que os animais TI (HOUE et al, 2005). Em condições naturais, o contato direto ou indireto com animais PI é o modo mais eficiente de transmissão do vírus, pois excretam o vírus continuamente e em altos títulos nas secreções, o que assegura uma transmissão mais eficiente (BROCK et al., 1991; HOUE, 1995). O contato direto com animais TI também pode resultar na transmissão do vírus, porém de forma menos eficiente (HOUE, 1999). Embora a transmissão direta pareça ser mais frequente, os altos títulos presentes nas secreções podem também assegurar transmissão indireta (BROCK et al., 1991, HOUE, 1995).

Apesar de existirem alguns relatos que sugerem que o vírus pode persistir em manadas sem animais PI (MOEN et al., 2005), a disseminação do vírus praticamente para quando estes são removidos, o que torna possível a erradicação do BVDV do rebanho sem que seja necessário adotar medidas especiais para verificar e os animais com infecção transitória ainda estão a propagar o vírus (LINDBERG & HOUE, 2005). Ainda segundo os autores, é possível verificar que nenhum animal nascido após a remoção do último animal PI apresenta anticorpos contra o BVDV.

A disseminação do BVDV entre rebanhos, na maioria das vezes, ocorre pela aquisição de animais PI ou que estejam prenhes de fetos PI (HOUE, 1999; THURMOND, 2005). O contato com animais de outras manadas, como o pastoreio a curta distância, as fugas, feiras e exposições de gado também pode revelar-se importante na transmissão do BVDV (HOUE, 1999).

Os hospedeiros silvestres/selvagens do vírus da Diarréia Viral Bovina poderão agir como reservatórios do vírus, podendo ser responsáveis pela re-introdução do BVDV em rebanhos em que este foi erradicado (PASSLER et al., 2007). A transmissão inter-espécie é, teoricamente, possível em áreas onde ungulados selvagens partilham pastos e épocas de reprodução com bovinos domésticos. Desta forma, considera-se que a presença de hospedeiros selvagens do BVDV pode impossibilitar a erradicação da Diarreia Viral Bovina (LINDBERG & HOUE, 2005).

Afirmando a importância epidemiológica do animal PI, Arenhart e colaboradores (2009) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a dinâmica de transmissão do vírus a partir destes animais. Para tanto, introduziram um único animal persistentemente infectado em grupos de bovinos mantidos sob diferentes densidades e condições de manejo. Os autores observaram que o grupo mantido sob alta densidade e submetido a arração e manejo diário em um curral para simular condições de manejo de pequenas propriedades, o vírus foi transmitido com grande rapidez. Após 30 dias de convívio, todos os animais em contato já apresentavam anticorpos contra BVDV. No rebanho mantido sob condições extensivas de manejo e baixa densidade animal, simulando condições de pecuária extensiva, a transmissão do vírus foi mais lenta e gradativa. Porém, após 100 dias de monitoramento, 77% dos animais já haviam soroconvertido ao BVDV.

A transmissão para animais imunocompetentes causa viremia breve e uma imunossupressão transitória que pode predispor o hospedeiro a infecções secundárias por outros patógenos. Quanto à soroconversão, o BVDV induz uma resposta humoral prolongada e protetora. Por este motivo a infecção transitória causada por este vírus pode ser auto-limitante em rebanhos, desde

que esses não possuam fêmeas não imunes, prenhes, por outro lado, se existirem vírus e fêmeas prenhes suscetíveis, a infecção persistente pode se estabelecer (LINDBERG & HOUE, 2005).

3.3 BVDV no Brasil

O BVDV apresenta distribuição mundial com caráter endêmico em muitos países (Anexo 1) onde geralmente, ocasiona importantes perdas econômicas à bovinocultura (GOENS, 2002; LINDBERG & HOUE, 2005). Infecções nos rebanhos são comuns, onde se encontra altas taxas de soropositividade nos bovinos com idade superior a três anos (VOGEL et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003; NORONHA et al., 2003, BACHOFEN et al., 2008). Os bovinos se mostram como o principal reservatório e fonte de infecção do BVDV, tanto para animais desta espécie como para ovinos, caprinos e suínos (GOYAL et al., 2002).

A prevalência de anticorpos para BVDV nos bovinos varia entre países e pode variar entre regiões geográficas dentro do mesmo país (KAHN, 2007), apresentando variação média de 60% a 90% nos diferentes países (BROWNLIE, 1990). Sendo assim, fatores ambientais como a densidade populacional, aptidão produtiva do gado, tipo de exploração e as práticas de biossegurança influenciam a prevalência em determinadas populações de animais (HOUE, 1999).

No Brasil, vários relatos clínicos e sorológicos demonstram a presença da infecção desde o final dos anos 60. O primeiro isolamento do vírus no país, a partir do soro de um bezerro, foi realizado em 1974 no Rio Grande do Sul (VIDOR, 1974). Desde então, vários estudos soropidemiológicos têm demonstrado que a infecção está amplamente difundida no rebanho bovino brasileiro, como será relatado logo abaixo.

No Goiás, um estudo objetivou estimar a prevalência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em animais não vacinados e determinar os potenciais fatores de risco para a infecção em rebanhos bovinos

no estado. A soroprevalência foi de 64,0% em 784 amostras de soro e de 88,3% nas propriedades. Em relação aos fatores de risco, apenas a idade mostrou-se associada à soropositividade nos animais; nas propriedades, nenhuma das variáveis analisadas foi considerada como fator de risco (BRITO et al., 2010).

No Rio Grande do Sul, avaliou-se a frequência da BVD em rebanhos bovinos dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí. Das 1.734 amostras de soro analisadas, 1.150 (66,32%) foram positivas com a detecção de bovinos sorologicamente reagentes ao BVDV em 70 (82,35%) propriedades (QUINCOZES, 2007).

Amostras de soro sanguíneo e leite individual de 376 vacas lactantes, não vacinadas, provenientes de 10 propriedades localizadas nas regiões Sul do Estado de Minas Gerais e Nordeste do Estado de São Paulo foram utilizadas para pesquisar anticorpos contra o BVDV com o auxílio do teste de ELISA indireto. Como resultados do estudo, em todas as propriedades foram encontrados vacas reagentes no soro sanguíneo, cuja frequência variou de 12,28 a 100%, num total de 215 animais reagentes (57,18%). A análise do leite individual, não revelou animais reagentes em 2 propriedades, e nas demais a frequência variou de 5,26 à 70,83%, num total de 98 animais reagentes (26,07%) (DIAS & SAMARA, 2003).

Foram estudadas 102 amostras de soros bovinos, provenientes do Estado do Sergipe, através da soroneutralização de *screening*, encontrando-se uma prevalência entre 58,23% e 71,18% (MELO et al., 1997).

Chaves (2009) pesquisou situação epidemiológica da infecção pelo BVDV nos rebanhos bovinos de aptidão leiteira das regionais de Bacabal e Pedreiras e encontrou 69,44% (n=250) das amostras analisadas com anticorpos anti-BVDV e das 36 propriedades amostradas, 91,66% (n=33) apresentaram pelo menos um animal reagente.

Um estudo como objetivo determinar a frequência e os fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras na região amazônica maranhense, usando a técnica de ELISA

indireta e questionário epidemiológico para investigar os fatores de risco associados à infecção pelo vírus, apresentou 61,5% animais reagentes pertencentes a 95% das propriedades estudadas. O trabalho concluiu que os fatores de risco associados a infecção pelo vírus no estudo foram a produção de leite (1-5L), ausência de assistência veterinária, uso de monta natural ou monta associada à inseminação artificial (CHAVES et al., 2010).

A prevalência dos bovinos Permanentemente Infectados (PI) mostra-se compreendida entre 0,5% e 2% da população bovina. Um único animal PI pode infectar mais de 90% do rebanho antes de atingir os 3-4 meses de idade (HOUE, 1999).

Oliveira e colaboradores (1996) realizaram o primeiro estudo sobre animais PI no Brasil, onde realizaram triagem em rebanhos com problemas reprodutivos no RS buscando animais PI. Ao finalizar os estudos, detectaram 1,2% (12/1240) de amostras positivas (leucócitos, soro) para o vírus. Posteriormente, Botton e colaboradores (1998) examinaram amostras de soro de 1396 fetos coletados em matadouros, detectando anticorpos em 19 (1,36%) e vírus em 11 (0,75%).

Uma pesquisa de animais persistentemente infectados (PI) pelo vírus da diarréia viral bovina foi realizada em bezerros entre 6 e 12 meses de idade pertencentes a 26 rebanhos bovinos, não vacinados contra o BVDV, localizados nos Estados de Minas Gerais e São Paulo. Dos rebanhos estudados, foram detectados dois animais PI a partir de amostras provenientes de um rebanho localizado no Estado de Minas Gerais (DIAS et al., 2010).

No estado do Goiás, um estudo estimou a frequência de animais persistentemente infectados (PI) em amostras de soro de 3.533 animais pertencentes a 888 rebanhos localizados em 232 municípios do estado. A presença do antígeno viral foi detectada em quatro (0,42%) das amostras analisadas (BRITO et al., 2010).

3.4 Patogenia e sinais clínicos

A patogenia depende da correlação de inúmeros fatores. Os fatores do hospedeiro que podem influenciar no estado clínico da infecção pelo BVDV são: hospedeiro imunocompetente e imunotolerante ao vírus, idade, infecção transplacentária e idade gestacional do feto, indução de tolerância imune no feto e o surgimento de competência imunofetal, aproximadamente em 180 dias de gestação e presença de fatores estressantes (RADOSTITS *et al.*, 2002). Além disso, a diversidade genética, a variação antigênica e as diferenças de virulência entre as estirpes virais podem causar variações da resposta clínica à infecção (RIDPATH & FLORES, 2007). Tradicionalmente, as manifestações da infecção são apresentadas em três categorias: infecção pós-natal ou BVD, infecção fetal e doença das mucosas (DM) (BIELEFELDT-OHMANN, 1995; POTGIETER, 2004).

3.4.1 Infecções pós-natais

Considera-se que 70 a 90% das infecções pelo BVDV em animais imunocompetentes e soronegativos não apresentem sinais clínicos (BOLIN & GROOMS, 2004). A maioria das infecções mostram-se subclínicas provocando apenas febre ligeira, que passa por despercebida, leucopenia e desenvolvimento de anticorpos soroneutralizantes. Estas infecções são responsáveis pelos títulos de soroneutralização positiva para BVDV encontrados nos bovinos não vacinados (GROOMS *et al.*, 2006). Ocasionalmente, estirpes de maior patogenicidade podem provocar doença clínica transitória caracterizada por um curto período febril, acompanhada por hipersalivação, descarga nasal, tosse e diarreia ligeira, inapetência, depressão, leucopenia transitória com recuperação do animal em poucos dias (FLORES, 2003)

As amostras de BVDV- 2 têm sido associadas à BVD aguda, doença respiratória severa e à síndrome hemorrágica que cursa com trombocitopenia. Esta síndrome ocorre geralmente em bovinos com idades entre 6 a 24 meses (EVERMANN & BARRINGTON, 2005; GROOMS *et al.*, 2006), sendo esta idade fator de risco em bovinos que são soronegativos, isto é, a imunidade

passiva diminui porém a ativa ainda não foi adquirida (GROOMS et al., 2006). O período de incubação varia entre 5 a 7 dias, apresentando corrimentos nasal e ocular, erosões e ulcerações orais, diarreia e redução na produção de leite (EVERMANN & BARRINGTON, 2005; GONDIN, 2006). É possível ainda encontrar erosões no espaço interdigital, bordo coronário, tetos e vulva (EVERMANN & BARRINGTON, 2005). A viremia pode durar até 15 dias, período que o vírus é eliminado em pequenas quantidades (GROOMS et al., 2006). Na maioria dos casos são autolimitantes e apresentam alta morbidade com mortalidade baixa ou inexistente (HAMERS et al., 2001; FLORES & SHUCH, 2007).

Infecções neonatais pelo BVDV podem resultar em enterites ou pneumonias (RADOSTITS et al., 2000; EVERMANN & BARRINGTON, 2005). , porém esta situação só é possível caso haja falhas na transferência passiva (GROOMS et al., 2006). Fêmeas imunocompetentes fornecem imunidade colostrálica às suas crias, protegendo-as contra a viremia nos primeiros 2-4 meses de vida, dependendo da qualidade e quantidade de colostro consumido, a partir dos quais os níveis de anticorpos diminuem, deixando de proteger os bezerros contra a infecção (RADOSTITS et al., 2000; EVERMANN & BARRINGTON, 2005 ; THURMOND, 2005).

A forma hiperaguda da BVD apresenta alta morbidade e alta mortalidade em todas as categorias dos bovinos, tendo como agente etiológico a estirpe BVDV-2 NCP (EVERMANN & BARRINGTON, 2005; GROOMS et al., 2006). Os surtos de infecção hiperaguda apresenta altas taxas de abortamento (EVERMANN & BARRINGTON , 2005; GROOMS et al., 2006).

3.4.2 Infecção fetal

As maiores perdas econômicas da DVB são causadas por infecções intrauterinas que causam problemas reprodutivos (GROOMS et al., 2006). O vírus pode ser transmitido por monta natural ou por inseminação artificial (RADOSTISTS et al., 2000), podendo ocasionar falhas na fertilização, reabsorção embrionária (seguido de retorno ao estro em intervalos regulares ou irregulares), abortamentos, mumificação fetal, natimortos, nascimentos de

animais fracos e inviáveis que morrem logo ou têm crescimento lento ou nascimento de animais PI (RADOSTITS et al., 2000; FLORES, 2003; GROOMS et al., 2006). Estas consequências da infecção do conceito são dependentes do estágio de gestação em que ocorre a infecção, do desenvolvimento da imunocompetência fetal, do biótipo (CP/NCP) e da cepa viral (Figura 3) (RIDPATH & FLORES, 2007).

Infecções ocorridas 4 dias após a inseminação provocam viremia entre 8 a 17 dias e as taxas de concepção e de gestação diminuem (FLORES et al, 2005). A infecção pode dificultar a fixação do embrião ao útero, porém se ocorrer a fixação, pode levar à morte embrionária e perda precoce da gestação, sendo o embrião reabsorvido.(FLORES, 2003), e o retorno ao cio corre 20 dias após a inseminação (RADOSTITS et al., 2002).

