

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL  
BOVINA (BVDV) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NO ESTADO  
DO MARANHÃO**

Nancyleni Pinto Chaves

São Luís – MA  
2009

**Nancyleni Pinto Chaves**

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL  
BOVINA (BVDV) EM BOVINOS LEITEIROS NÃO VACINADOS NO ESTADO  
DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada como requisito  
parcial para obtenção do grau de Mestre  
em Ciências Veterinárias.

**Área de Concentração:** Sanidade Animal

**Orientador:** Prof. DSc. Hélder de Moraes Pereira

São Luís – MA

2009

Chaves, Nancyleni Pinto

Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados no estado do Maranhão / Nancyleni Pinto Chaves. – São Luis, 2009.

104f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2009.

Orientador: Prof.Dr. Helder de Moraes Pereira

1.Anticorpos 2.Bovinos leiteiros 3.Frequência I.Titulo

CDU: 636.2.034: 616.935 (812.1)

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 06/03/2009 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

---

Prof. DSc. Ferdinan Almeida Melo

**1° Membro**

---

Prof<sup>a</sup>. DSc. Maria Inez Santos Silva

**2° Membro**

---

Prof. DSc. Hélder de Moraes Pereira

**Orientador**

*Ao meu marido, Danilo Cutrim Bezerra, pela descoberta do amor puro e verdadeiro, pelo amor incondicional, paciência, compreensão e fortaleza em momentos de grandes dificuldades, que sejamos sempre felizes. Aos meus pais, Máximo Lucílio Chaves e Isaudelice Pinto Chaves, grande bênção de Deus concedida em minha vida, exemplo pleno de amor, dedicação e doação, a vocês todo meu amor e minha eterna gratidão. Aos meus irmãos, Nancy Raquel, Nair, Máximo pela grande amizade, amor e carinho. A minha priminha (meia-irmã) Islene Caroline e a minha sobrinha Mariana pela fonte de alegria e pelas brincadeiras!*

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus pela vida e por tudo que consegui até o dia de hoje.*

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

*Ao Professor Orientador Dsc. Hélder de Moraes Pereira, um sincero e especial agradecimento, pela sua dedicação em me orientar e por ter depositado em mim total confiança na execução deste trabalho.*

*Ao Professor Hamilton Pereira Santos, pela amizade, apoio e incentivo durante toda minha vida acadêmica e na pós-graduação. Sou eternamente grata pelas oportunidades que me foram dadas e pela confiança depositada.*

*À Professora Lúcia Maria Coêlho Alves, pelos ensinamentos, pela confiança e oportunidade oferecidas na busca pelo conhecimento.*

*A todos os professores e funcionários da Faculdade de Veterinária, por tornarem possível a minha estada nesta pós-graduação.*

*À Vanessa Evangelista de Sousa, graduanda em Medicina Veterinária, pela ajuda no processamento das amostras, na realização da sorologia, nos sábados e domingos passados no laboratório e pela vibração com os resultados obtidos.*

*Ao funcionário do Laboratório de Virologia, Evangelista, pela amizade e por tornar possível e agradável a minha presença neste laboratório.*

*À Socorro, pela amizade, pelos papos e cafezinhos para descontrair.*

*Ao INAGRO, em nome do Dr. Ataíde, pelo suporte financeiro necessário para realização deste trabalho.*

*Aos funcionários da AGED, Ricardo Wagner Martins, Nádia Oliveira Medeiros, Ana Célia Mendes Melo, Richard Wagner de O. Júnior, Wilson, Manoel, pelo suporte logístico na localização das propriedades.*

*Ao Diretor Geral da Aged, Dr. Sebastião Anchieta, por permitir meu remanejamento deste órgão para a Universidade Estadual do Maranhão.*

*Aos proprietários do Frigorífico Jurandir Brito Industrial LTDA, Arcelino Brito (Coronel), José de Ribamar Cutrim (Zé de Zico), Jacimara Britto, Ana Marieta Brito e Jane Brito, pela adequação da carga horária trabalhada neste estabelecimento e liberação das minhas atividades sempre que foi necessário.*

*À professora Ana Lúcia Abreu, por ter intermediado a realização da leitura das placas de ELISA.*

*À Professora Flávia Raquel e Lucilene Amorim da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), por ter disponibilizado o laboratório de Imunofisiologia para a realização da leitura das placas de ELISA.*

*A Fernando, pela ajuda na normalização da dissertação.*

*A Priscila Menezes, pela ajuda na elaboração do abstract.*

**Muito Obrigada!!!!**

*“Bons alunos se preparam para receber um diploma, alunos fascinados se preparam para a Vida”.*

