



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

CAIO FERNANDO SOUSA MORAES

**DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO PELO VÍRUS DA DIARREIA
VIRAL BOVINA EM REBANHOS BOVINOS DO MUNICÍPIO DE
PRESIDENTE DUTRA**

São Luís - MA

2017



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

CAIO FERNANDO SOUSA MORAES

**DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO PELO VÍRUS DA DIARREIA
VIRAL BOVINA EM REBANHOS BOVINOS DO MUNICÍPIO DE
PRESIDENTE DUTRA**

Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

São Luís-MA

2017

Moraes, Caio Fernando Sousa.

Diagnóstico do vírus da diarreia viral bovina no município de Presidente Dutra – MA / Caio Fernando Sousa Moraes. – São Luís, 2017.

42 f.

Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2017.

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo.

1. ELISA. 2. Diagnóstico. 3. BVDV. 4. Presidente Dutra. I. Título.

CAIO FERNANDO SOUSA MORAES

**DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO PELO VÍRUS DA DIARREIA EM
REBANHOS BOVINOS DO MUNICÍPIO DE PRESIDENTE DUTRA**

Monografia de Graduação defendida e aprovada em 24/11/2017 pela
banca examinadora composta pelos seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

MSc. Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário

1º examinador

Médico Veterinário Cristian Alex Aquino Lima

2º examinador

Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu pai, Antônio Fernando Santos Moraes que foi a minha maior inspiração para me tornar um Médico Veterinário.

À minha mãe Rosângela de Fátima Sousa Moraes que sempre me apoiou e me incentivou até mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao meu irmão Alex Fernando Sousa Moraes que sempre esteve comigo durante essa jornada me apoiando e compartilhando momentos que a graduação me proporcionou junto com minha irmã caçula Ana Luiza Sousa Moraes.

A Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), que me proporcionou estes anos de aprendizado.

Ao Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo pela paciência, incentivo, ensinamentos e pela orientação.

À Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário pela orientação e pelos ensinamentos.

À Cristian Alex Aquino Lima que auxiliou em minha orientação e foi essencial para a realização deste trabalho.

À toda a equipe do Laboratório de Imunodiagnóstico, que proporcionaram a realização deste trabalho.

À meus amigos Celiz Pedrosa, Leandro Veiga, Rodrigo Fucuta, Hallef Trovão, Ellis Barros, Luciana Veloso, Matheus Moreira, Erika Susane, Diogo Altino, Jessica Lopes, Juliana Alves, Walterlana Sampaio, Raissa Brandão, Douglas Abreu e a todos os meus amigos que a veterinária me deu.

Aos meus amigos de infância Morgana Sereno, Glauciana Araújo, Carol Sereno e Pedro Lopes por acreditarem sempre no meu trabalho.

RESUMO

O vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) é caracterizado como um dos principais patógenos que promovem perdas significativas à bovinocultura de corte e leite em todo o mundo e, por isso, é considerado um dos vírus mais importantes que acometem bovinos. A infecção pelo BVDV pode resultar em uma grande variabilidade de síndromes clínicas que incluem: doença reprodutiva, respiratória ou digestiva, causando prejuízos econômicos sem despertar qualquer suspeita do proprietário ou do médico veterinário. O presente estudo teve como objetivo verificar a ocorrência da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em fêmeas bovinas de corte localizadas em quatro propriedades do município de Presidente Dutra - MA. Foram coletados sangue de 250 fêmeas bovinas de propriedades dentro do município de Presidente Dutra - MA. As amostras de soro obtidas foram testadas através da técnica imunodiagnóstica de ELISA indireto para detecção de anticorpos anti-BVDV. Do total de amostras, 141 (56,4%) foram sororeagentes para BVDV. Com base nesses resultados podemos afirmar a presença do vírus da Diarreia Viral Bovina nos rebanhos do município de Presidente Dutra - MA.

Palavras-chave: BVDV, Presidente Dutra, diagnóstico, ELISA.

ABSTRACT

Bovine viral diarrhea virus (BVDV) is characterized as one of the main pathogens that lead to significant losses to beef and dairy cattle worldwide, therefore it is considered one of the most important viruses that affect bovines. BVDV infection can result in large variability of clinical syndromes including reproductive, respiratory or digestive diseases. It occurs in many cattle herds causing economic losses without arousing any suspicion of the owner nor veterinarian. The present study aimed to verify the occurrence of bovine viral diarrhea virus infection in beef cattle located on properties in the city of Presidente Dutra. Blood samples were collected from 250 female cattle on properties within the city of Presidente Dutra. The serum samples obtained were submitted to indirect ELISA immunodiagnostic technique for the detection of anti-BVDV antibodies. From the total of samples tested, 141 (56.4%) samples were reagents for BVDV in the indirect elisa assay. Based on these results we can affirm that there is a possible presence of bovine viral diarrhea in the evaluated herds and that this disease may be widespread in the Microregion to which the municipality of Presidente Dutra is inserted.

Key-words: BVDV, Presidente Dutra, diagnosis, ELISA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação esquemática do vírus da Diarreia Viral Bovina.....	14
Figura 2 - Mapa do Maranhão com destaque o município de Presidente Dutra.....	24
Figura 3 - Tabela comparando dados de trabalhos realizados no Maranhão.....	28

LISTA DE SIGLAS

BVDV – Vírus da Diarreia Viral Bovina.