Infecções entre 40 e 125 dias de gestação podem resultar em abortamento, reabsorção embrionária, atraso no crescimento fetal, morte fetal, defeitos congênitos, até à infecção persistente do feto e nascimento de animais PI, sendo esta a característica de maior importância epidemiológica (GROOMS et al., 2006) . Os fetos que resistirem a infecção neste período se tornam inumotolerantes ao vírus, permanecendo portadores por toda a vida e não apresentando anticorpos contra mesmo genótipo do vírus responsável pela formação do PI (FLORES, 2003). A morte fetal pode ocorrer em qualquer período da gestação, porém são mais comuns no terço inicial da gestação (GROOMS, 2004), já o abortamento pode ocorrer em dias ou meses após a infecção (FLORES et al., 2007), o que permite associar eventos de abortamento em qualquer fase de gestação ao BVDV (DUBOVI, 1994; KRAMPS et al., 1999; RIDPATH & FLORES, 2007).

Caso a infecção aconteça entre os 100 e 150 dias de gestação é comum ocorrência malformações fetais (FLORES & SHUCH, 2007), período que o feto estará em fase final de organogênese e do sistema imune. Defeitos congênitos comuns são perturbações no sistema nervoso central (hipoplasia cerebelar, hidrocefalia e hipomielinogênese), defeitos oculares (atrofia e displasia da retina, catarata, microftalmia), hipoplasia tímica, retardo no

crescimento, hipoplasia pulmonar, alopecia, hipotricose, bragnatismo, artrogripose e outras anormalidades esqueléticas (BROWN et al., 1973).

Cerca de 150-180 dias após a gestação o feto está apto a desenvolver uma resposta imunológica eficaz, sendo capaz de responder à infecção e eventualmente eliminar o vírus. Ao exame do soro fetal (pré-colostral), a presença de anticorpos neutralizantes específicos pode ser a única alteração notável no recém-nascido (BROWN et al., 1979). Para detectar este tipo de infecção, o soro deve ser coletado antes da ingestão do colostro (GROOMS et al., 2006). Estes bezerros são normais ao nascimento e têm anticorpos neutralizantes pré-colostrais contra o BVDV (BROCK, 2003).

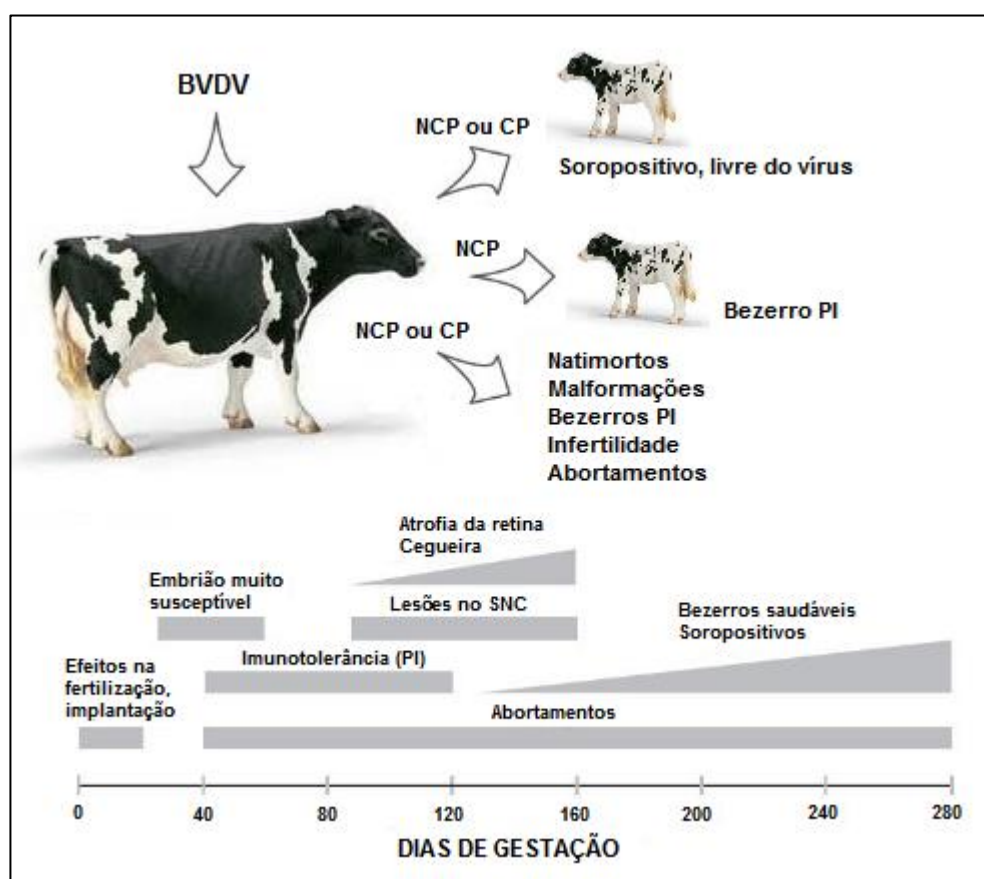


Figura 3. Consequências da infecção de fêmeas prenhes pelo BVDV, de acordo com o biótipo do vírus e o tempo de gestação. Adaptado de RIDPATH & FLORES, 2007.

3.4.3 Doença das Mucosas (DM)

Esta enfermidade afeta somente os animais PI que sofrem infecção pouco após o nascimento, entre o 6º e 18º mês de idade, por um biótipo CP homólogo antigenicamente ao biótipo NCP que produziu a imunotolerância (BROWNLIE, 1990). A doença das mucosas é uma condição severa, apresentando baixa morbidade e alta mortalidade (POTGIETER, 2004; FLORES et al., 2005).

O BVDV cp que causa a doença das mucosas origina-se do próprio animal PI por mutações, deleções e rearranjos genéticos no genoma do vírus não-citopático, que resultam na expressão da proteína NS3, característica das cepas citopatogênicas (FLORES & SHUCH, 2007). A literatura também aponta a possibilidade destas recombinações gênicas e o subsequente desenvolvimento da DM ocorrerem devido a fontes externas, como foi demonstrado pela ocorrência da DM após uso de vacinas da BVDV vivo modificado ou por vírus proveniente de outros animais (FLORES et al., 2005; EVERMANN et al., 2005; OIE, 2008). Um animal PI também pode ser super-infectado pelo BVDV cp por meio da transmissão horizontal do vírus citopático (POTGIETER, 2004).

A Doença das Mucosas pode ser classificada em dois padrões de desenvolvimento: A DM de Início Precoce e DM de início tardio. A DM de Início Precoce desenvolve-se 2 a 3 semanas após a exposição e infecção por um vírus citopático homólogo ao vírus ncp persistente (um vírus cp resultante da recombinação do ARN do vírus ncp persistente) que é reconhecido pelo sistema imunológico como *self* e não desencadeia uma resposta imune (FRITZEMEIER et al., 1997; POTGIETER, 2004), permitindo assim que o vírus CP se dissemine rapidamente pelo organismo, levando o animal a morte em pouco tempo, sem que tenha produzido anticorpos neutralizantes contra o vírus (FRITZEMEIER et al., 1997; POTGIETER, 2004). Já na DM de Início Tardio, a cepa citopatogênica heteróloga ao vírus persistente (vírus CP derivado de uma infecção horizontal) é reconhecido como não-*self*, dando origem a uma resposta imunológica, produzindo altos títulos de anticorpos neutralizantes

(FRITZEMEIER et al., 1997; POTGIETER, 2004). Neste caso, o animal é capaz de resolver a infecção pelo vírus, mas não antes deste se recombinar com o vírus NCP persistente (FRITZEMEIER et al., 1997). Desta recombinação resultam vírus híbridos, que o sistema imunitário vai eliminando, até que se produza um vírus híbrido que, apesar de citopático, seja homólogo ao vírus persistente, que o organismo reconhece como *self*, não produzindo assim, mais anticorpos neutralizantes contra o mesmo, impossibilitando que o animal resolva a infecção, levando-o assim, a morte. (FRITZEMEIER et al., 1997; POTGIETER, 2004).

Quanto ao curso da doença, a DM apresenta diferentes formas clínicas, classificadas em aguda e crônica, sendo as diferenças de linhagem entre os biótipos NCP e CP do vírus responsáveis pelas variações na resposta clínica.

A forma aguda é esporádica, infectando menos de 5% do rebanho. A taxa de mortalidade na DM aguda aproxima-se dos 100% (GROOMS et al., 2006). É caracterizada por um período de incubação de 10-14 dias após a exposição, tendo como sinais clínicos: febre (40-41°C), anorexia, taquicardia, diarreia profusa hemorrágica, acidose, emaciação, desidratação, depressão e morte (RADOSTITS et al., 2002). Na necropsia observam-se úlceras e erosões em toda a mucosa do trato digestivo. No esôfago, essas lesões apresentam-se no sentido longitudinal. As papilas ruminais apresentam-se diminuídas de tamanho. O conteúdo intestinal é escuro e aquoso e observa-se enterite catarral ou hemorrágica. As placas de Peyer apresentam-se edematosas, hemorrágicas e necróticas (FERREIRA et al., 2008). Os bovinos com DM tornam-se progressivamente desidratados e debilitados e geralmente morrem em 3 a 10 dias. Alguns animais sobrevivem à fase aguda, mas desenvolvem a forma crônica da doença (GROOMS et al., 2006).

Os animais que desenvolvem a DM e que não vem a óbito tornam-se cronicamente infectados (GROOMS et al., 2006). Na forma crônica, os sinais clínicos são inespecíficos (FLORES et al., 2005) e observa-se fezes amolecidas ou diarreia intermitente, timpanismo crônico, redução no apetite,

perda de peso, apatia progressiva, erosões interdigitais e lesões erosivas crônicas na mucosa oral e na pele não-cicatrizáveis. Algumas vezes há corrimentos nasais e oculares persistentes. Áreas alopecicas e de hiperqueratinização podem aparecer, geralmente, no pescoço. Esses animais podem sobreviver por muitos meses e geralmente morrem após debilitação progressiva (FLORES, 2003).

3.5 Diagnóstico

Deve-se suspeitar da infecção pelo BVDV, sempre que houver perdas embrionárias, abortos, malformações fetais, nascimento de animais fracos, morte perinatal. Além disso, casos de doença entérica e/ou respiratória com componentes hemorrágicos, além de erosões e ulcerações no trato digestivo também são sugestivos da infecção pelo BVDV (FLORES, 2003).

O diagnóstico pode ser firmado usando como base o histórico do rebanho, sinais clínicos e achados de necropsia (GOYAL, 2005). O diagnóstico requer isolamento ou detecção de antígenos virais e/ou demonstração sorológica da resposta imune ao vírus, levando em consideração dados epidemiológicos, o caráter da infecção e o manejo vacinal (GOENS, 2002). O material que se deve enviar para laboratórios são: sangue com anticoagulante, soro, órgãos (baço, timo, intestino e linfonodos), fetos, placentas e placentomas, para além de órgãos e tecidos com lesões macroscópicas (FLORES, 2003).

A identificação do vírus pode ser feita por técnicas de soroneutralização, imunofluorescência (IFA), imunoperoxidase (IPX), reação de polimerase em cadeia (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) (DIAS & SAMARA, 2003). Estas técnicas de diagnóstico são divididas em dois grandes grupos: método direto, que se baseia na detecção do antígeno viral, e o método indireto, que determina a resposta imune do tipo humoral do hospedeiro frente à ação do agente etiológico (REINHARDT et al., 2001).

Mesmo com recentes avanços para diagnóstico do BVDV, o teste padrão é o isolamento viral em cultivos celulares, seguido de realização da imunofluorescência indireta e imunoperoxidase para identificação do isolado viral (FLORES & SHUCH, 2007).

A técnica de ELISA (Enzyme Linked Imuno Sorbent Assay) é usada para detectar pequenas quantidades de antígenos/anticorpos, que geralmente não são detectáveis pelos métodos convencionais. Tem como característica alta sensibilidade e especificidade e rapidez na sua execução, permitindo o estudo de grandes populações em curto espaço de tempo, e em laboratórios de rotina. A sensibilidade deste teste é equivalente a do isolamento viral (OIE, 2000).

A técnica de PCR é capaz de detectar pequenas porções de ácidos nucleicos virais em amostras sanguíneas e de tecidos (RADOSTITS et al., 2002) sendo um método sensível (GONDIM, 2006) mas é sujeito a falsos positivos pois não diferencia ácidos nucleicos de vírus vivos ou inativados (GOYAL, 2005) . Esta técnica permite a detecção mais rápida e mais sensível do vírus do que o isolamento do vírus. Além disto, e ao contrário do isolamento do vírus, o RT-PCR não é afetado pela presença de anticorpos em amostras de soro. Devido à sua alta sensibilidade, considerada um método alternativo aos métodos de uso comum para a detecção do BVDV (GOYAL, 2005).

3.6 Diagnóstico diferencial

Devido às diversas possibilidades de manifestações clínicas na infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina, várias enfermidades são elencadas para o diagnóstico diferencial. Para tanto, deve-se considerar a prevalência, a epidemiologia, os achados clínicos e patológicos das doenças em diferentes regiões (RADOSTITS et al., 2007). Vale ressaltar que, devido a característica de imunossupressão causada pelo BVDV, as infecções pelo vírus podem estar associadas à presença de outros patógenos secundários (POTIGIETER, 2004).

O BVDV deve ser diferenciado de etiologias que causam diarreia, erosões e/ou ulcerações no trato gastrointestinal, falhas reprodutivas, efeitos teratogênicos, patologias cutâneas, subdesenvolvimento e patologias respiratórias. Estas etiologias incluem vários agentes infecciosos, parasitas e toxinas (GONDIM, 2006).

O diagnóstico diferencial para doenças causadoras de diarreia nos animais adultos inclui salmonelose, paratuberculose, disenteria de inverno, parasitismo gastrointestinal, febre catarral maligna, intoxicação por arsênio, micotoxicoses e deficiência em cobre. Por sua vez, o diagnóstico diferencial para doenças que causam lesões orais nos animais inclui a febre catarral maligna, língua azul, estomatite vesicular, estomatite papular, febre aftosa e peste bovina (GOYAL, 2005).

O diagnóstico diferencial da doença bovina com lesões orais e diarreia incluem a infecção aguda grave da BVD, peste bovina, febre catarral maligna bovina e doença das mucosas. As doenças caracterizadas por lesões orais e que não apresentam diarreia são a febre aftosa, estomatite vesicular e estomatite papular bovina. As doenças que provocam diarreia mas que não apresentam lesões orais são a disenteria de inverno, salmonelose, doença de Johne, parasitismos e deficiência em cobre (GROOMS et al., 2006).