**Augusto Cury**



## RESUMO

CHAVES, N.P. **Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados no estado do Maranhão.** [Antibodies frequency against the bovine viral diarrhea virus (BVDV) in not vaccinated dairy bovines in the state of Maranhão]. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

O Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) possui distribuição mundial e é considerado um dos principais patógenos de bovinos. É responsável por perdas econômicas tanto na esfera produtiva como reprodutiva. Deste modo, a pesquisa foi realizada, com o objetivo de estabelecer a frequência de anticorpos contra o BVDV na bacia leiteira do estado do Maranhão. Amostras de soro sanguíneo de 920 fêmeas bovinas não vacinadas contra a diarreia viral bovina (BVD) foram analisadas por meio da técnica de ELISA indireto. O estudo foi realizado em 92 propriedades leiteiras, pertencentes a 23 municípios localizados nas regionais de Açailândia, Bacabal, Ilha de São Luís, Imperatriz e Pedreiras. As amostras de soro foram coletadas de fêmeas com ou sem sinais clínicos de infecção pelo BVDV e estratificadas segundo a faixa etária (> 3 anos, entre 3 a 7 anos e > 7anos). Durante a coleta das amostras, aplicou-se questionário epidemiológico para investigar fatores que poderiam estar associados à infecção. Das 920 amostras de soro analisadas, 65,66% (n=604) foram reagentes, 3,80% (n=35) suspeitas e 30,54% (n=281) não reagentes. Nas regionais obtiveram-se frequências de 67,5% (n=108), 53,57% (n=150), 80% (n=96), 63,75% (n=102) e 74% (n=148), para Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal, respectivamente. Nos 23 municípios amostrados foram encontrados animais reagentes, com detecção de bovinos sorologicamente positivos em 94,57% das propriedades. Não se observou diferença significativa ( $P= 0,21$ ) entre a população estratificada por faixa etária. Das variáveis consideradas fatores de risco para a infecção pelo BVDV, a presença de suínos, ausência de assistência veterinária, uso de monta natural ou de monta natural associada à inseminação artificial e diarreia, apresentaram significância estatística ( $P<0,05$ ) associada à soropositividade para BVDV. Os resultados obtidos demonstram níveis elevados de frequência e prevalência do BVDV no rebanho bovino de aptidão leiteira do estado do Maranhão. Esses achados indicam a necessidade da realização de diagnóstico sistemático e monitoramento dos rebanhos, além da implantação de medidas de controle e profilaxia, como remoção gradual de animais infectados, realização de quarentena ao ingresso de novos animais nas propriedades, realização de exames sorológicos e vacinações.

**Palavras - chave:** Frequência, anticorpos, BVDV, ELISA, bovinos leiteiros.

## ABSTRACT

CHAVES, N.P. **Antibodies frequency against the bovine viral diarrhea virus (BVDV) in not vaccinated dairy bovines in the state of Maranhao.** [Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados no estado do Maranhão]. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

The Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) has a wide world distribution and it is considered one of main bovine pathogens. It is responsible for economic losses in the productive and reproductive sphere. In this way, the research was realized, with the objective to establish the frequency of antibodies against the bovine viral diarrhea virus in the state of Maranhão dairy basin. Serum sanguine samples of 920 bovine females not vaccinated against the diarrhea viral bovine (BVD) were analysed through the indirect ELISA technique. The study was realized in 92 dairy properties, belonging to 23 districts located in the regions of Açailândia, Bacabal, São Luiz island, Imperatriz and Pedreiras. The serum samples were collected from females with or without BVDV infection clinical signals and stratified according to aged band (> 3 years, between 3 and 7 years and > 7 years). It was applied an epidemiological questionnaire during the sample collect to research the factors that could be associated to infection. From the 920 serum analysed samples, 65.66% (n=604) were reagents, 3.80% (n=35) suspected and 30.54% (n=281) not reagents. In the regional samples, they obtained frequency of 67.5% (n=108), 53.57% (n=150), 80% (n=96), 63.75% (n=102) and 74% (n=148), for São Luiz island, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras and Bacabal, respectively. In the 23 studied districts reagents animals were found, with detection of serological positives bovines in 94.57% properties. It was not observed significative difference (P=0.21) in the aged band of stratified population. From the considered variables as risk factors for the BVDV infection, the presence of porcine, lack of veterinary assistance, use of natural breeding or natural breeding associated to artificial insemination and diarrhea, presented statistic significance (P<0.05) associated to BVDV seropositivity. The obtained results had demonstrated high levels of frequency and prevalence of BVDV in the state of Maranhão's dairy aptitude bovine flock. These findings indicate the need of systematic diagnose accomplishment and the flock monitoring, beyond the implementation of control and prophylaxis measures, as a gradual removal of infected animals, accomplishment of quarantine of new animals added in the proprieties, accomplishment of serological exams and vaccination.