BVD – Diarreia Viral Bovina

DM – Doença das mucosas

PI – Persistentemente infectado

OIE – Organização Internacional de Epizootias

ELISA – Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

CP – Citopatogênico

NCP – Não citopatogênico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6. CONCLUSÃO.....	35
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

O Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) é caracterizado como um dos principais patógenos que promovem perdas significativas à bovinocultura de corte e leite em todo o mundo e, por isso, é considerado um dos vírus mais importantes que acometem os bovinos (BAKER, 1995), e está amplamente difundido no rebanho brasileiro (OLIVEIRA et al., 1996). É causada por um RNA vírus da família Flaviridae, gênero *Pestivirus*, espécies BVD-1 e BVD-2 (ICTV, 2000).

A infecção pelo BVDV pode resultar em grande variabilidade de síndromes clínicas que incluem doença reprodutiva, respiratória ou digestiva (diarréia viral bovina, BVD), doença das mucosas (DM) e BVD aguda/hemorrágica (DIAS & SAMARA, 2003). O BVDV ocorre em muitos rebanhos bovinos causando prejuízos econômicos sem despertar qualquer suspeita do proprietário ou do médico veterinário (SMITH; GROTELUESCHEN, 2004).

Mesmo sendo originalmente isolado de casos de doença entérica e historicamente associado a episódios de doença digestiva, o conhecimento atual da patogenia do vírus da BVD mostra que sua atuação essencial está relacionada aos processos reprodutivos de bovinos. Por isso, considera-se que o maior impacto econômico da infecção na pecuária deve-se aos problemas reprodutivos que ocasiona (ELLIS, 1995)

O vírus pode ser transmitido através da saliva, secreções nasais, ocular, urina, fezes, sêmen, embrião, placenta, fômites contaminados e sangue. Os animais se infectam de duas maneiras, pela infecção pós-natal de bovinos que não tiveram exposição prévia ao vírus ou pela infecção fetal durante a gestação. Quando a infecção fetal ocorre entre 90 a 120 dias de gestação produzirá imunotolerância ao vírus e o nascimento de animais persistentemente infectados (PI). Esse animal desenvolverá a doença das mucosas sendo a fonte de infecção mais importante em um rebanho (HOUE, 1999).

Na maioria dos países a BVD é endêmica, com soroprevalência de 50% a 90%, (HOUE, 1999). A infecção pelo BVDV está amplamente difundida no rebanho bovino brasileiro. Isolamentos do vírus foram realizados nas regiões

Sudeste, Centro-Oeste e Sul e nos estados de São Paulo (78%), Rio de Janeiro (71%), Minas Gerais (61%), Goiás (54%), Mato Grosso do Sul (43%), Rio Grande do Sul (73%), Paraná (67%), Bahia (56%), Pernambuco (70%) e Sergipe (64%), os resultados sorológicos comprovam que o vírus está disseminado na população bovina (VIDOR, 1974; DIAS & SAMARA, 2003).

Os sinais clínicos podem ser inespecíficos como febre, diarreia e queda na produção de leite e carne e podem ser mais evidentes, como erosões na mucosa do aparelho digestivo, malformações congênitas e abortos. Entre as principais características do BVDV, destacam-se a sua diversidade e a capacidade de estabelecer infecção persistente. As maiores perdas resultam da infecção de fêmeas prenhes, podendo ocorrer reabsorção embrionária, abortamentos, mumificações, natimortalidade, malformações fetais, nascimento de bezerros fracos, persistentemente infectados (PI) e imunotolerantes ao vírus (DIAS & SAMARA, 2003).

O isolamento viral é o teste diagnóstico de excelência e o método recomendado pela OIE em casos comércio internacional (OIE 2009). Como o isolamento viral requer mais tempo para ser realizado, métodos diagnósticos como a imunohistoquímica e ELISA estão adquirindo importância por serem mais baratos, rápidos e apresentarem boa sensibilidade.(FINO et al., 2012).

O ELISA-indireto é um teste que permite uma rápida e precisa identificação de anticorpos específicos anti-BVDV em amostras de sangue total, plasma, soro e leite de animais infectados ou PI. Indicado para mensurar a prevalência da BVD em rebanhos leiteiros e como teste de rotina, pois permite a avaliação de uma grande quantidade de amostras, não requer um preparo prévio das mesmas e os resultados são obtidos em poucas horas (FINO et al., 2012).

Não há tratamento eficaz para a infecção por BVDV. A prevenção é a forma ideal para erradicar e impedir a reinfecção dentro do rebanho. Os programas de controle englobam medidas de biossegurança e de vigilância, com identificação e posterior eliminação de animais persistentemente infectados e, em alguns casos, é realizada a vacinação do rebanho, fornecendo algum grau de imunidade aos animais.

Devido à importância econômica dessa enfermidade para os produtores de bovinos fêmeas do Maranhão e a falta de estudos científicos relacionados a esta enfermidade na região, é que se propôs a realização desta pesquisa, tendo como foco principal detectar a ocorrência de infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em fêmeas da microrregião de Presidente Dutra.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL:

- Verificar a ocorrência de infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no rebanho de bovinos do município de Presidente Dutra - MA.

2.2 ESPECÍFICOS:

- Verificar a ocorrência de infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV), através do teste de Elisa indireto.
- Determinar a frequência sorológica do vírus da diarreia viral bovina em diferentes unidades produtoras do município Presidente Dutra.
- Comparar os resultados obtidos com os de outras regiões do Estado do Maranhão.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Rebanho bovino brasileiro:

Segundo dados do último censo agropecuário, o Brasil possuía 212,3 milhões de bovinos distribuídos em seu território (IBGE, 2014). As criações brasileiras são predominantemente extensivas com alimentação baseada em pastagem natural, mas há também o emprego do sistema de criação intensivo em algumas propriedades principalmente para terminação de bovinos (confinamento), nesse sistema os animais são alimentados com grãos e volumosos sendo proibido o uso de proteínas de origem animal.