O diagnóstico diferencial da infecção aguda do BVDV durante o período neonatal inclui outras causas de diarreia em bovinos jovens, como infecções por rotavírus ou coronavírus, criptosporidiose, infecção por *Escherichia coli*, salmonelose e coccidiose. Outras causas de doenças respiratórias em vitelos também devem ser consideradas, tais como infecção com o BRSV, *Pasteurella* spp., *Mannheimia* spp., *Hemophilus* spp., *Salmonella* spp. e *Mycoplasma* spp (GROOMS et al., 2006; GOYAL, 2005).

3.7 Controle e Profilaxia

O objetivo do controle da infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina é a contenção dos prejuízos na produção bovina. Isto depende da adoção e

implementação de programas sanitários para evitar a introdução de infecção na exploração, evitando a presença de animais PI, identificando-os e eliminando-os, e reforçando imunidade através da vacinação (GROOMS et al., 2006). Reduzir e eliminar as oportunidades de nascimento de animais PI constitui uma das maiores preocupações na criação destes programas (BROCK, 2004; RADOSTISTS et al., 2007).

Animais PI são elementos essenciais dos programas de controle em explorações infectadas. A eliminação destes irá diminuir a disseminação do agente, reduzindo o nascimento de outros bezerros PI que irão manter o vírus no rebanho (GROOMS, 2004), sendo, portanto, o ponto chave no controle e erradicação da doença. Para a identificação destes animais recomenda-se o teste de todos os animais do rebanho a partir de *pools* de amostras de sangue (10-30 amostras) ou amostras de tanque de leite. Se algum pool ou amostra de tanque de leite for positivo, cada indivíduo do rebanho deverá ser testado para detecção do antígeno viral (LAUREYNS et al., 2009).

A vacinação é indicada para rebanhos com alta rotatividade de animais, rebanhos com sorologia positiva, com histórico de doença clínica ou reprodutiva e com confirmação sorológica pra BVDV (FLORES & SHUCH, 2007). Esta é utilizada para reduzir o risco de perdas quando o manejo preventivo está comprometido. O objetivo principal da vacinação é a prevenção da infecção transplacentária e conseqüentemente as perdas reprodutivas e a geração de animais PI (LINDBERG, 2003). Uma estratégia importante para o controle da doença é a vacinação de fêmeas gestantes semanas antes do parto, de modo a ficarem soropositivas para o BVDV (GROOMS et al., 2006), assim, estimulando a imunidade materna a fornecer proteção ao bezerro por imunidade passiva. Outra estratégia amplamente praticada é a imunização de fêmeas suscetíveis antes da estação de monta, que visa prevenir a transmissão via transplacentária e conseqüente geração de animais PI (MOENNING et al., 2005). A vacinação contra BVDV é praticada rotineiramente para conter a enfermidade em novilhas e vacas, porém seu uso como estratégia única de controle, não é capaz de reduzir a prevalência da infecção (PATON et al., 1998), uma vez que as vacinas existentes e os protocolos

vacinais não são eficientes para prevenir totalmente as infecções transplacentárias (LINDBERG et al., 2006).

No mercado ainda não existe uma vacina padrão para o BVDV, estando disponível várias formulações pertencentes a duas categorias: vacinas vivas modificadas e vacinas inativadas (OIE, 2008). As vacinas vivas promovem boa imunidade, porém apresenta a desvantagem de causar viremia transitória com eliminação de partículas virais nas secreções nasais durante vários dias. É válido ressaltar que as vacinas vivas modificadas não devem ser usadas em fêmeas gestantes devido ao risco de infecção transplacentária (OIE, 2008). Já as vacinas inativadas são mais seguras, não são imunossupressoras e nem patogênicas ao feto, mas conferem imunidade menos protetora e há necessidade de reforço anual (HOUE et al., 2005).

A possibilidade de falhas vacinais é devido à diversidade antigênica do BVDV, sendo, portanto, indicado vacinas que contenham antígenos virais semelhantes àqueles presentes na região em que vai ser usado (HOUE et al., 2005; FULTON et al., 2009). Pode-se também fazer uso de vacinas multivalentes, contendo pelo menos duas estirpes antigenicamente diferentes (KAHN, 2007), pois vacinas produzidas com estirpes do tipo 1, apesar de promover proteção cruzada contra estirpes de BVDV tipo 1 e 2 NCP (BROCK, 2003), geralmente, apenas induzem proteção parcial ou incompleta contra estirpes de BVDV-2 (FLORES et al., 2005). No Brasil, a vacinação é pouco praticada, e somente as vacinas inativadas podem ser comercializadas (FLORES et al., 2005).

O controle e conseguinte erradicação da BVD tem como vantagem o aumento dos índices de produção de um rebanho, porém cria uma população de hospedeiros suscetíveis que necessita ser protegida por medidas de biossegurança (MOENNING et al., 2005). O programa de biossegurança objetiva a prevenção da entrada do vírus no rebanho, e conseqüentemente, sua transmissão a animais suscetíveis, por meio de fômites, produtos biológicos e contato com animais externos exploração, ou pela aquisição de animais infectados (SMITH & GROTELUESCHEN, 2004). Medidas como a

compra de animais com origem de explorações livres de BVDV, associado à compra de animais sabidamente não PI's, reduziria estes riscos de introdução do vírus (BROCK, 2004). É interessante a realização de quarentena de todos os animais adquiridos de propriedade que não sejam livres de BVDV, oportunizando assim exames para diagnosticar animais viremicos (PI e TI), evitando a entrada destes na propriedade (BROCK, 2004; SMITH & GROTELUESCHEN, 2004).

MATERIAIS E MÉTODO

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Região

O Estado do Maranhão ocupa uma área territorial de 331.983,293 km², localizado a Noroeste da Região Nordeste. Limita-se ao Norte pelo Oceano Atlântico, ao Sul e Sudoeste pelo Estado do Tocantins, ao Leste e Sudeste pelo Estado do Piauí e ao Oeste pelo Estado do Pará, possui 217 municípios com uma população estimada em 6.103.327 habitantes (IBGE, 2011). O rebanho leiteiro do estado apresenta um efetivo bovino de 790.598 cabeças, sendo estes animais em sua grande maioria da raça girolando, com uma produção aproximada de 365 milhões de litros leite/ ano, ocupando assim, o quarto lugar no ranking de produção de leite no Nordeste (MARANHÃO, 2012).

A área de estudo, levou-se em consideração a divisão do estado de acordo com a Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão (AGED-MA), que divide o estado em 18 Unidades Regionais (Açailândia, Bacabal, Balsas, Barra do Corda, Caxias, Chapadinha, Codó, Ilha de São Luís, Imperatriz, Itapecuru-Mirim, Pedreiras, Pinheiro, Presidente Dutra, Rosário, Santa Inês, São Joao dos Patos, Viana e Zé Doca (Anexo II). As bacias leiteiras do estado compreende as regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Bacabal e Pedreiras, regionais estas onde estão as maiores aglomerações de rebanhos leiteiros do estado.

4.2 Rebanhos

O estudo contemplou os principais municípios com atividade leiteira de cada regional estudada conforme demonstrado na tabela 1. A definição dos rebanhos amostrados em cada município aconteceu por meio de sorteios. Porém, para que participassem do sorteio, estes deveriam atender alguns pré-requisitos, como, número igual ou superior a 20 animais e não ter histórico de vacinação anterior para o BVDV.

Para a determinação do tamanho da amostra, seguiu-se o recomendado pelo CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSES (1997), considerando a prevalência de 30%, um nível de confiança 95% (Z=1,96) e uma variação de erro de 3%, como mostra a fórmula abaixo:

$$N = \frac{P \times Q \times Z^2}{d^2}$$

Onde: n = número de amostras;

P = prevalência esperada;

Z = grau de confiança (1,96);

d = margem de erro.

Assim: **N = $\frac{30 \times 70 \times 1.96^2}{3^2}$ → N= 896 amostras**

3²

Realizou-se ajuste estatístico para 920 amostras sanguíneas.

4.3 Coleta das Amostras

Foram coletadas 920 amostras de soro sanguíneo, pertencentes a 92 rebanhos do estado do Maranhão. As amostras são provenientes de fêmeas bovinas leiteiras estratificadas em três faixas etárias (< 3, entre 03 e 07 e acima de 07 anos), apresentando ou não sinais clínicos de infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV).

O número de amostras coletadas foi igual para todos os rebanhos. A distribuição dos rebanhos e o número total de amostras encontram-se listado na tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos municípios, rebanhos e amostras de acordo com as regionais

Regional	Município	N° de Rebanhos	N° de amostras
AÇAILÂNDIA	Açailândia	4	10
	Cidelândia	4	10
	São Francisco do Brejão	4	10
BACABAL	Bacabal	4	10
	Lago Verde	4	10
	Olho D'Água das Cunhãs	4	10
	São Luis Gonzaga	4	10
	Bom Lugar	4	10
ILHA DE SÃO LUÍS	Paço do Lumiar	4	10
	São José de Ribamar	4	10
	São Luís	4	10
	Raposa	4	10
IMPERATRIZ	Amarante	4	10
	Imperatriz	4	10
	João Lisboa	4	10
	Lageado Novo	4	10
	Porto Franco	4	10
	São João do Paraíso	4	10
	Senador La Roque	4	10
PEDREIRAS	Igarapé Grande	4	10
	Bernardo do Mearim	4	10
	Pedreiras	4	10
	Trizidela do Vale	4	10
TOTAL		92	920

As amostras de soro sanguíneo foram coletadas através de punção da veia jugular, com auxílio de agulhas descartáveis (25x8mm) e sistema de vácuo, em tubos (10ml) esterilizados e siliconizados, os quais foram deixados na posição inclinada até a retração do coágulo e liberação do soro. Após a coagulação, o sangue foi encaminhado sob refrigeração, em caixas

isotérmicas, ao Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA. No laboratório, o soro foi separado do sangue total por centrifugação a 1.500 xg, durante 15 minutos. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em tubos tipo Eppendorf® e estocadas a -20° C até a realização do teste laboratorial

4.4 Análises Sorológicas das Amostras

Para a identificação de animais PI, utilizou-se a metodologia proposta por Handel e colaboradores (2011), que considera como sendo animais persistentemente infectados aqueles que se apresentam negativo para a presença de anticorpos e positivos ao teste de detecção de antígenos virais. Este autor considera baixa a probabilidade de identificar um animal TI, uma vez que a viremia neste caso dura de 4 a 10 dias, com produção de anticorpos já nos estágios iniciais de infecção (POTGEITER, 2004), quando comparado com a viremia permanente de um animal PI.

Todas as amostras de soro sanguíneo foram testadas para a detecção de anticorpos e antígenos no laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas da Universidade Estadual no Maranhão – UEMA. Para a identificação da presença de anticorpos fez-se uso da técnica de ELISA indireto utilizando o Kit CHEKIT BVD – SERO - Dr. BOMMELI AG / Liebefeld – Bern – Swiss. As amostras foram analisadas em duplicata e, aquelas que apresentaram resultados suspeitos foram retestadas.

A detecção de antígenos de BVDV foi realizada mediante a técnica de ELISA-direta utilizando o Kit comercial *IDEXX BVDV Ag/Serum Plus®* (Figura 4). Este *kit* imunoenzimático direto baseia-se na pesquisa da proteína estrutural E^{ms} do vírus da Diarréia Viral Bovina, em amostras de sangue, soro, plasma ou pele de orelha de bovino, para confirmação da infecção.

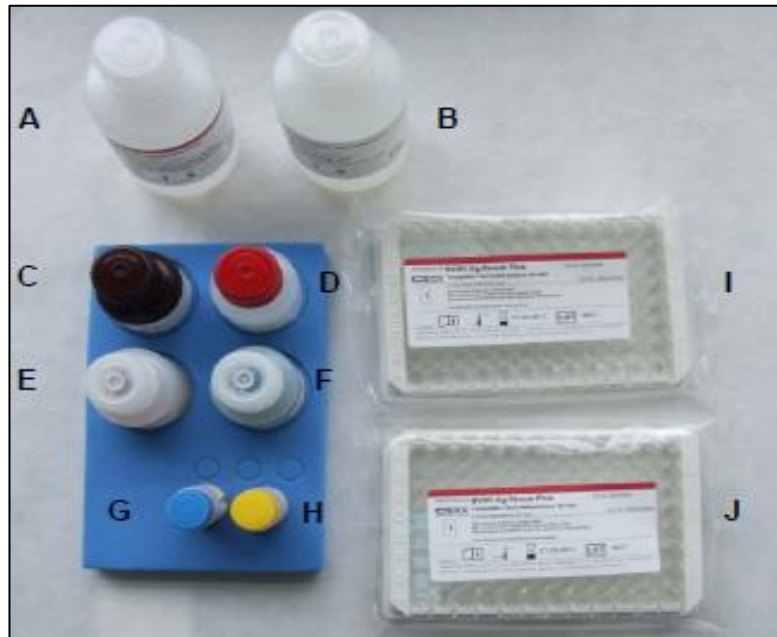


Figura 4. Placas e reagentes incluídos no kit AgELISA utilizado. A. Tampão para fragmento de orelha; B. Concentrado de lavagem (10x); C. Solução TMB No.12; D. Solução de interrupção No.3; E. Solução de Detecção; F. Conjugado; G. Controlo negativo; H. Controlo positivo; I e J. Placas impregnadas com Ac monoclonal anti-Sem

Cada ensaio foi validado, segundo os critérios fornecidos com os respectivos *kits*, e as leituras de absorvância obtidas (a 450nm) foram corrigidas e interpretadas de acordo com os valores de corte pré-estabelecidos pelo fabricante. No kit de detecção de anticorpos, a interpretação dos resultados foi determinada pelo cálculo da razão das densidades ópticas (OD) das amostras testadas com relação ao controle positivo, como mostra a fórmula abaixo:

$$\frac{A/P = \text{Amostra } A_{450} - \text{CNx } A_{450}}{\text{CPx } A_{450} - \text{CNx } A_{450}}$$

Amostras com razão $A/P \leq 0,200$ OD foram classificadas como negativas, razão entre $0,200 < OD < 0,300$ suspeitas e valores de $OD \geq 0,300$ positivas.