**Key-words:** Frequency, antibodies, BVDV, ELISA, dairy bovines.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
<b>2.1</b>	<b>Etiologia</b> .....	19
<b>2.2</b>	<b>Epidemiologia</b> .....	21
<b>2.3</b>	<b>Patogenia, Sinais Clínicos e Patologia</b> .....	24
<b>2.3.1</b>	<b>Infecções Pós-Natais</b> .....	24
<b>2.3.1.1</b>	<b>Imunossupressão</b> .....	24
<b>2.3.2</b>	<b>Infecções Pré-Natais</b> .....	25
<b>2.3.3</b>	<b>Doença das Mucosas (DM)</b> .....	27
<b>2.4</b>	<b>Situação da Diarréia Viral Bovina</b> .....	29
<b>2.4.1</b>	<b>Situação da Diarréia Viral Bovina no Mundo</b> .....	31
<b>2.4.2</b>	<b>Situação da Diarréia Viral Bovina no Brasil</b> .....	34
<b>2.5</b>	<b>Diagnóstico</b> .....	41
<b>2.5.1</b>	<b>Ensaio Imunoenzimático (ELISA)</b> .....	42
<b>2.6</b>	<b>Controle e Profilaxia</b> .....	42
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODO</b> .....	48
<b>3.1</b>	<b>Região</b> .....	48
<b>3.2</b>	<b>Propriedades</b> .....	48
<b>3.3</b>	<b>Coleta de Amostras</b> .....	50
<b>3.4</b>	<b>Análise das Amostras</b> .....	52
<b>3.5</b>	<b>Fatores de Risco</b> .....	54
<b>3.6</b>	<b>Análise Estatística</b> .....	54
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	56
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	68
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	75
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	77
	<b>ANEXOS</b> .....	102

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 01** – Distribuição das regionais com seus respectivos municípios, bem como, o número de amostras/propriedade, Maranhão, 2008.....51
- TABELA 02** – Frequência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras de 23 municípios pertencentes a 05 regionais da Bacia Leiteira do Estado do Maranhão, 2008.....57
- TABELA 03** – Frequência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira da Ilha de São Luís - MA, 2008.....59
- TABELA 04** – Frequência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Imperatriz - MA, 2008 .....60
- TABELA 05** – Frequência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Açailândia - MA, 2008..... 61
- TABELA 06** – Frequência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Pedreiras - MA, 2008 .....62
- TABELA 07** – Frequência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Bacabal - MA, 2008 .....63
- TABELA 08** – Fatores de risco para o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas na bacia leiteira do estado do Maranhão, 2008.....65

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** – Mapa do Estado do Maranhão com as principais regionais produtoras de leite.....49
- FIGURA 2** – Fotografia da coleta de sangue, acondicionamento e processamento das amostras de soro sangüíneo de fêmeas bovinas leiteiras: (a) punção da veia jugular, (b) tubos vacutainer siliconizados com amostras de sangue, (c) material para obtenção das amostras de soro, (d) tubos eppendorf com amostras de soro em duplicata.....52
- FIGURA 3** – Fotografias da técnica de ELISA-indireto para identificação de anticorpos anti-BVDV: (a, b, c) sensibilização da placa de poliestireno com o diluente da amostra; (d, e, f) adição dos controles positivos e negativos; (g) adição dos soros a serem testados; (h) placas sensibilizadas com os respectivos soros e incubada em câmara úmida; (i) lavagem da placa de poliestireno após a incubação; (j, l) adição do conjugado; (m) placa na leitora de ELISA após a adição do substrato e da solução de parada.....53
- FIGURA 4** – Freqüência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas da bacia Leiteira do estado do Maranhão, 2008 .....56
- FIGURA 5** – Gráfico da freqüência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras nas regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal, 2008 .....56
- FIGURA 6** – Freqüência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em 23 municípios da bacia leiteira do estado do Maranhão, 2008.....58
- FIGURA 7** – Freqüência de fêmeas bovinas positivas para o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) de acordo com a faixa etária, Maranhão, 2008. ....64
- FIGURA 8** – Prevalência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras nas regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal do estado do Maranhão, 2009.....66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- BVD** – Diarréia viral bovina
- BVDV** – Vírus da diarréia viral bovina
- CP** – Citopatogênico
- NCP** – Não citopatogênico
- BVDV-1** - Vírus da diarréia viral bovina tipo 1
- BVDV-2** - Vírus da diarréia viral bovina tipo 2
- PI** – Persistentemente infectados
- DM** – Doença das Mucosas
- EIE** – Ensaio imunoenzimático
- ELISA** - Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- I-ELISA** – Elisa indireto
- PCR** - reação de polimerase em cadeia
- IBR** – Rinotraqueíte Infecciosa Bovina
- PI-3** – Parainfluenza
- DCs** – Células dendríticas
- APC** – Células apresentadoras de antígeno
- IFI** - Imunofluorescência Indireta
- SN** – Soroneutralização
- MEM** - Meio Mínimo Essencial Eagle
- MDBK** - células de rim bovino
- IHQ** - Imunohistoquímica
- IPX** - Immunoperoxidase
- IA** – Inseminação artificial
- MN** – Monta natural
- TSN** - Anticorpos soroneutralizantes
- OD** – Densidade óptica