No meio dos criadores de bovinos para corte existe grande heterogeneidade, existindo desde pecuaristas altamente capitalizados a pequenos produtores. Se tratando dos frigoríficos nacionais há também grande heterogeneidade, havendo desde frigoríficos com alto padrão tecnológico a frigoríficos que preenchem somente os requisitos mínimos da legislação sanitária (ABIEC, 2009).

O rebanho brasileiro é composto em sua maior parte por animais da raças zebuínas (*Bos taurus indicus*) e na outra parte é constituído por animais de raças taurinas (*Bos taurus taurus*). O nelore é a principal raça zebuína utilizada na criação extensiva por todo o Brasil. As raças taurinas estão localizadas na região sul e sudeste devido ao clima subtropical da região (ABIEC, 2009).

O nelore assim como a grande maioria dos zebuínos apresenta maior resistência ao calor e resistência a parasitas que as ralas taurinas. Características como pelos curtos e finos, pele com melanina somam bastante para torná-lo muito eficiente na produção de carne em condições de clima tropical e/ou subtropical. Através do cruzamento entre zebuínos e taurinos pode-se obter animais com características bastante desejáveis como rusticidade, acabamento de carcaça e precocidade sexual. Os rebanhos formados com esses animais apresentam melhor conversão alimentar e excelente ganho de peso (ABIEC).

3.2. Histórico da Diarreia Viral Bovina:

Em 1946, nos Estados Unidos da América (EUA), investigadores da Universidade de Cornell descreveram uma nova doença transmissível entre bovinos. Olafson et al. (1946) caracterizaram esta doença por leucopenia, febre alta, depressão, diarreia e desidratação, anorexia, salivação, descargas nasais, erosões gastrointestinais e hemorragias em vários tecidos. Foi relatada a presença desta afecção inicialmente em Nova Iorque pelo Dr. Francis Fox, que considerou estar lidando com uma disenteria de Inverno.

Não foi encontrada nenhuma bactéria no sangue ou tecidos que produzisse os mesmos sinais clínicos em animais saudáveis. Foi considerado, no entanto, a leucopenia grave observada nos animais afetados clinicamente como indicadores de etiologia viral. E então foi denominada como Diarreia Viral Bovina ou em inglês Bovine Viral Diarrhea (BVD) (OLAFSON et al. 1946).

As lesões da BVD assemelhavam-se às da peste bovina, uma doença considerada exótica nos EUA. Contudo, a doença observada por Olafson (1946) e colaboradores não se comportou como a peste bovina. A peste bovina apresentava um quadro clínico mais devastador com alta taxa de transmissão e mortalidade, comparativamente à BVD. Após o relato da forma aguda em Nova Iorque, Childs (1946) descreveu uma doença idêntica, mas mais grave no bovino, no Canadá. Este acontecido foi considerado por Pritchard (1963) como a primeira descrição da Doença das Mucosas (MD).

No ano de 1953, Ramsey e Chivers (1953) relataram a doença das mucosas nos EUA, dando este nome à doença. Igualmente a Olafson (1946), estes estudiosos observaram lesões ulcerativas nas mucosas e diarreia com fezes aquosas, às vezes sanguinolentas. As lesões do trato gastrointestinal verificadas na doença das mucosas eram muito mais graves que aquelas observadas na diarreia viral bovina. A MD afetou apenas alguns animais do rebanho, mas obteve índices mais elevados de casos fatais.

Ainda nos anos 60 do século passado, ficou estabelecido que o BVDV estivesse antígenicamente relacionado com o vírus da peste suína clássica. Mais tarde, evidências sorológicas indicaram que o agente causador da Border

Disease (BDV) em ovinos também estava relacionado com o BVDV e CSFV. (Canario et al., 2009)

Nos anos 70, ficou estabelecido que animais com infecções congênitas com o BVDV eram economicamente desvantajosos e, geralmente, morreriam em poucos meses, mas quando sobreviviam ficavam persistentemente infectados com o vírus e possuíam quantidades deficitárias de anticorpos soroneutralizantes contra o BVDV. As lesões microscópicas dos animais PI foram primeiramente observadas no cérebro e rins.(Cutlip et al. 1980).

Em 2001, a Organização Internacional de Epizootias (OIE) adicionou a BVD à sua lista de doenças, tanto devido à sua propagação a nível internacional, como à sua importância para o comércio de animais. É, assim, um forte sinal que a BVD está a tornar-se uma prioridade internacional.

Em 2002, foi criado um projeto financiado pela União Europeia que pretendia relacionar e partilhar as experiências no controle da BVD na Europa. Juntou médicos veterinários especialistas de 17 países europeus, cujos objetivos específicos incluíam a avaliação das abordagens diagnósticas, comparação de dados epidemiológicos, uso de medidas imunoproláticas, bem como o estudo de fatores socioeconômicos associados ao controle da BVD.

O vírus da Diarreia Viral Bovina tem distribuição mundial e afeta negativamente a pecuária bovina em todo o mundo causando perdas produtivas e reprodutivas, como menores ganhos de peso, baixa na produção leiteira, baixos índices reprodutivos e morte. Os avanços das pesquisas em genética molecular conduziram ao aumento da compreensão da vasta gama de doenças clínicas associadas à BVD.