Para o kit de detecção de antígenos, a interpretação dos resultados foi determinada pelo cálculo do valor da densidade óptica (OD) corrigido (A-N) para cada amostra de acordo com os valores de corte pré-estabelecidos pelo fabricante, como mostra a fórmula abaixo:

$$A-N = \text{Amostra } A_{450} - (\text{CN}_1 A_{450} + \text{CN}_2 A_{450}) / 2$$

Onde:

A-N = densidade óptica (absorvância) corrigida da amostra testada

Amostra A_{450} = Densidade óptica (absorvância) da amostra testada

$\text{CN}_1 A_{450}$ = Densidade óptica (absorvância) do controle negativo 1

$\text{CN}_2 A_{450}$ = Densidade óptica (absorvância) controle negativo 2

As amostras consideradas positivas para BVDV Ag apresentaram valores de densidade óptica (DO) corrigida superiores a 0,3 ($A - N > 0,300$), e as que resultassem em valores igual ou inferior a este foram classificadas como negativas ($A-N \leq 0,300$).

4.5 Fatores de Risco

Para cada rebanho foi aplicado um questionário epidemiológico com o objetivo de obter informações necessárias ao estudo dos fatores de risco associados a presença de animais PI pelo BVDV. As variáveis analisadas foram: aquisição de animais, presença de caprinos e ovinos, presença de suínos, assistência veterinária, manejo da reprodução, contato com animais de

propriedades vizinhas e contato com fômites de propriedades vizinhas, conforme descrito nos apêndices A e B.

4.6 Georreferenciamento de focos

No momento da entrevista para preenchimento dos questionários, com a utilização de Aparelho GPS5 modelo Garmin® e Trex Vista HCx com microsSD 2G, as coordenadas geográficas das propriedades foram registradas, relacionadas em latitudes e longitudes, com o respectivo sistema em grau, minutos e segundos. Fez-se uso do Software GPS TrackMaker® v. 13,0 para capturar os dados do GPS (pontos) e converter em arquivo para ser exportado graficamente.

4.7 Planejamento Estatístico

A presente pesquisa trabalhou com uma variável quantitativa, cujas amostras foram calculadas com base na fórmula descrita pela CPZ (2007). Essas amostras foram classificadas como aleatórias por conglomerados e que ao final foi obtida a frequência de animais PI, TI e não virêmicos, segundo as regionais, municípios, rebanhos e estratos como um todo. Os dados obtidos foram analisados através de análise estatística descritiva simples. Para análise univariada de fatores de risco, foi utilizado *Odds Ratio* (OR) com nível de significância de 5% ($P < 0,05$). O software estatístico empregado foi Graphpad InStat versão 3.05/2000.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Após a realização dos testes diagnósticos das amostras de fêmeas leiteiras da bacia leiteira do estado do Maranhão, e análise dos resultados obtidos, detectou-se que 0,86% (8/920) apresentaram resultado positivo para o AgELISA e negativo para AcELISA, sendo por isso classificadas como animais persistentemente infectados. Em 0,97% (9/920) das amostras pode-se encontrar a presença de antígenos, porém estas se mostraram sororeagentes no teste para detectar anticorpos, e por isso foram considerados como sendo amostras de fêmeas transitoriamente infectadas. Do total de 920 fêmeas, 98,12% (n=903) não se mostraram virêmicas. Nenhuma das amostras mostrou-se inconclusiva no teste AcELISA e antígeno positiva para AgELISA (Figura 5).

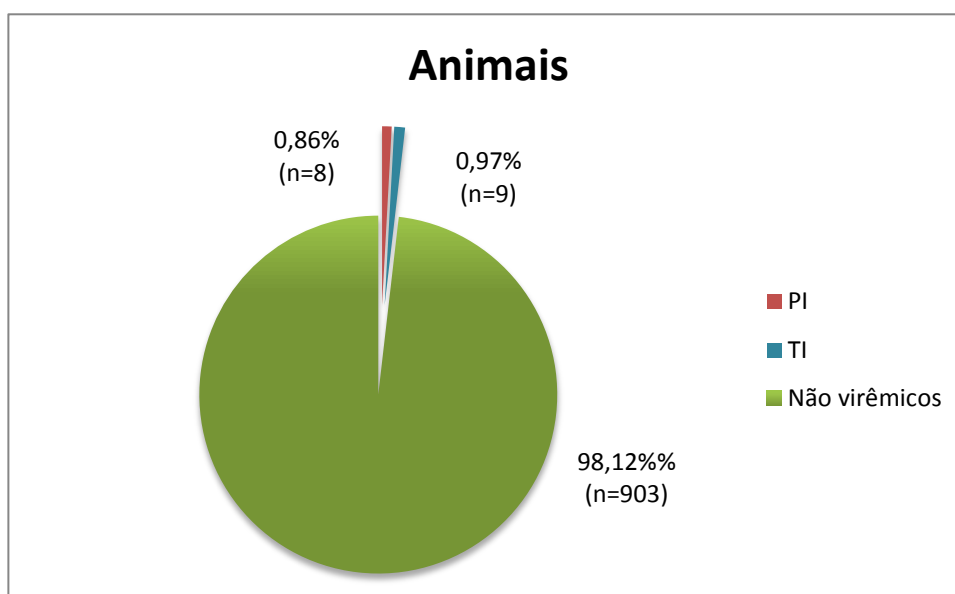


FIGURA 5. Frequência do Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas na bacia leiteira do estado do Maranhão.

Das 920 amostras de soro analisadas por meio do ELISA indireto (AcELISA) para detecção de anticorpos, resultou em 604 positivas, o que indica uma prevalência de 65,65% de animais sororeagentes na bacia leiteira do estado do Maranhão. Para as regionais as frequências encontradas foram de

53,57% (150/280) para regional de Imperatriz, 74% (148/200) para regional de Bacabal, 63,75% (102/160) para regional de Pedreiras, 80% (96/120) para regional de Açailândia e 67,5% (108/160) para a regional da Ilha de São Luís.

Na figura 6 encontram-se os resultados obtidos para as cinco regionais estudadas. As frequências de animais persistentemente infectados encontradas foram de 2,14% (6/280) e 1% (2/200) para as regionais de Imperatriz e Bacabal respectivamente. As regionais que apresentaram animais com infecção aguda foram Imperatriz (1,78% - 5/280), Bacabal (1% - 2/200), Pedreiras (0,62% - 1/160) e Açailândia (0,83% - 1/120). A regional da Ilha de São Luís não apresentou nenhum animal com viremia.

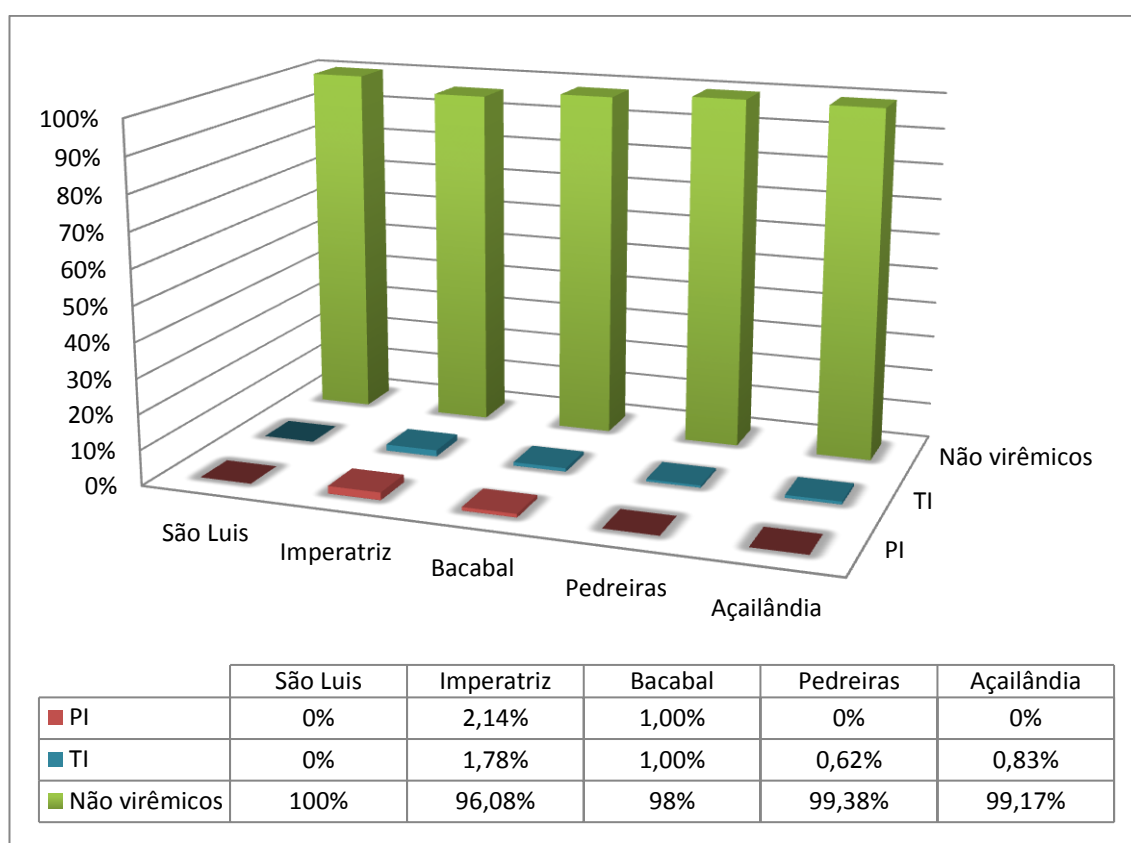


FIGURA 6. Gráfico da frequência de PI, TI e não virêmicos ao vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras nas regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Bacabal, Pedreiras e Açailândia.

TABELA 2. Frequência de animais PI, TI e não virêmicos (NV) ao Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras de 23 municípios pertencentes às 05 regionais da Bacia Leiteira do Estado do Maranhão

Regional	Município	N° de animais	PI		TI		NV	
			n	%	n	%	n	%
AÇAILÂNDIA	Açailândia	40	0	0	1	2,5	39	97,5
	Cidelândia	40	0	0	0	0	40	100
	São Francisco do Brejão	40	0	0	0	0	40	100
BACABAL	Bacabal	40	1	2,5	0	0	39	97,5
	Lago Verde	40	0	0	0	0	40	100
	Olho D'Água das Cunhãs	40	0	0	1	2,5	39	97,5
	São Luís Gonzaga	40	1	2,5	1	2,5	38	95
	Bom Lugar	40	0	0	0	0	40	100
ILHA DE SÃO LUÍS	Paço do Lumiar	40	0	0	0	0	40	100
	São José de Ribamar	40	0	0	0	0	40	100
	São Luís	40	0	0	0	0	40	100
	Raposa	40	0	0	0	0	40	100
IMPERATRIZ	Amarante	40	1	2,5	0	0	39	97,5
	Imperatriz	40	0	0	1	2,5	39	97,5
	João Lisboa	40	1	2,5	0	0	39	97,5
	Lageado Novo	40	3	7,5	0	0	37	92,5
	Porto Franco	40	1	2,5	0	0	39	97,5
	São João do Paraíso	40	0	0	3	7,5	37	92,5
	Senador La Roque	40	0	0	1	2,5	39	97,5
PEDREIRAS	Igarapé Grande	40	0	0	0	0	40	100
	Bernardo do Mearim	40	0	0	0	0	40	100
	Pedreiras	40	0	0	1	2,5	39	97,5
	Trizidela do Vale	40	0	0	0	0	40	100

Dos municípios amostrados, doze (52,17% - 12/23) apresentaram pelo menos um animal virêmico. Lageado Novo (regional de Imperatriz) apresentou a maior frequência de animais com viremia persistente, com três (7,5% - 3/40). Esta mesma regional apresentou ainda animais PI nos

municípios de Amarante, João Lisboa e Porto Franco, todos com um (2,5% - 1/40). Na regional de Bacabal, apenas os municípios de Bacabal e São Luiz Gonzaga tiveram animais PI, ambos com um (2,5% - 1/40) (Tabela 2).

Animais com infecção transitória foram encontrados em São João do Paraíso (7,5% - 3/40), Imperatriz (2,5% - 1/40), Senador La Roque (2,5% - 1/40), estes pertencentes a regional de Imperatriz. Os municípios que também apresentaram animais TI, foram Açailândia, Pedreiras, Olho D'Água das Cunhãs e São Luís Gonzaga, todos com um (2,5% - 1/40) (Tabela 2).

Como pode ser observado, todos os municípios da regional de Imperatriz apresentaram animais virêmicos, enquanto os municípios da regional da Ilha de São Luís não apresentaram nenhum animal nestas condições (Tabela 2).

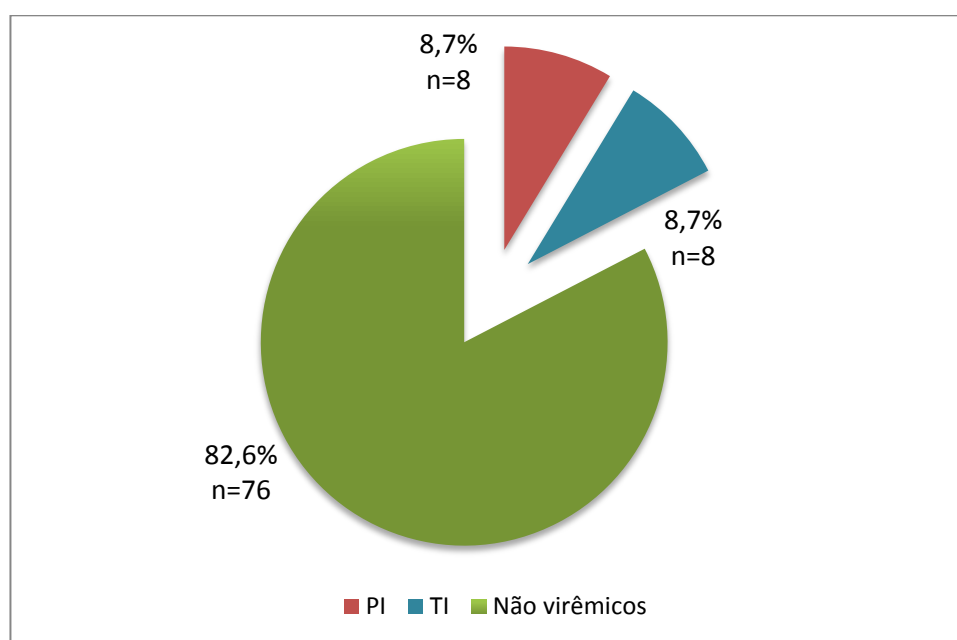


FIGURA 7. Frequência de rebanhos com fêmeas bovinas leiteiras persistentemente infectadas e transitoriamente infectadas no Maranhão.

Dentre os 92 rebanhos amostrados, foram encontrados animais virêmicos em 16 (17,39% - 16/92). Destes, oito (8,7% - 8/92) apresentaram

animais com viremia persistente (PI) e oito (8,7% - 8/92) mostraram pelo menos um animal com infecção transitória (TI). Não foram detectados antígenos de BVDV em 76 (82,6% - 76/92) dos rebanhos pesquisados.

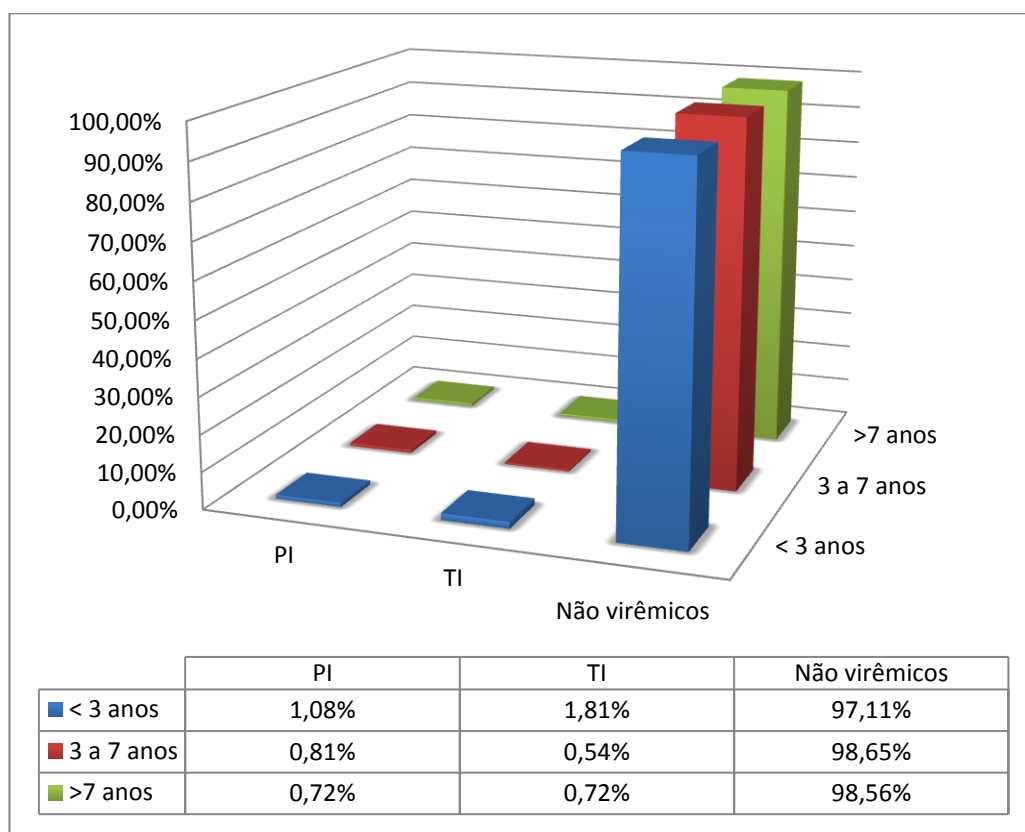


FIGURA 8. Frequência de fêmeas bovinas PI, TI e não virêmicas para o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) de acordo com a faixa etária na bacia leiteira do Estado do Maranhão.

A figura 8 apresenta a distribuição das amostras de acordo com a faixa etária dos animais avaliados. É observada a diminuição na frequência de animais com infecção persistente pelo BVDV de acordo com o aumento da faixa etária. A maior frequência (1,08% - 3/276) foi observada na categoria de animais com idade inferior a três anos e a menor (0,72% - 2/276) em animais com idade acima de sete anos. Uma frequência de 0,81% (3/368) foi

encontrada para animais que estavam na faixa de idade compreendida entre 3 e 7 anos.

TABELA 3. Análise univariada da associação dos fatores de risco com a presença de animais PI em rebanhos da bacia leiteira do Estado do Maranhão

Variáveis		PI		Não Reagentes		TOTAL		OR	IC 95%	Valor de P
		N	%	N	%	N	%			
Aquisição de animais	Região (a)	8	7	77	69	85	76	(a+b)	(a+b)	(a+b)
								0.8312	0.16-4.28	0.6859
	Estado (b)	2	2	16	14	18	16	(b+c)	(b+c)	(b+c)
								0.4375	0.05-3.76	0.5815
	Outros Estados (c)	2	2	7	6	9	8	(a+c)	(a+c)	(a+c)
								0.3639	0.06-2.05	0.2440
Presença de caprinos/ovinos	Sim	4	4	19	21	23	25	3.421	0.78-14.99	0.1039
	Não	4	4	65	71	69	75			
Presença de suínos	Sim	3	3	23	25	26	28	1.591	0.35-7.20	0.6828
	Não	5	5	61	66	66	72			
Assistência Veterinária	Sim	1	1	5	5	6	7	2.257	0.23-22.12	0.4300
	Não	7	8	79	86	86	93			
Reprodução	MN	7	8	78	85	85	92	0.5385	0.05-5.13	0.4830
	IA	1	1	6	7	7	8			
Contato com animais de rebanhos vizinhos	Sim	4	4	9	10	13	14	8.333	1.77-39.23	0.0127*
	Não	4	4	75	82	79	86			
Contatos com fômites de rebanhos vizinhos	Sim	4	4	9	10	13	14	8.333	1.77-39.23	0.0127*
	Não	4	4	75	82	79	86			

(*) Associação significativa ao nível de 5% (P<0,05).

A frequência de animais TI de acordo com a faixa etária foi de 1,81% (5/276) para animais com idade igual ou inferior a 3 anos; 0,54% (2/368) para animais entre 3 a 7 anos e 0,72% (2/276) para animais acima dos 7 anos (Figura 8).

O contato com animais e fômites de rebanhos vizinhos apresentou associação à presença de animais PI com valor de P significativo ($P < 0,05$) em análise univariada para rebanhos da bacia leiteira do Estado do Maranhão (Tabela 3).

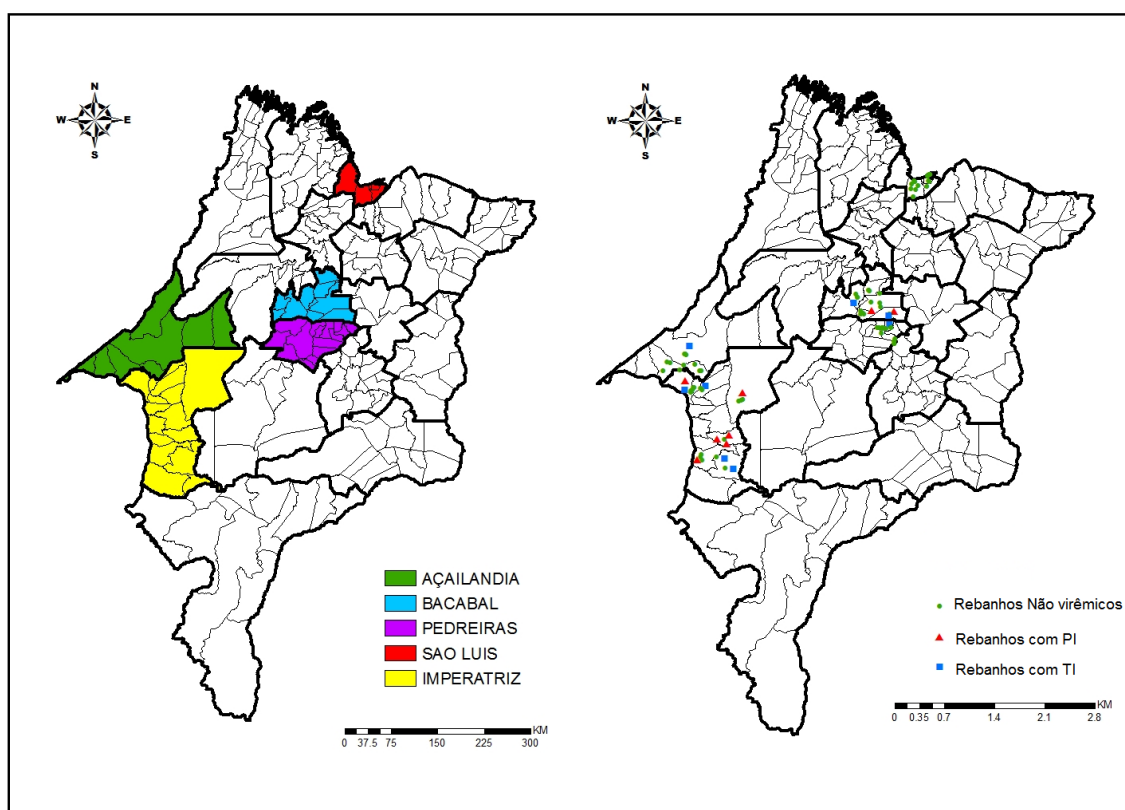


FIGURA 9. Georreferenciamento de focos da infecção de animais PI, TI e não virêmicos nas regionais das bacias leiteiras do Estado do Maranhão, 2014.

A figura 9 mostra a distribuição espacial dos focos da infecção de animais PI, TI e não virêmicos nas regionais das bacias leiteiras do Estado do Maranhão. Observa-se presença significativa destes animais (PI e TI) nas regionais de Imperatriz e Bacabal. São percebidas áreas de vazios dentro das

regionais que não tiveram rebanhos amostrados neste estudo, especialmente nas regionais de Açailândia e Pedreiras. Nota-se também a proximidade de rebanhos virêmicos com outras regionais do estado.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O vírus da diarreia viral bovina apresenta uma ampla distribuição mundial e a sua infecção encontra-se associada a problemas reprodutivos e digestórios, desta forma mostrando-se uma enfermidade de suma importância para a pecuária. Vale ressaltar o seu papel como co-infecção, devido ao caráter de imunossupressão que estabelece no indivíduo infectado, que potencialmente pode provocar consequências desfavoráveis sobre outras doenças endêmicas.

Porém, apesar de seus impactos econômicos quando presente em um rebanho, pouca atenção tem sido dada a esta doença no estado do Maranhão, que para muitos veterinários e criadores, ainda é considerada uma enfermidade exótica em nossos rebanhos.

A soroprevalência de 65,65% é indicativo que a transmissão do vírus está ocorrendo dentro do estado. Determinar a prevalência de infecção pelo BVDV mostra-se como método vantajoso, pois a detecção de animais com anticorpos inferi a transmissão do vírus com a participação de animais PI ou animais transitoriamente infectados (TI). A presença de um animal sororeagente num rebanho não vacinado é evidência suficiente que caracteriza a exposição da população ao BVDV (SMITH & GROTELUESCHEN, 2004).

A avaliação das 920 amostras de fêmeas analisadas revelou a frequência de 1,85% (17/920) de animais virêmicos na bacia leiteira do estado do Maranhão, desta forma caracterizando a infecção ativa pelo BVDV. Destes, 0,86% (8/920) foram classificados como animais persistentemente infectados, corroborando com os resultados de Houe (1995) que considerou a prevalência de animais PI em rebanhos infectados no intervalo entre 0,5% e 2%.

Este resultado assemelha-se aos estudos já realizados no Brasil, a exemplo de Brito et al (2010) que encontrou o valor de 0,42% de frequência para bovinos PI pelo BVDV no estado do Goiás e ao percentual de 0,75% de vírus detectado em amostras de soro fetal coletadas em matadouros no Rio Grande do Sul (BOTTON et al., 1998). Coeficientes mais elevados de bovinos

PI pelo BVDV, variando de 1,2% a 7,1%, foram encontrados em outros rebanhos pesquisados no país (OLIVEIRA et al., 1996), nos EUA (GROOMS & KEILEN, 2002), na Eslováquia (VILCEK et al., 2003) e na Turquia (TAN et al., 2006).

Frequências menores de animais PI foram encontradas nos Estados Unidos da América em amostras de soro de bezerros de corte, que apontaram índices de 0,19% e 0,20% (O'CONNOR et al., 2007; HOAR et al., 2007). Estes percentuais podem ser resultado de anos de execução de programas para controle da enfermidade, que consistem na identificação e eliminação de animais com viremia persistente além da prevenção da entrada do vírus nos rebanhos (HOUE, 2005; LINDENBERG & HOUE, 2005; MOENNING, 2005; VAN CAMPEN, 2010).

Os resultados de animais TI encontrados nesta pesquisa não foi possível confrontar com nenhum dado descrito na literatura, uma vez que não há trabalhos que façam referência específica a estes animais.

A frequência de animais PI para as regionais foi de 2,14% (6/280) e 1% (2/200) para as regionais de Imperatriz e Bacabal respectivamente. As regionais de Pedreiras (0,62% - 1/160) e Açailândia (0,83% - 1/120) apresentaram apenas animais TI. A regional de Imperatriz que apresentou no teste sorológico a menor frequência de anticorpos (53,57%) mostrou a maior prevalência de animais PI, contrário do que ocorreu na regional de Açailândia que teve 80% de animais sororeagentes e nenhum animal PI detectado no estudo. Estes resultados discordam de Brock (2003), que afirma que quanto maior a soroprevalência dos animais no rebanho, maiores serão os índices esperados de bovinos PI.

Na regional da Ilha de São Luís, apesar de apresentar elevada prevalência de animais positivos para anticorpos anti-BVDV (67,5%), não foi encontrado nenhum animal virêmico, corroborando com os resultados de Duong (2008) que mesmo com alta soroprevalência para BVDV dos rebanhos do Vietnã não detectou nenhum animal PI. Este resultado pode ser explicado pela possibilidade de animais PI permanecerem indetectáveis, devido à

excreção viral intermitente ou em baixos níveis (BARBER et al., 1985; VOGES et al., 1998; BROCK et al., 1998; THURMOND, 2005). Podemos ainda considerar como justificativas a este resultado baixa prevalência de animais PI nos rebanhos onde foram realizadas as coletas, baixa prevalência de animais PI nos rebanhos da regional de estudo, número reduzido de rebanhos amostrados e poucas amostras testadas por rebanho.

Dos 23 municípios amostrados, foram identificados animais PI em Amarante, João Lisboa, Lageado Novo e Porto Franco (Regional de Imperatriz); Bacabal e São Luís Gonzaga (Regional de Bacabal). O município de Lageado Novo apresentou o maior número de PI's identificados, totalizando 3 animais. Nos demais municípios foram identificados um animal permanentemente infectado em cada. Dos municípios amostrados, Lageado Novo é o que apresenta o maior número de propriedade que fazem a aquisição de novos animais em outros estados, especialmente Minas Gerais e Goiás, estados estes com altos índices de soropositividade para o BVDV (VIEIRA et al., 1999), podendo assim justificar a maior presença de PI's neste município.. Isso reforça ainda mais a necessidade de controle do trânsito de animais, possibilitando a aquisição apenas de animais não virêmicos para a Diarreia Viral Bovina.