3.3. Vírus da Diarreia Viral Bovina:

O BVDV pertence à Família Flaviviridae, Gênero Pestivirus, juntamente com outros dois vírus antígenicamente relacionados: o vírus da Peste Suína Clássica (Classical Swine Fever vírus, CSF) e o vírus da Doença da Fronteira que acomete ovinos (Borderdisease vírus), (RADOSTITS et al., 2002, POTGIETER, 2004). O Vírion tem formato arredondado com cerca de 40 a 60

nm de diâmetro e é facilmente inativado por calor, solventes orgânicos e detergentes. O vírus apresenta grande diversidade genômica e antigênica, apresentando estreita relação com os outros membros do gênero *Pestivirus*.

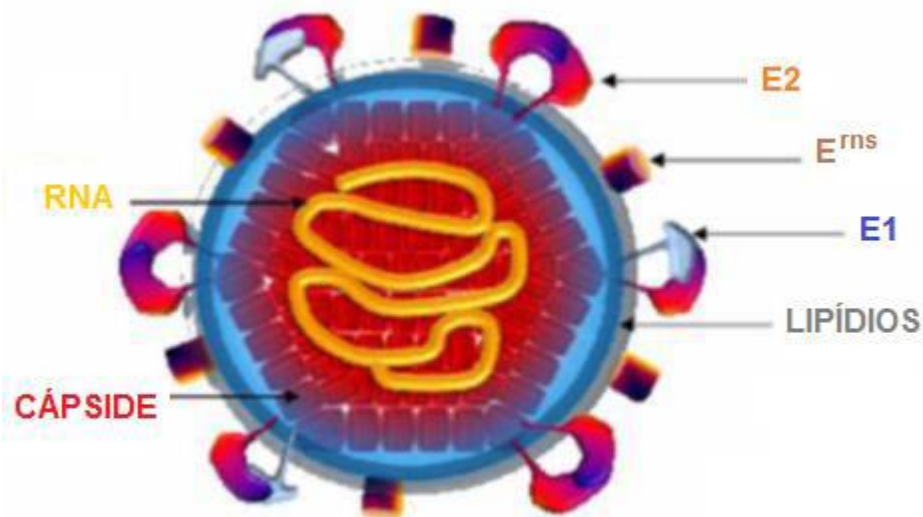


Figura 1. Representação esquemática do vírus da Diarreia Viral Bovina.

Os *Pestivirus* foram originalmente classificados nas espécies BVD, CSFV e BDV com base nos animais hospedeiros originários. Porém, esta classificação mostrou-se problemática, pois alguns *Pestivirus* não estão restritos somente a uma única espécie hospedeira. Por exemplo, o BVDV já foi isolado em animais domésticos, como bovinos, ovinos, suínos, caprinos, e em animais selvagens, como coelhos, búfalos, lamas, alpacas, girafas, antílopes, cervídeos, bem como em outros animais selvagens presentes na África e América. (Canario et al., 2009)

As principais características desse vírus são a sua diversidade e capacidade de se manifestar em forma de dois tipos de infecção, a transitória que induz imunidade e a persistente que é acompanhada e imunitolerância específica (THIEL et al., 1996; VILCEK & NETTLETON 2006; PETERHANS & SCHWEIZER, 2009). O termo BVDV abrange duas espécies distintas BVDV-1 e BVDV-2, anteriormente classificados como genótipos (RIDPATH et al., 1994).

3.4. Biótipos virais:

Existem dois biótipos na natureza, as amostras citopatogênicas (CP) e as não citopatogênicas (NCP), são distintos decorrentes da característica de replicação em culturas de células, induzindo ou não um efeito citopático. Um fator importante na diferenciação destes dois biótipos reside na descoberta de uma proteína chamada P80, esta proteína está presente nas amostras não citopatogênicas como parte de uma proteína maior, a P125. Esta última proteína nas amostras citopatogênicas é clivada em P54 e P80. A proteína P80 é imunodominante, induzindo grande resposta imunológica em todos os animais infectados com amostras citopáticas. O papel da proteína P80 no efeito citopático ainda não está bem esclarecido.

Além desta classificação, as amostras do vírus podem ainda ser divididas em Genótipo I e II, através do perfil de restrição enzimática do genoma. Na natureza, a amostra não citopatogênica é mais comum, causando principalmente infecções intra-uterinas, representando aproximadamente 95% das amostras de campo (CORTESE et al., 1998). O Genótipo II é associado a quadros mais severos da doença, com uma morbidade de até 80% (BARBOSA, 1999)].

3.5. 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).

3.5.1. 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 rápida, 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 rápida diarreia, 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 32 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 colostrar 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).

3.5.2. 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 (RADOSTISTS et al., 2000; FLORES, 2003; GROOMS et al., 2006). Estas consequências da infecção do concepto são dependentes do estágio de gestação em que ocorre a infecção, do desenvolvimento da imunocompetência fetal, do biótipo (CP/NCP) e da cepa viral (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 e o retornos ao cio corre 20 dias após a inseminação (RADOSTITS et al., 2002); (FLORES, 2003).

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).

3.5.3. 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. (Canario et al., 2009).

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 alopécicas e de hiperqueratinização podem aparecer, geralmente, no pescoço. Esses animais podem sobreviver por muitos meses e geralmente morrem após debilitação progressiva (FLORES, 2003).

3.6. Diagnóstico

O diagnóstico clínico de BVD é feito com base na identificação da sintomatologia clínica e nos achados patológicos característicos da doença, porém devido à diversidade de manifestações sintomatológicas, o diagnóstico definitivo só pode ser realizado com o auxílio de testes laboratoriais. O isolamento viral é o teste diagnóstico de excelência e o método recomendado pela OIE em casos comércio internacional (OIE 2009). Para possibilitar uma boa confiabilidade do teste, as amostras devem ser coletadas de maneira asséptica e conservadas sob refrigeração, sendo que o material de escolha para envio deve ser fragmentos do fígado ou baço, mucosa do intestino delgado, linfonodos, sangue total ou soro e sêmen. (Canario et al., 2009).