Dentre os 92 rebanhos amostrados, 8 (8,7% - 8/92) apresentaram animais com viremia persistente (PI). Este resultado mostra-se próximo ao encontrado por Ribeiro & Pereira (2004), que identificou a presença de animais PI em 6,6% das explorações leiteiras de Póvoa do Varzim e Ponte de Lima (Portugal). Na Itália, o trabalho de Ferrari e colaboradores (1999) indicou a prevalência de 8,8% de explorações com animais PI presentes no rebanho.

Das 92 propriedades testadas para anticorpo, em 94,57% (n=87) foram encontrados animais reagentes. Esta prevalência indica que provavelmente a fonte de infecção seria um animal PI. Porém, frente à baixa frequência de animais persistentemente infectados identificados neste estudo, não deve ser ignorada a possibilidade introdução do BVDV por animais TI, os quais também podem promover a permanência do vírus no rebanho

(MOERMAN et al., 1993). Nesta circunstância, haveria duas possibilidades: a infecção nos animais do rebanho poderia cessar (MOERMAN et al., 1993) ou poderia estabelecer uma infecção persistente (LINDBERG & HOUE, 2005). Desta forma, as coletas deste trabalho podem ter acontecido no momento de infecção aguda dos animais, possibilitando posteriormente o nascimento de animais PI (HOUE, 1994), já que poucos animais com viremia persistente foram detectados nos rebanhos estudados.

Com relação à faixa etária nota-se a maior frequência na categoria de animais com idade inferior a três anos e a menor em animais com idade superior 7 anos, além da identificação de 3 animais PI com idade entre 3 e 7 anos. Estes resultados diferem de Houe (1999) quando este afirmou que um animal com viremia persistente teria um tempo de 6 a 24 meses de vida, provavelmente porque os animais morreriam antes de chegar à idade adulta por complicações da persistência viral.

Outros autores somam a esta pesquisa a informação da possibilidade de um animal PI chegar a idade adulta, como Brito (2010), Dezen e colaboradores (2013), Ribeiro & Pereira (2004). Esta é uma situação de merecer muita atenção na epidemiologia do BVDV, pois um animal PI adulto dará sempre descendência a um animal PI, originando assim famílias de persistentemente infectados que vão desempenhar um papel importante na manutenção do vírus no rebanho. Esta situação mostra-se relatada no trabalho de Noronha e colaboradores (2003), que documentou 17 partos de fêmeas PI com 4 bezerros identificados como vivos, constituindo assim as famílias de PI.

A análise univariada evidenciou que o contato com animais e fômites de rebanhos vizinhos são fatores de risco com associação estatística significativa. Este resultado justifica-se já que estas variáveis configuram-se como sendo uma das principais formas de entrada do vírus do rebanho (ROEDER & HARKNESS, 1986; TREMBLEY, 1996), que desta forma aumenta substancialmente as chances de uma fêmea entrar em contato com o vírus durante a gestação, gerando assim um animal com viremia persistente.

Considerando que este contato com animais e fômites de rebanhos vizinhos se caracteriza especialmente pelo compartilhamento de pastagens através do aluguel de pasto, este resultado corrobora ao de Handel (2011), que identificou o uso comum de pastagens como fator de risco para presença de animais PI na região de Adamawa dos Camarões, África. Este fator sugere a probabilidade de contaminação de pastagens, água, instalações e equipamentos. O BVDV, uma vez presente no ambiente, pode permanecer viável por duas semanas (GROOMS et al., 2006), aumentando assim a chance de contato e infecção em uma fêmeas gestante susceptível.

A aquisição de animais, quando estudado o risco referente à sua origem (região, estado ou outros estados) não se mostrou como fator de risco para a presença de animais PI. Pode-se observar que, mesmo nas situações em que os animais são importados de outros estados, especialmente Minas Gerais e Goiás onde a soroprevalência para o BVDV são elevadas (BRITO et al., 2010; FIGUEIREDO et al., 1997), não interfere potencialmente na geração de animais persistentemente viremos nas criações. Sendo assim, considera-se que os rebanhos do Maranhão apresentam igual importância para a epidemiologia da BVD no estado quando comparados aos rebanhos das demais unidades federativas do país, logo, a aplicação de medidas de biossegurança deve ser feita indistintamente da origem dos animais.

A presença de caprinos, ovinos e suínos criados juntamente com bovinos não se mostrou como fator de risco há presença de animais PI nos rebanhos estudados, discordando de Handel e colaboradores (2011) que identificaram a presença de caprinos como fator de risco para rebanhos com animais persistentemente infectados.

Apesar deste trabalho não apontar a presença destes animais como fator de risco, observa-se que propriedades que criam concomitantemente bovinos e suínos têm um risco 1,59 vezes maior de apresentar um animal com viremia persistente, sendo que este risco sobe para 3,42 vezes na presença de caprinos ou ovinos, quando comparado com propriedades que não os criam. O BVDV pode infectar suínos (LOKEN, 1995), ovinos (CARLSSON, 1991;

SCHERER et al., 2001), porém a infecção em caprinos e ovinos apresenta maior importância na epidemiologia da doença (VOGEL et al., 2001; PESCADOR et al., 2004), uma vez que estas espécies geralmente fazem uso comum da pastagem com os bovinos (BROADDUS et al., 2007). Este contato mais frequente aumentaria as chances destas espécies infectar fêmeas gestantes susceptíveis.

A ausência de “assistência veterinária” não foi considerada como fator de risco para a presença de animais PI nos rebanhos estudados. Porém, propriedades que não tiveram assistência veterinária apresentaram um risco 2,25 vezes maior de apresentar animais PI do que propriedades que tiveram assistência veterinária. Mesmo não sendo considerado fator de risco neste estudo, é oportuno destacar a importância do médico veterinário na orientação do produtor rural a respeito das principais medidas sanitárias direcionadas para esta e outras enfermidades dos bovinos.

Quanto ao manejo reprodutivo, não ocorreu à identificação de uma técnica (monta natural ou inseminação artificial) como mais provável a presença de animais com viremia persistente. Deve-se considerar o potencial da monta natural como fator de risco, especialmente, devido à dificuldade da identificação de animais PI que participariam da cobertura, gerando assim, famílias persistentemente infectadas. A inseminação artificial se utilizada com critério e atendendo as condições sanitárias necessárias a sua realização, pode ser considerada um fator de proteção aos rebanhos.

A visão espacial dos focos da infecção pelo BVDV nas regionais das bacias leiteiras do Estado do Maranhão mostra presença de animais PI e TI principalmente nas regionais de Imperatriz e Bacabal. Esta circunstância pode ser atribuída à intensa produção leiteira presente nesta região, o que é caracterizado por uma maior tecnificação da produção, com a aquisição de animais em outros estados, o que possivelmente poderia animais virêmicos capazes de causar infecção em animais susceptíveis. As áreas de vazios que representam a falta de rebanhos amostrados nas regionais possivelmente podem apresentar animais virêmicos, uma vez que há intenso trânsito de

animais nesta região. A proximidade de rebanhos viremicos com outras regionais do estado implica na possibilidade de índices ainda maiores de infecção pelo BVDV no estado. Isso nos permite inferir da necessidade de novos estudos, sobretudo nas regiões onde há vazío sanitário, principalmente nas próximas às regionais com animais PIs.

Esta pesquisa é o marco inicial para no futuro fazermos uma identificação de animais PIs em todo o rebanho leiteiro do estado, conforme demonstra os resultados de georreferenciamento.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que:

- A frequência de animais permanentemente infectados na bacia leiteira do estado do Maranhão é baixa, porém dentro do esperado para a enfermidade;
- A maior frequência de animais PI encontra-se na faixa de idade inferior aos 3 anos de idade;
- Foram considerados fatores de risco para animais persistentemente infectados o contato com animais e fômites de rebanhos vizinhos;
- O estudo espacial demonstrou que a infecção pelo BVDV encontra-se amplamente distribuído nas bacias leiteiras do estado do Maranhão.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ARENHART S., BAUERMANN F.V., OLIVEIRA S.A.M., WEIBLEN R. & FLORES E.F. Excreção e transmissão do vírus da diarreia viral bovina por bezerros persistentemente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.29, n. 9, p. 736-742, 2009.

BACHOFEN, C., STALDER, H., BRAUN, U., HILBE, M., EHRENSPERGER, F., PETERHANS, E.. Co-existence of genetically and antigenically diverse bovine viral diarrhoea viruses in an endemic situation. **Vet. Microbiol.** V.131, p.93–102, 2008.

BAKER, J. C. Bovine viral diarrhoea virus: a review; **J.A.V.M.A**, v.190, p. 1449–1458, 1987.

BARBER D.M.L., Nettleton P.F. & Herring J.A. Disease in a dairy herd associated with the introduction and spread of bovine virus diarrhoea virus. **Vet.Rec.** v.117, p.459-464, 1985.

BECHER,P. & THIEL,H.-J. Genus Pestivirus (Flaviviridae) . In: **The Springer Index of Viruses** (Ed. by C.A.Tidona & G.Darai), Heidelberg, Germany, Springer-Verlag., p.327-331 2002.

BIELEFELDT-OHMANN, H. The pathologies of bovine viral diarrhoea virus infection: A window on the pathogenesis. In: Bovine Viral Diarrhoea Virus. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** v.11, n.3, p. 447-76. 1995.

BOLIN, S.R. & GROOMS, D.L. Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** V.20, p.51-68, 2004.

BOOTH, P.J.; STEVENS, D.A.; COLLINS, M.E. AND BROWNLIE J. Detection of bovine viral diarrhoea virus antigen and RNA in oviduct and granulosa cells of persistently infected cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 105, p.17–24, 1995.

BOTTON S.A., SILVA A.M., BRUM M.C.S., WEIBLEN R. & FLORES E.F. Antigenic characterization of Brazilian isolates of bovine viral diarrhoea virus

(BVDV) with monoclonal antibodies and by cross-neutralization. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v.31, p.1429-1438, 1998.

BRITO, W. M. E. D.; ALFAIA, B. T.; CAIXETA, S. P. M. B. Prevalência da infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no Estado de Goiás, Brasil. **Revista de Patologia**, 2010.

BROADDUS, C. C., HOLYOAK, G. R., DAWSON, L., STEP, D. L., FUNK, R. A. AND KAPIL, S. Transmission of bovine viral diarrhea virus to adult goats from persistently infected cattle. **J. Vet. Diagn. Invest.** v.19, p.545–548, 2007.

BROCK, K.V. Strategies for the control and prevention of bovine viral diarrhea virus. **Vet Clin Food Anim.** n.20, p.171-180, 2004.

BROCK, K.V. The persistence of bovine viral diarrhea virus. **Biologicals**, v. 31, p.133-135, 2003.

BROCK, K.V., GROOMS D.L., RIDPATH J.F. & BOLIN S.R. Changes in levels of viremia in cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. **J. Vet. Diagn. Invest.** v.10, p.22-26, 1998.

BROCK, K. V.; REDMAN, D. R.; VICKERS, M. L.; IRVINE, N. E. Quantitation of bovine viral diarrhea virus in embryo transfer flush fluids collected from a persistently infected heifer. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, cidade, v.3. p.99-100, 1991.

BROWN, T.T.; SCHULTZ, R.D.; DUCAN, J.R. & BISTNER, S.I. Serological response of the bovine fetus to bovine viral diarrhea virus. **Infec. And Immun.**, v.25, n.1, p. 93-97, 1979.

BROWN, T.T. et al. Virus induced congenital anomalies of the bovine fetus. Histopathology of cerebellar degeneration (hypoplasia) induced by the virus of bovine viral diarrhea-mucosal disease. **The Vet. Cornell**, v.63, n.4, p.561-578, 1973.

BROWNLIE J. The pathogenesis of bovine viral diarrhea virus infections. **Rev. Sci. Tech.**, OIE, v.9, p.43-59, 1990.

CARTER, G. R. A Concise review of veterinary virology. Ithaca NY: **International Veterinary Information Service**, 2004.

CARLSSON, U. Border disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. **Vet. Rec.** v.128, p.145-147, 1991.

CHAVES, N.P.; BEZERRA, D.C.; SOUSA, V.E. de; SANTOS, H.P.; PEREIRA, H. de M. Frequência de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região Amazônica Maranhense, Brasil. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p.1448- 1451, 2010.

CHAVES, N. P. **Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados no estado do Maranhão.** 2009. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, MA, 2009.

DEREGET, D., LOEWEN, K. Bovine Viral Diarrhea Virus: Biotype and disease. **Can. Vet. J.** v.36, p. 371-379, 1995.

DEZEN, S., OTONEL, R.A.A., ALFIERI, A.F., LUNARDI, M., ALFIERI, A.A. Perfil da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em um rebanho bovino leiteiro de alta produção e com programa de vacinação contra o BVDV. **Pesq. Vet. Bras.** v.33, n.2, p.141-147, fevereiro 2013.

DIAS, F.C.; MÉDICI, K.C.; ALEXANDRINO, B.; MEDEIROS, A.R.S.; ALFIERI, A.A.; SAMARA, S.I. Ocorrência de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina em rebanhos bovinos nos Estados de Minas Gerais e São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.** v.30, n.11, p.933-939, 2010.

DIAS, F.C.; SAMARA, S.I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.40, p.161-168, 2003.

DONIS, R.O. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. In: Baker, J.C., Houe, H. (Eds.), Bovine Viral Diarrhoea Virus. **Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.** 11pp. p.393-424, 1995.

DUBOVI, E.J. Impact of bovine viral diarrhoea virus on reproductive performance in cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, New York, v.10, n. 3, p. 503-514, 1994.

DUONG, M.C., S. ALENIUS, L.T.T. HUONG AND C. BJORKMAN. Prevalence of *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus in dairy cows in Southern Vietnam. **Vet. J.**, v.175, p. 390-394, 2008.

EVERMANN, J.F. Pestiviral infections of *llamas* and *alpacas*. **Small Ruminant Res**, v. 61, p.201-206, 2006

EVERMANN, J.F; BARRINGTON, G. Clinical features. In: GOYAL S.M., RIDPATH J.F. **Bovine Viral Diarrhoea Virus: Diagnosis, Management and Control**. 1ª ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing, p. 105-119, 2005.