Como o isolamento viral requer mais tempo para ser realizado, métodos diagnósticos como a imunohistoquímica e o ELISA estão adquirindo importância por serem mais baratos, rápidos e apresentarem boa sensibilidade. O ELISA é um teste que permite uma rápida e precisa identificação de anticorpos específicos anti-BVDV em amostras de sangue total, plasma, soro e leite de animais infectados ou persistentemente infectados. Indicado para mensurar a prevalência da BVD em rebanhos leiteiros e como teste de rotina, pois permite a avaliação de uma grande quantidade de amostras, não requer um preparo prévio das mesmas e os resultados são obtidos em poucas horas (RADOSTITS et al. 2007).

Atualmente, há no mercado *kits* comerciais de ELISA que apresentam alta especificidade e sensibilidade, sendo de grande valia em programas de controle e erradicação da enfermidade (SALIKI & DUBOVI 2004).

3.7. Profilaxia e Controle

A profilaxia das enfermidades causadas pelo BVDV se dá por meio da realização de programas a fim de evitar a entrada de animais PI nas propriedades, assim identificando animais PI e sendo feita vacinações de animais reprodutores. (Canario et al., 2009).

Remoção de animais PI: a detecção e eliminação de animais persistentemente infectados são componentes essenciais do programa de controle em explorações infectadas. A eliminação destes animais irá diminuir a

disseminação do agente e melhorar a saúde do rebanho. Uma das estratégias mais comuns para identificar animais PI é a colheita de amostras de soro de todos os animais do rebanho com idades superiores há três meses para isolamento do vírus através da técnica de imunoperoxidase. Os resultados estão geralmente disponíveis entre cinco a nove dias depois. Todos os vitelos nascidos nos nove a doze meses após o exame devem ser testados, de modo a controlar o nascimento de animais PI infectados *in útero* no momento do exame das progenitoras. Devido à interferência dos anticorpos maternos, os vitelos devem ser reexaminados três a quatro meses antes da vacinação, para assegurar que nenhum animal PI é colocado no grupo dos reprodutores. Todos os animais persistentemente infectados devem ser eliminados. (Canario et al., 2009).

Biossegurança: boas práticas de biossegurança são essenciais para o controle e prevenção da BVD. A introdução ou adição de animais, especialmente fêmeas prenhes, são a forma mais comum para que o vírus se introduza em explorações de leite ou carne. A compra de novilhas, vacas ou touros apresentam menor risco de introdução do BVDV na exploração quando estes animais são testados de forma a assegurar que não estão persistentemente infectados, e quando permanecem de quarentena por 30 dias antes da sua introdução na exploração. O período de quarentena deve ser à base de todos os procedimentos de biossegurança, prevenindo a entrada de infecções transitórias. Se forem compradas fêmeas prenhes, o feto deverá ser tratado como um novo elemento a adicionar. Assim, antes de serem introduzidos no rebanho, a fêmea gestante deve ser examinada para verificar o estado negativo de infecção persistente e o vitelo deve ser testado ao nascimento para assegurar que não é PI. (Canario et al., 2009).

Por sua vez, o contato do rebanho com outros animais cujo estado do teste de despiste do BVDV é desconhecido deve ser prevenido. Deste modo, diminuindo o contato de rebanhos vizinhos através de cercas ou de pastagens comuns, diminui-se também o risco de infecção pelo BVDV. Outros métodos de transmissão do BVDV, tais como fômites transferências embrionárias, inseminação artificial e animais selvagens, devem ser considerados como fontes potenciais de introdução do vírus na exploração. (Canario et al., 2009).

Vacinação: a vacinação é utilizada para reduzir o risco de perdas quando o manejo preventivo está comprometido. Uma estratégia importante para o controle da doença é a vacinação de fêmeas gestantes semanas antes do parto, estimulando a imunidade materna a fornecer proteção ao bezerro por imunidade passiva, especialmente nos dois primeiros trimestres, correspondendo ao período em que o feto está mais susceptível aos efeitos do vírus. A vacinação de animais imunocompetentes que não têm infecções virais persistentes deve fornecer proteção parcial ou total contra infecções fetais, abortos, nati-mortos, atraso no crescimento intrauterino, defeitos congênitos e infecções persistentes nos animais que acabaram de nascer. A proteção contra a infecção fetal varia, aproximadamente, entre 60% a 100%. (Canario et al., 2009).

Outro objetivo de um programa vacinal é assegurar que todas as fêmeas gestantes possuam anticorpos para o vírus antes de ficarem prenhes. A vacinação deverá ser efetuada pelo menos 3 semanas antes da concepção, de modo a ficarem soropositivas para o BVDV. (Canario et al., 2009).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local da coleta

As coletas foram realizadas em propriedades localizadas no município de Presidente Dutra (Figura 2) durante os meses de junho a outubro de 2017.

O município fica localizado na região central do estado e tem como municípios limítrofes Dom Pedro, Gonçalves Dias, Graça Aranha, São Domingos do Maranhão, São José dos Basílios, Tuntum e Santa Filomena. Faz parte da microrregião de Presidente Dutra, na qual é o maior município. Possui clima Tropical e uma vegetação com predominância de Cerrado e Mata dos Cocais.

Devido a sua localização privilegiada no estado do Maranhão, sendo assim, ponto de passagem e alto índice movimentação cambial. Tem também como destaque econômico o comércio, que é um dos principais itens da economia local.



Figura 2. Mapa do Maranhão com destaque o município de Presidente Dutra.