FERRARI, G., SCICLUNA, M.T., BONVICINI, D., GOBBI, C., VERITÁ, F., VALENTINI, A. E AUTORINI, G.L. Bovine virus diarrhoea (BVD) control programme in an area in the Rome province (Italy). **Veterinary Microbiology**, v.64, p.237-245, 1999.

FERREIRA, L.C.L.; FLORES, E.F.; DRIEMEIER, D.; MELO, O.; LEMOS, R.A.A. Doença das mucosas associada a dermatite generalizada em bovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.28, n.6, p.285-292, 2008.

FEVEREIRO, M. **Aspectos gerais do vírus da Diarreia Viral dos Bovinos e Doença das Mucosas (BVDV/MD)**. In Pfizer Saúde Animal, Proceedings do Symposium de Lançamento da vacina Pregsure® BVD, Lisboa, 21 de Junho de 2008. 3-5, 2008

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.

FLORES, E.F.; SHUCH, L.F.D. Diarreia viral bovina. In: RIET-ORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e equídeos**, 3th. Santa Maria: Pallott, v.1, p.81-93, 2007.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P. M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil - histórico, situação atual e perspectivas. **Pesq. Vet. Bras.**, v.25, n.3 p. 125-134, 2005.

FLORES, E.F. Vírus da diarréia viral bovina (BVDV). **Biológico**, São Paulo, v.65, n.1/2, p.3-9, 2003.

FRANCKI, R.I.B.; FAUQUET, C.M.; KNUDSON, D.L. & BROWN, F. Classification and Nomenclature of Viruses, Fifth Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. **Archives of Virology**, [suppl.2], p.228-229, 1991.

FRAY M.D., PATON D.J.; ALENIUS S. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. **Anim. Reprod. Sci.**, n.60/61, p.615-627, 2000.

FRITZEMEIER, J.; HAAS, L.; LIEBLER, E.; MOENNIG, V.; GREISER-WILKE, I. The development of early vs. late on set mucosal disease is a consequence of two different pathogenic mechanisms. **Archives of Virology**, v.142. n.7, p.1335-1350, 1997.

FULTON, R.W. et al. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in persistently infected cattle and BVDV subtypes in affected cattle in beef herds in south central United States. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v.73, n.4, p.283 - 291, 2009.

GARD, J.A.; GIVENS, M.D.; STRINGFELLOW, D.A. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV): Epidemiologic concerns relative to semen and embryos. **Theriogenology**, v.68, n.3, p.434-442, 2007.

GIANGASPERO, M., HARASAWA, R., WEBER, L., & BELLOLI, A. Genoepidemiological evaluation of Bovine viral diarrhoea virus 2 species based on secondary structures in the 5' untranslated region. **J Vet Med Sci**, v.70, n.6, p.571-580, 2008.

GROOMS, D, BAKER, J.C.; AME, T.R. Doenças causadas pelo vírus da diarréia viral bovina. In: Smith BP. **Medicina Interna de Grandes Animais** . 3ª ed. São Paulo, Brasil: Manole, p. 707-714, 2006.

GROOMS, D. L. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.20, p.5-19, 2004.

GROOMS, D.L.; KEILEN, E.D. Screening of neonatal calves for persistent infection with bovine viral diarrhoea virus by immunohistochemistry on skin biopsy samples. **Clin Diagn Lab Immunol**, v.9, p.898-900, 2002.

GOENS, S. D. The evolution of bovine viral diarrhoea: a review. **Can Vet J**, v. 43, n. 12, p 946- 954, 2002.

GONDIM, A.C.L.O. **Diarréia Viral Bovina**. Curso de Pós-Graduação "Latu Sensu" em Produção e Reprodução de Bovinos, Universidade Castelo Branco. Brasília, Brasil, 2006.

GOYAL, S.M. Diagnosis. In: Goyal, S.M & Ridpath, J.F. (Eds) **Bovine Viral Diarrhoea Virus: Diagnosis, management and control**. Iowa: Blackwell Publishing, cap.12, p.197-208, 2005.

GOYAL, S. M., BOULJIHAD, M., HAUGERUD, S., RIDPATH, J. Isolation of bovine viral diarrhoea virus from an alpaca. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 14, p. 523–525, 2002.

HAMERS,C.; DI VALENTIN,E. LECOMTE,C.; LAMBOT,M.; JORIS,E.; GENICOT, B.; PASTORET, P. P. Virus Neutralising Antibodies Against Bovine Viral Diarrhoea Virus Isolates in Vaccinated Calves. **The Veterinary Journal**, v. 163, p. 61-67, 2002.

HAMERS, C. et al. Diversity among bovine pestiviruses. **The Veterinary Journal**, v.161, n.2, p.112-122, 2001.

HANDEL, I.G., WILLOUGHBY, K., LAND, F., KOTERWAS, B., MORGAN, K.L., TANYA, V.N. BRONSVOORT, B.M.C. Seroepidemiology of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) in the Adamawa Region of Cameroon and Use of the SPOT Test to Identify Herds with PI Calves. **PLoS ONE**, v.6, n.7, 2011.

HOAR, B.R., McQUARRY, A.C., HIETALA, S.K. Prevalence of Neospora caninum and persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in dairy-breed steers in a feedlot. **J Am Vet Med Assoc**, v.230, p. 1038-1043, 2007.

HORNBERG, A.; FERNANDEZ, S. R.; VOGL, C. et al . Genetic diversity of pestivirus isolates in cattle from Western Austria. **Vet. Microbiol.** , v.135, n.3/4, p. 205-213, 2009.

HOUE, H.; LINDBERG, A.; MOENNING, V. BVD control in Europe: current status and perspectives. *Animal Health Research Reviews*, v.6, n.1, p.63-74, 2005.

HOUE, H. Economic impact of BVDV infection in dairies. **Biologicals**, v.31, p. 137-143, 2003.

HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. **Vet Microbiol**, v.64, n.2-3, p.89-107, 1999.

HOUE, H. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America** , v.11. n.3. p.521-548, 1995.

HOUE, H. Bovine virus diarrhoea virus: detection of Danish dairy herds with persistently infected animals by means of a screening test of ten young stock. **Preventive Veterinary Medicine**, v.19, n.3-4, p.241-248, 1994.

HOUE, H. Serological analysis of a small herd sample to predict presence or absence of animals persistently infected with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in dairy herds. **Res Vet Sci**, v.53, p.320-323, 1992.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.com.br>. Acesso em: 15 de janeiro de 2011.

ICTV. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2000.

KADIR, Y., CHRISTINE, F., BARBARA, B. W., ZEKI, Y., FERAY, A., AYKUT, O., et al. Genetic heterogeneity of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates from Turkey: identification of a new subgroup in BVDV-1. **Vet Microbiol**, v.130, n.3-4, p.258-267, 2008.

KAHN, C.M. **Manual Merck de Veterinaria**. Vol. 1. 6ª ed. Barcelona, España: Editorial Océano, p.215-218, 2007.

KRAMPS, J., A.; VAN MAANEN, C.; VAN WETERING, G.; STIENSTRA, G.; QUAK, S.; BRINKHOF, J.; RONSHOLT, L.; NYLIN. A simple, rapid and reliable enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) specific antibodies in cattle serum, plasma and bulk milk. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.64. p.135-144, 1999.

KREY, T., MOUSSAY, E., THIEL, H. J., & RUMENAPF, T.. Role of the low-density lipoprotein receptor in entry of bovine viral diarrhoea virus. **J Virol**, v.80, n.21, p.10862-10867, 2006.

LACKNER, T., MULLER, A., KONIG, M., THIEL, H. J., & TAUTZ, N.. Persistence of bovine viral diarrhoea virus is determined by a cellular cofactor of a viral autoprotease. **J Virol**, n.79, v.15, p. 9746-9755, 2005.

LAUREYNS, J., RIBBENS, S., DE KRUIF, A. Control of bovine virus diarrhoea at the herd level: Reducing the risk of false negatives in the detection of persistently infected cattle. **Vet. J.**, p.184: 21-26, 2010.

LINDENBACK B.D; RICE C.M. **Flaviviridae**: the viruses and their replications. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, editors. **Fields virology**. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 991-104, 2001.

LINDBERG, A.; BROWNLIE, J.; GUNN, G.J.; HOUE, H.; MOENNIG, V.; SAATKAMP, H.W.; SANDVIK, T.; Valle, P.S. The control of bovine viral diarrhoea virus in Europe: today and in the future. **Rev Sci Tech Off Int Epiz.** v.25, n.3, p.961-979, 2006.

LINDBERG, A. & HOUE, H. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance to control. **Preventive Veterinary Medicine**, v.72, p. 55-73. 2005.

LINDBERG, A.L. Bovine viral diarrhoea virus infections and its control: A review. **Veterinary Questions**, v.25, p.1-16, 2003.

LINDBERG, A.L.E.; ALENIUS, S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. **Veterinary Microbiology**, v.64, p. 197-222, 1999.

LOKEN, T. Border disease in sheep. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia, v.11, p.579- 595, 1995.

MARANHÃO. Agencia de Defesa Agropecuária do Maranhão – AGED/MA, 2012. Disponível em: <http://www.sagrима.ma.gov.br/2012/03/12/cresce-producao-de-leite-no-maranhao>. Acesso em 15 jan.2013.

MELO, C.B.; OLIVEIRA, A.M.; FIGUEIREDO, H.C.P.; LEITE R.C.; LOBATO Z.I.P. Prevalência de anticorpos contra o Herpesvirus Bovino-1, vírus da diarreia viral bovina e vírus da leucose enzoótica bovina em bovinos do Estado do Sergipe, Brasil. **Revta Bras. Reprod. Anim.** v.21, n.2, p.160-161, 1997.

MOEN, A.D.; SOL, J.A.N.; SAMPIMON, O.T.L.I.S. Indication of transmission of BVDV in the absence of persistently infected (PI) animals. **Preventive Veterinary Medicine**, v.72, n.1/2, p.93-98, 2005.

MOENNING, V.; HOUE, H.; LINDBERG, A. BVD control in Europe: current status and perspectives. **Animal Health Research Reviews**, v.6,p.63-74,2005.

MOERMAN, A., STRAVER, P.J., DEJONG, M.C.M., QUAK, J., BAAVINGER, T. E VAN OIRSCHOT, J.T. A long term epidemiological study of bovine viral diarrhoea infections in a large herd of dairy cattle. **Veterinary Record**, v.132, p.622-626, 1993.

NISKANEN, R.; LINDBERG, A. Transmission of bovine viral diarrhoea vírus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens. **Veterinary Journal** , v.165,p.125-130, 2003.

NORONHA, R.P.; CAMPOS, G.S.; SARDI, S.I. Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em bovinos jovens. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.424-430, 2003.

O'CONNOR A M, REED M C, DENAGAMAGE T N, YOON K J, SORDEN S D, COOPER V L. Prevalence of calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus in beef cow-calf herds enrolled in a voluntary screening project. **J Am Vet Med Assoc**, v.230, p.1691-1696, 2007.

OIE – World Organization for Animal Health. Chapter 2.4.8. – Bovine Viral Diarrhoea. In: Terrestrial Animal Health Code. OIE Terrestrial Manual. p.698-711, 2008.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. 4th ed. Paris: OIE, 2000.

OLIVEIRA L.G., OLIVEIRA E.A.S. & SILVA L.H.T. Presença de *Pestivirus* e anticorpos contra *Pestivirus* em soros e cultivos celulares. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v.48, n.5, p.513-521, 1996.

PASSLER T, WALZ PH, DITCHKOFF SS, GIVENS MD, MAXWELL HS, BROCK KV. Experimental persistent infection with bovine viral diarrhea virus in white -tailed deer. **Vet Microbiol.** v.122, p.350-356, 2007.

PATON, D.J., CHRISTIANSEN, K.H., ALENIUS, S., CRANWELL, M.P., PRITCHARD, G.C.; DREW, T.W. Prevalence of antibodies to bovine virus diarrhoea virus and other viruses in bulk tank milk in England and Wales. **The Veterinary Record**, v.142, p.385-391, 1998.

PESCADOR, C.A.; CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D.; GONÇALVES, R.K.; CRUZ C.E.F. Neurological disorder associated with pestivirus infection in sheep in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p.935-938, 2004.

PETERS, W.; GREISER-WILKE, I.; MOENNIG, V.; LIESS, B. Preliminary serological characterization of bovine viral diarrhea virus strains using monoclonal antibodies. **Vet Microbiol**, v.12, p.195–200, 1986.

PILLARS, R.B. AND GROOMS, D.L. Serologic evaluation of five unvaccinated heifers to detect herds that have cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. **American Journal of Veterinary Research**, v.63, p.499-505, 2002

POTGIETER, L.N.D. Bovine viral diarrhoea and mucosal disease. In: **Infectious Dis of Livestock**. 2 ed., v.2. Oxford University Press Southern África, Cape Town, p.946-969, 2004.

PETERAHNS, E.; SCHWEIZER, M. Pestiviruses: How to outmaneuver your hosts. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.142, p.18-25, 2010.

QUINCOZES, C.G. **Prevalência e fatores de risco associados às infecções pelos herpesvírus bovino tipo 1 e 5 (BHV-1 e 5) e pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) nos rebanhos dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí.** 2007. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 2007.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W. et al. **Veterinary Medicine- A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**, 10^a ed., Filadélfia: Saunders Elsevier, 2007.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos.** 9.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabra Koogan S.A, p. 974-999, 2002.

RADOSTITS O.M.; GAY C.C.; BLOOD D.C.; HINCHCLIFF K.W. **Congenital defects**, p.120-125. In: Ibid. (Eds), Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 2000.

REINHARDT, G.; CARRASCO, L.; TADICH, N.; RIEDEMANN, S. Comparación entre dos técnicas de diagnóstico para diarrea viral bovina (DVB) en 50 predios de la X región, Chile. Seroneutralization y enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA-I). **Archives of Medicine Veterinary**, v.33, n.2, p.1-15, 2001.

RIBEIRO, J.N; PEREIRA, A.. Aspectos da epidemiologia da infecção e persistência do vírus da diarreia viral bovina em explorações de bovinos leiteiros. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.99, n.549, p.41-51, 2004.

RIDPATH,J.F.; FLORES,E.F. **Flaviviridae.** In: FLORES, E. F. Virologia Veterinária . 1.ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 563 - 591p, 2007.