4.2. Coleta de amostras

As amostras foram obtidas por meio de venopunção caudal com seringas estéreis, perfazendo um total de 250 amostras de sangue periférico de vacas pertencentes do município de Presidente Dutra.

As amostras foram mantidas em temperatura ambiente com ângulo de 45° até ocorrer à formação e retração de coágulo, e posteriormente transportadas e armazenadas sob refrigeração, em seguida encaminhadas ao Laboratório de Imunodiagnóstico do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, para posterior processamento e aliquotagem. As amostras foram centrifugadas a 2.000 g, durante 10 minutos para obtenção do soro, o qual foi aliquotado em duplicatas, identificado e armazenado em tubos plástico do tipo polipropileno com capacidade de 2,0 mL e mantidos sob refrigeração a -20°C até a realização dos exames.

4.3. Análises Sorológicas das Amostras

A pesquisa de anticorpos anti-BVDV e anti-IBR foi realizada por kit comercial de ELISA indireto (IDEXX® BVDV total Ab e INDEXX® IBR Gb x3).

No teste para BVD, após a incubação das amostras teste nas cavidades da placa de ELISA, anticorpo foram detectados pelo conjugado anti-bovino. Depois o conjugado não aderido foi lavado, e uma solução de substrato/cromógeno é adicionada. Na presença de enzima, o substrato é convertido em um produto que reage com o cromógeno para gerar uma coloração azul. Após a adição da solução de interrupção (solução *stop*), uma coloração amarela é gerada. A absorvância foi medida utilizando-se um espectrofotômetro (450 nm).

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:

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

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 (absorbância) corrigida da amostra testada

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

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

$\text{CN}_2 A_{450}$ = Densidade óptica (absorbância) 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 ($A-N \leq 0,300$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência de bovinos reagentes para BVDV, no estudo foi de 56,4%(n=141). Este estudo indica que o BVDV está presente no rebanho do município de Presidente Dutra - MA. Em todas as propriedades coletadas foram encontrados animais soro reagentes para o BVDV. Este resultado já era esperado devido a um manejo inadequado dos bovinos e conseqüentemente a ausência de um programa de controle para o BVDV e para outros patógenos.

A frequência de anticorpos anti-BVDV encontrada nos soros das fêmeas analisadas provenientes do município de Presidente Dutra mostrou que esse vírus está disseminado no rebanho da região. Estes dados despertam uma preocupação epidemiológica devido a presença de animais persistentemente infectados nos rebanhos, disseminando o vírus silenciosamente.

Os dados encontrados foram semelhantes aos encontrados por Souto et al. (2016) que obtiveram 55,43% de soropositividade dentre as 460 amostras de soro de fêmeas bovinas analisadas provenientes dos municípios de Açailândia (39,06%), Amarante do Maranhão (28,57%), Bacabal (50,00%), Barra do Corda (64,29%), Bom Jardim (80,00%), Bom Jesus das Selvas (100,00%), Carolina (54,55%), Codó (83,33%), Estreito (23,53%), Grajaú (13,33%), Itapecuru Mirim (60,00%), Itinga do Maranhão(93,55%), Mirador (63,64%), Montes Altos (22,22%), Olho d'água das Cunhãs (80,00%), Parnarama (16,67%), Paulo Ramos (85,71%), Piu XII (100,00%), Riachão (37,50%), Santa Luzia (54,84%), São Francisco do Brejão (6,67%), Timbiras (50,00%) e Vila dos Martírios (57,14%) do Estado do Maranhão.

O percentual de animais reagentes para o BVDV foi próximo ao encontrado por Chaves et al. (2009), Chaves et. al. (2012) e Sousa et. al. (2017), quando observaram uma frequência de 69,44%, 65,66% e 64,56%, respectivamente, em bovinos no Maranhão. Esse valor está de acordo com as estimativas de prevalência de anticorpos contra BVDV na população bovina brasileira, que varia de 50 a 90% (HOUE, 1999).

Oliveira et al., (2012) estudando vacas gestantes abatidas no estado de São Paulo constatou que 46,12% dos animais abatidos foram reagentes para o vírus da diarreia viral bovina.

Em trabalho realizado em bacias leiteiras localizadas nas regionais de São Luís, Bacabal, Açailândia, Imperatriz e Pedreiras. Foram coletadas 920 amostras individuais e 92 coletivas, de animais na faixa etária de 3 a 7 anos e em regime semi-extensivo. Das amostras individuais coletadas, 64,78% (n=596) foram reagentes, 22,61% (n=208) não reagentes e 12,61% (n=116) suspeitas.(MOURA, 2012). Neste trabalho foi utilizado para os testes sorológicos amostras de leite, mostrando que os resultados foram semelhantes aos testes realizados com amostras de soro.

Com o resultado do trabalho podemos comparar com outros estudos feitos em regiões do estado do Maranhão (Figura 3) e observamos que as diferenças entre as regiões estudadas foram mínimas, mostrando que o BVDV está amplamente difundido no estado, e que no município de Presidente Dutra não é diferente.

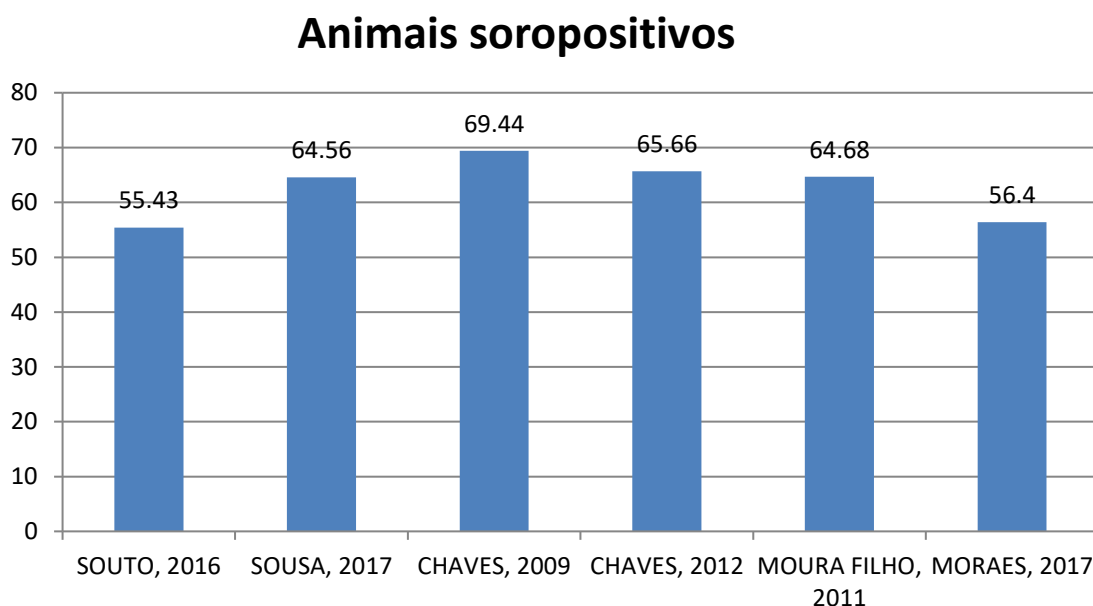


Figura 3. Tabela comparando dados de trabalhos realizados no Maranhão

Polleto et al., (2004) em estudo sorológico na região de Passo Fundo - RS contou com prevalência de, pelo menos, 30% em cada rebanho para o vírus. Esta diferença pode ser explicada por vários fatores, que podem ser densidade bovina, tamanho do rebanho, manejo, dentre outros (NOGUEIRA, 2003). Em Goiás, Brito et al. (2002) observaram 34,5% de amostras positivas para anticorpos contra BVDV.

O resultado obtido nesse experimento é superior ao de Langoni et al. (1995) que foram de 39,5% no Estado de São Paulo e também é superior ao relatado por Pellegrin et al. (1996), onde verificaram positividade em 43,6% no Pantanal.

Samara et al., (2004), tem como conclusão que as maiores ocorrências de animais reagentes ao vírus da diarreia viral bovina são encontradas nos rebanhos com menor índice de tecnificação. É possível que a maior prevalência observada nas propriedades mistas e de criação extensiva, se deve a realização de um número muito reduzido de medidas direcionadas para o controle de problemas sanitários (QUINCOZES et al., 2007. Isso corrobora com os dados obtidos nesse trabalho, já que os locais das coletas não possuíam manejo adequado para o controle e prevenção de infecções provenientes do BVDV.

Ribeiro (2009) em seu estudo constatou que o sistema de criação e o manejo dos animais influenciaram mais na frequência da ocorrência de animais reagente ao BVDV do que a própria região de origem destes bovinos. O autor exemplifica com relação ao desmame dos animais de corte que ocorre simultaneamente, ocorrendo uma concentração de animais, podendo haver a presença de animais persistentemente infectados.

Nogueira (2003) em seu inquérito epidemiológico encontrou 14,3% de animais positivos nas propriedades estudadas, uma frequência baixa com relação às médias nacionais que o autor atribui ao manejo do rebanho, onde a possível aquisição de animais contaminados é muito baixa, devido à dinâmica de produção das propriedades da microrregião de Viçosa - MG como a produção das próprias novilhas para reposição, além da utilização de inseminação artificial. Os resultados encontrados pelo autor não condizem com os resultados encontrados neste trabalho, talvez o alto índice de infecção esteja diretamente relacionado ao manejo dos animais que foram diagnosticados, mas não há dados fidedignos de como funciona o manejo dos mesmos nas propriedades de onde saíram.

Com a presença de anticorpos para o BVDV em todas as propriedades do estudo, se torna necessário a implantação de um programa de prevenção e

controle da doença vista que a infecção resulta em perdas econômicas para o produtor.

6. CONCLUSÕES

- De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que existe a presença do BVDV, mas não há a confirmação de casos clínicos da doença no município de Presidente Dutra até o presente momento.
- A alta frequência de anticorpos anti-BVDV encontrada nos animais estudados demonstra que a enfermidade está disseminada no município e na microrregião no qual este inserido.
- Torna-se necessária à implementação de medidas para controlar e prevenir as doenças relacionadas ao BVDV.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É necessária a realização de estudos soroepidemiológicos com a finalidade de diagnosticar a circulação do vírus da BVDV na microrregião de Presidente Dutra.

Acionar as agências de defesa sanitária animal para propiciar ações que visem o controle das infecções causadas pelo BVDV, como manejo adequado, vacinação e eliminação de animais PI.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES. Estatísticas - Exportação por país importador. Disponível em: <http://www.abiec.com.br>.

ALMEIDA, L. L. Vírus da diarreia viral bovina: detecção e aspectos epidemiológicos. Porto Alegre, 2010. 97f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RGS.

BAKER, J. C. The clinical manifestations of Bovine Viral Diarrhea infection. *Veterinary Clinics of North América: Food Animal Practice*, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 425-445, 1995.

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

BROCK, K.V.; CHASE, C.C. Development of a fetal challenge method for the evaluation of bovine viral diarrhea virus vaccines. *Vet Microbiol*, 2000, 77, p.209–214.