RIKULA, U; NUOTIO, L., LAAMANEN, U. I. et al. Transmission of bovine viral diarrhoea virus through the semen of acutely infected bulls under fields condition. **Vet. Res.**, v.162, n.3, p. 79-82, 2008

ROEDER, P.L., HARKNESS, J.W. BVD virus infection: prospects for control. **Vet. Rec.**, v.119, p.143–147, 1986.

SALIKI, J.T.; DUBOVI, E.J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.20, n.1, p.69-83, 2004.

SANDVIK T. Progress of control and prevention programs for bovine viral diarrhoea virus in Europe. **Veterinary Clinics of North America/Food Animal Practice**, v.20, p.151–169, 2004.

SCHERER, C. F. C.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; CARON, L.; IRIGOYEN, L. F.; NEVES, J. P.; MACIEL, M. N. Experimental infection of pregnant ewes with bovine viral diarrhoea virus type-2 (BVDV-2): effects on the pregnancy and fetus. **Veterinary Microbiology**, v. 79, p. 285-299, 2001.

SMITH D.V. & GROTELUESCHEN D.M. Biosecurity and biocontainment of bovine viral diarrhoea virus. **Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.** v.20, p.131-149, 2004.

STAHL, K.; KAMPA, J.; ALENIUS, S.; PERSSON WADMAN, A.; BAULE, C.; AIUMLAMAI, S.; BELÁK, S. Natural infection of cattle with an atypical 'HoBi'-like pestivirus - Implications for BVD control and for the safety of biological products. **Veterinary Research**, v.38, n.3, p.517-523, 2007.

TAN MT, KARAOĞLU MT, EROL N, YILDIRIM Y. Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydin Province. **Turk J Vet Anim Sci**, v.30, p. 299-304, 2006.

TARRY, D.W., BERNAL, L. & EDWARDS, S. Transmission of bovine virus diarrhoea virus by blood feeding flies. **Vet. Rec.** v.128, p.82-84, 1991.

THIEL, H-J, PLAGEMANN PGW & MOENNING V. Pestiviruses. In **Fields Virology**, 3rd Ed. vol. 1; p. 1059–1073. Edited by BN Fields, DM Knipe, PM Howley, et al. New York: Lippincott-Rave, 1996.

THURMOND, M.C. Virus Transmission, p.91-104. In: Goyal S.M. & Ridpath J.F. (Eds), **Bovine Viral Diarrhoea Virus: Diagnosis, management and control**. Blackwell Publishing, Oxford, UK, 2005.

TREMBLAY R. Transmission of bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Medicine**, p.858-864, 1996.

TSCHERNE, D.M.; EVANS, M.J.; MACDONALD, M.R.; RICE, C.M. Transdominant inhibition of bovine viral diarrhoea virus entry. **J Virol**, v.82, n. 5, p.2427-2436, 2008

VAN CAMPEN, H. Epidemiology and control of BVD in the U.S. 2009. **Veterinary Microbiology**, V.142, p.94-98, 2010.

VIDOR T. Isolamento e identificação do vírus da Doença das Mucosas no Rio Grande do Sul. **Bolm Inst. Pesq. Vet.** Desidério Finamor (Supl.Esp.), v.2, p.51-58, 1974.

VIEIRA, S.; DIAS F, F. C.; QUEIRÓZ, D. A. O.; BRITO, W. M. E. D. Seroepizootiological study on bovine herpesvirus-1 (BHV-1) and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in cattle from Goiás, Brazil. **Journal of the Brazilian Society for Virology**, v.4, p.58, 1999. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, X, 1999, Curitiba. **Resumos...** Curitiba, PR: Sociedade Brasileira de Virologia, 1999. p. 58.

VILCEK, S., & NETTLETON, P.F. Pestiviruses in wild animals. **Vet Microbiol**, v.116, n.1-3, p.1-12, 2006.

VILCEK S, MOJZISOVÁ J, BAJOVÁ V, PAULÍK S, STROJNÝ L, DURKOVIC B, HIPÍKOVÁ V. A survey for BVDV antibodies in cattle farms in Slovakia and genetic typing of BVDV isolates from imported animals. **Acta Vet Hung**, v.51, p. 229-236, 2003.

VOGEL, F.S.F.; SCHERER, C.F.C.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; LIMA, M.; KUNRATH, C.F. Resposta sorológica e avaliação de proteção fetal em ovelhas prenhes vacinadas contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV). **Ciência Rural**, v.31, n.5, p. 831-838, 2001.

VOGES H., HORNER G.W., ROWE S. & WELLENBERG G.J. Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno-competent, non-viraemic bull. **Vet. Microbiol.** v61, p.165-175, 1998.

XUE, F., ZHU, Y.-M., LI, J., ZHU, L.-C., REN, X.-G., FENG, J.-K., et al. Genotyping of bovine viral diarrhoea viruses from cattle in China between 2005 and 2008. **Vet Microbiol**, 2008.

WRATHALL, A.E.; SIMMONS, H.A.; VAN SOOM, A. Evaluation of risks of viral Transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilization with virus - infected sêmen. **Theriogenology**, v.65,p.247-274,2006.

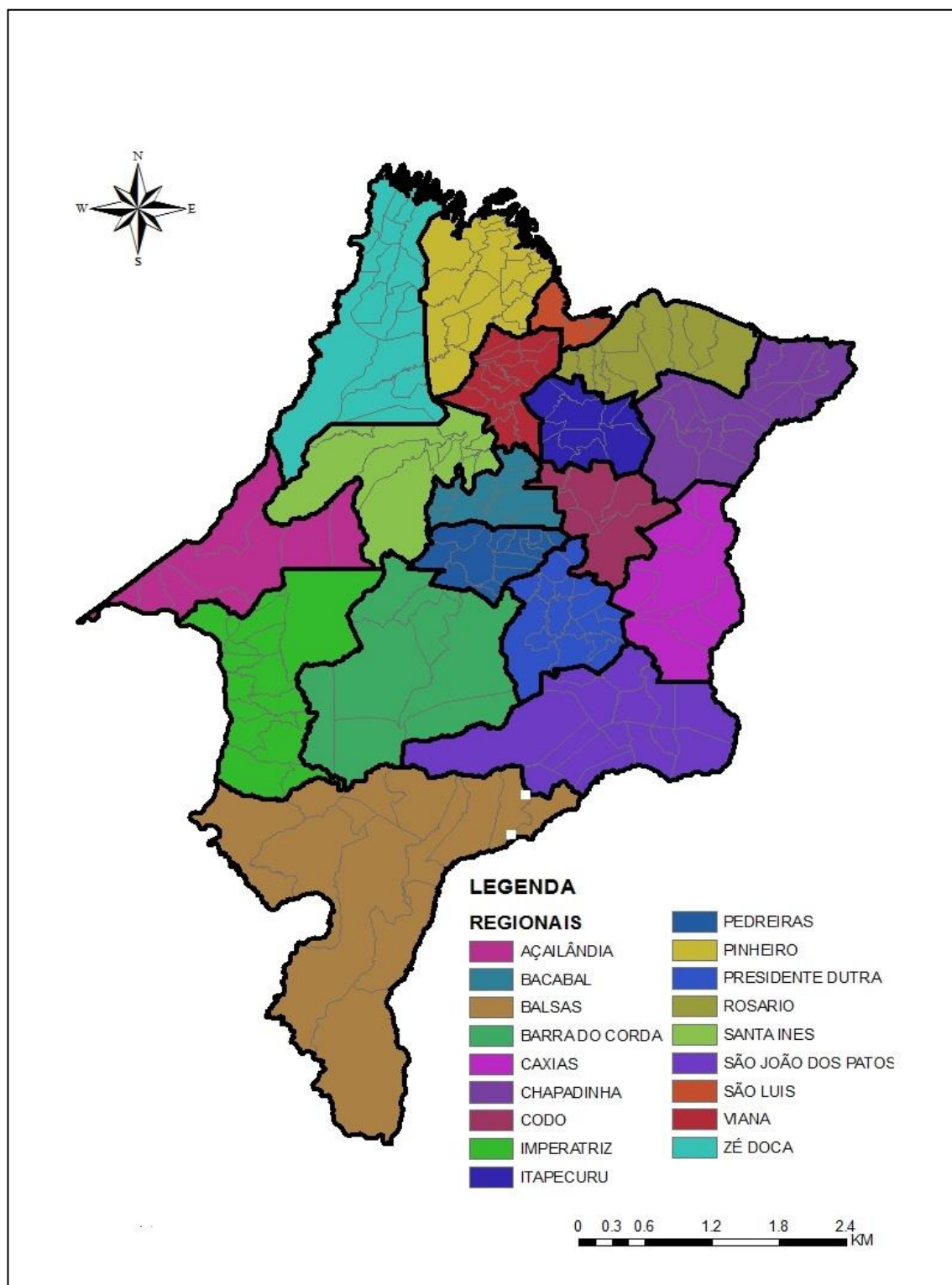
.

ANEXOS

Anexo I. Países em que se encontram documentadas infecções pelo vírus da Diarreia Bovina Viral.

PAÍS	GENÓTIPO	REFERÊNCIA
Alemanha	BVDV-2	(BARROS, RAMOS, PAUPERIO, THOMPSON, & FEVEREIRO, 2006)
Argentina	BVDV-1a	(BARROS et al., 2006; JONES, ZANDOMENI, & WEBER, 2001)
Argentina	BVDV-1b	(JONES et al., 2001)
Argentina	BVDV-2	(BARROS et al., 2006; JONES et al., 2001)
Argentina	BVDV-2b	(BARROS et al., 2006)
Áustria	BVDV-1a, 1e, 1h, 1k	(HORNBERG et al., 2009)
Áustria	BVDV-1b, 1d, 1f, 1g	(BARROS et al., 2006; HORNBERG et al., 2009)
Áustria	BVDV-2a	(GIANGASPERO, HARASAWA, WEBER, & BELLOLI, 2008; HORNBERG et al., 2009)
Bélgica	BVDV-1a, 1b	(COUVREUR et al., 2002)
Bélgica	BVDV-2a	(GIANGASPERO et al., 2008)
Brasil	BVDV-2b	(BARROS et al., 2006)
Canada	BVDV-2	(BARROS et al., 2006)
China	BVDV-1b, 1f, 1m	(XUE et al., 2008)
Coréia	BVDV-1a, 1b, 1n, 2a	(OEM et al., 2009)
Dinamarca	Não especificado	(RADOSTITS et al., 2007)
Eslováquia	BVDV-2a	(GIANGASPERO et al., 2008)
Eslovênia	Não especificado	(GROM & BARLIC-MAGANJA, 1999)
EUA	BVDV-1a, 2	(BARROS et al., 2006)
EUA	BVDV-2a	(BARROS et al., 2006; Giangaspero et al., 2008)
França	BVDV-2a	(GIANGASPERO et al., 2008)
Índia	BVDV-1b	(GALAV et al., 2007)
Inglaterra	BVDV-1a, 1b, 1i	(BARROS et al., 2006)
Irão	Não especificado	(GAROUSSI, HAGHPARAST, & ESTAJEE, 2008)
Itália	BVDV-1e, 2	(BARROS et al., 2006)
Itália	BVDV-2a	(GIANGASPERO et al., 2008)
Japão	BVDV-1a	(BARROS et al., 2006)
Japão	BVDV-1b, 1c, 1d, 1e, 1f	(SEKI et al., 2008)
Japão	BVDV-2a	(BARROS et al., 2006; GIANGASPERO et al., 2008)
Japão	BVDV-So	(SEKI et al., 2008)
Lituânia	Não especificado	(MOCKELIUNIENE et al., 2004)
Moçambique	BVDV-1c	(BARROS et al., 2006)
Moçambique	BVDV-1d	(BARROS et al., 2006)
Namíbia	Não especificado	(POTGIETER, 2004)
Noruega	Não especificado	(RADOSTITS et al., 2007)
Nova Zelândia	BVDV-2a	(BARROS et al., 2006; GIANGASPERO et al., 2008)
Portugal	BVDV-1a, 1b, 1d, 1e, 2a	(BARROS et al., 2006)
Reino Unido	BVDV-2a	(GIANGASPERO et al., 2008)
Suécia	Não especificado	(RADOSTITS et al., 2007)
Suíça	BVDV-1a, 1b, 1e, 1h, 1k	(BACHOFEN et al., 2008)
Tailândia	Não especificado	(KAMPA, ALENIUS, EMANUELSON, CHANLUN, & AIUMLAMAI, 2008)
Turquia	BVDV-1a, 1b, 1d, 1f, 1h, 1l, 2b	(KADIR et al., 2008)
Uruguai	Não especificado	(GUARINO, NUNEZ, REPISO, GIL, & DARGATZ, 2008)
Vietname	Não especificado	(DUONG, ALENIUS, HUONG, & BJORKMAN, 2008)
Zimbabué	Não especificado	(POTGIETER, 2004)

ANEXO II. Mapa das Unidades Regionais de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão



Fonte: AGED/MA

APÊNDICES

APÊNDICE A – FICHA CADASTRAL DA PROPRIEDADE



Ficha nº _____

DADOS GERAIS

Nome da propriedade: _____

Bacia leiteira: _____ Município: _____

Endereço: _____

Nome do proprietário: _____

Raça dos animais: _____ Pelagem: _____

Sistema de criação: _____

1. Número de animais

	Machos	Fêmeas
Até 1 ano de idade		
Entre 01 e 03 anos de idade		
Entre 03 e 07 anos de idade		
Mais de 7 anos		
TOTAL		

2. Ordenha: Nº de ordenhas/dia: _____

3. Reprodução:

() MN () IA () TE

4. Reposição de animais:

() Região () Estado () Outros Estados

Idade: _____

5. Destino dos animais:

() Abate () Venda

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO



Ficha nº _____

INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS

1. Propriedades vizinhas: () Sim () Não
2. Contato com animais de propriedades vizinhas: () Sim () Não
3. Contato com fômites das propriedades vizinhas: () Sim () Não
4. Vacinação: () Sim () Não
() Aftosa () Raiva () Clostridioses () Brucelose
() Leptospirose () Diarréia Viral Bovina
5. Ocorrência de doenças: () Sim () Não
Diagnosticadas: () Sim () Não

SINAIS CLÍNICOS

6. Digestivos: () Sim () Não
Quais: _____
7. Reprodutivos: () Sim () Não
Quais: _____
Eficiência reprodutiva: () Retorno ao cio
() Aumento do intervalo entre cios
() Esterelidade
8. Respiratórios: () Sim () Não
Quais: _____
9. Neurológicos: () Sim () Não
Quais: _____
10. Sacrifício de animais: () Sim () Não

OBSERVAÇÕES: _____