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

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

BROWNLIE, J. Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhea virus. *Vet. Microbiol.* 1990. p. 371-382.

CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P. PEREIRA, H. 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*, Santa Maria, v.40, n.6, p.1448-

1451, jun, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010005000089>.

CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. **Frequência e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em bovinos leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão.** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 79, p., 495-502, 2012.

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.

CORTESE, V.S.; GROOMS, D.L.; ELLIS, J.; BOLIN, S.R.; RIDPATH, J.F.; BROCK, K.V. Protection of pregnant cattle and their fetuses against infection with bovine viral diarrhea virus type 1 by use of a modified-live virus vaccine. **Am J Vet Res**, 1998, 59, p.1409–1413.

DIAS, F.C.; SAMARA, S.I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina no soro sangüíneo, 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.

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

ELLIS, J. A. Comparison of detection methods for bovine viral diarrhea virus in bovine abortions and neonatal death. **J. Vet. Diag. Invest.**, v. 7, p. 433-436, 1995.

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

FINO, T. C. M. Diarreia Bovina a Vírus (BVD) - UMA BREVE REVISÃO. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária.*, v. 34, p. 131-140, 2012.

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.

FLORES, E.F. et al. Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2. **Virus Research**. Vol. 87, 2002, p: 51–60.

FLORES E.F. Divulgação Técnica: vírus da diarreia viral bovina (bvdv). **Biológico**, São Paulo, v.65, n.1/2, p.3-9, 2003.

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.

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

HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea (BVDV) infections. **Vet Microbiol**. 1999; Vol. 64, p: 89-107.

HOUE, H. Economic impact of BVD infection in dairies. **Biologicals**. 2004. Vol.31, p:137-143.

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

Moura Filho, José Manoel de. Detecção de anticorpos contra o Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no leite individual e de conjunto em tanque, de rebanhos não vacinados no Maranhão – Brasil / José Manoel de Moura Filho._São Luís, 2011.93f

McCLURKIN, A.W.; LITTLEDIKE, E.T.; CUTLIP, R.C.; Frank, G.H.; CORIA, M.F.; BOLIN, S.R. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus. **Can J Comp Med**, 1984, 48, p.156–161.

OIE. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2009. Organização Mundial de Saúde Animal.** Disponível em:<<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online>.

OLAFSON, P. et al. An apparently new transmissible disease of cattle. **Cornell Veterinary**, Ithaca, v. 36, p. 205-213, 1946.

OLIVEIRA, L.G., OLIVEIRA, E.A.S., SILVA, L.H.T. et al. Presença de pestivírus e anticorpos contra pestivírus em soros e cultivos celulares. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.48, p.513-521, 1996.

OLIVEIRA, M.C.; Infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em vacas gestantes abatidas no Estado de São Paulo-Brasil. *Medicina Veterinária* v.6, n.2, p.10-17, abr-jun, 2012.

PELLEGRIN, A. O., SERENO, J. R. B., LEITE, R. C. Soropositividade para o vírus da diarreia viral bovina e herpesvírus bovino tipo 1 em vacas Zebu no Pantanal. *Arq. Bras. Med.*

PETERHANS, E.; BACHOFEN, C.; STALDER, H.; SCHWEIZER, M. Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction. *Veterinary Research*, v. 41, n.6, p. 1-14, 2010.

PRITCHARD WR, 1963. The bovine viral diarrhoea disease complex. *Adv Vet Sci* 8:1-47

POLLETO, R. et al., Prevalência de tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.34, n.2, p.595-598, mar-abr. 2004.

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.

QUINCOZES, C.G., et al., ; Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região sul do Rio Grande do Sul; Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 2, p. 269-276, abr./jun. 2007.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C. & HINCHCLIFF, K.W. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10th ed., Saunders-Elsevier, Edinburgh, 2007. 2156 p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Diarreia viral bovina, doença das mucosas, complexo doença pestivirus bovino. In: **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9ed. Ed. Editora Guanabara Koogan S.A: Rio de Janeiro, 2002, p.974-993.

RAMSEY, F. K. CHIVERS, W. H. Mucosal disease of cattle. *North American Veterinarian*, v. 34, p. 629-633, 1956.

RIBEIRO, C.P., Avaliação da virusneutralização cruzada frente a BVDV-1 e BVDV-2 no diagnóstico da diarreia viral bovina em animais naturalmente infectados. Dissertação de mestrado – USP , São Paulo, 2009.

RIDPATH, J. F. Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: Impact of biotype and genotype on U.S. control programs. **Preventive Veterinary Medicine**. Vol. 72, 2005, p: 17–30.

SAMARA, S.I. et al, Ocorrência da diarreia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* (2004) 41: 396-403.

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

SOUTO, L.S. FREITAS.: Frequência de anticorpos contra *Leptospira spp.*, *Brucella abortus*, vírus da diarreia viral bovina e Herpesvírus tipo-1, em rebanho bovino de corte no estado do Maranhão, 2016

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.

SOUSA, Leandro Henrique Veiga de. Ocorrência de infecção pelo vírus da diarréia viral bovina em fêmeas de corte destinadas ao abate / Leandro Henrique Veiga de Sousa.– São Luís, 2017.

SOUSA, V. E.; Bezerra, D. C.; Chaves, N. P.; Santos, H.P. & Pereira, H. M. Frequência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BOHV-1) em fêmeas bovinas leiteiras criadas em sistema de produção semi-intensivo. **Rev. Bras. Med. Vet.**, 35(1):21-25, jan/mar 2013

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.

VILCEK S. & NETTLETON P.F. 2006. Pestiviruses in wild animals. *Vet. Microbiol.* 116:1-12.