# *Introdução*

---

## **1 INTRODUÇÃO**

A Diarréia Viral Bovina (BVD) é uma das doenças mais importantes dos bovinos (VOGEL et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003; NORONHA et al., 2003, BACHOFEN et al., 2008). O agente etiológico é um RNA vírus da família Flaviviridae, gênero Pestivirus, espécies BVD-1 e BVD-2 e biotipos citopatogênico (CP) e não-citopatogênico (NCP) (ICTV, 2000). O vírus é altamente infeccioso (LONERAGAN et al., 2005) e apresenta instabilidade do material genético o que confere variação antigênica, genotípica e biotípica ao vírus (DONIS, 1995; STAHL et al., 2009).

A infecção pelo BVDV pode resultar em grande variabilidade de sinais clínicos associados a enfermidades reprodutiva, respiratória ou digestiva (diarréia viral bovina, BVD), doença das mucosas (DM) e BVD agudo-hemorrágica (VOGEL et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003, GROOMS, 2004). 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).

O vírus pode ser transmitido através da saliva, secreções nasal, ocular, urina, fezes, sêmen, embrião, placenta, fômites contaminados e sangue (REVELL et al., 1988; KIRKLAND et al., 1991; MOENNIG & PLAGEMANN, 1992; HOUE et al., 1993; VOGEL et al., 2001, MARLEY et al., 2009).

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; RADOSTITS et al., 2002; POTGIETER, 2004, BACHOFEN et al., 2008).

O vírus tem distribuição mundial, sendo descrito como um sério problema sanitário gerando perdas produtivas e reprodutivas (CANAL et al., 1998; REINHARDT et al., 2001; BRACKENBURY et al., 2003; DIAS & SAMARA, 2003; KUNRATH et al., 2004, DIÉGUEZ et al., 2008). Na maioria dos



países a BVD é endêmica, com soroprevalência de 60 a 85%, com 1 a 2% de animais PI (HOUE, 1999).

No Brasil, foram realizados isolamentos do BVDV nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Sul (VIDOR, 1974; LOVATO, 1998; FLORES et al., 2000a; PINTO et al., 2001) e nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul, Paraná, Bahia, Pernambuco e Sergipe, os inquéritos sorológicos comprovam que o vírus está disseminado na população bovina destes estados (PITUCO et al., 1997; DIAS & SAMARA, 2003).

O diagnóstico da BVD é realizado através da detecção do vírus (ou componentes virais) e da demonstração de anticorpos específicos. O isolamento do vírus em cultivo celular confirma a presença desse agente nos animais infectados (RIET-CORREA et al., 1996; REINHARDT et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003). A identificação final do vírus pode ser feita também por diferentes métodos, como as técnicas de soroneutralização, imunofluorescência, imunoperoxidase, reação de polimerase em cadeia (PCR) e ensaio imunoenzimático (EIE) (ROEHE, 1996; SANDVIK, 1999; GUIMARÃES et al., 2000; DIAS & SAMARA, 2003; PILZ, 2005).

A profilaxia e controle da infecção pelo BVDV consistem fundamentalmente na identificação e remoção de animais PI das propriedades, com ou sem a utilização concomitante de vacinas (FULTON & BURGE, 2001). Atualmente, os esforços concentram-se na elaboração de vacinas que induzam uma resposta imunológica capaz de conferir proteção fetal e impedir a geração de bezerros com infecção persistente (BEER et al., 2000; LINDBERG, 2003, ARENHART et al., 2008).

Deste modo, considerando a importância que a Diarréia Viral Bovina possui nos rebanhos bovinos, principalmente aqueles voltados à exploração leiteira, juntamente à ausência de dados soro-epidemiológicos da ocorrência desta enfermidade nos rebanhos do Maranhão, o que torna o trabalho pioneiro no estado, aliado ainda a práticas deficientes de sanidade nas propriedades, o presente trabalho objetivou estabelecer a frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV), em bovinos não

vacinados, na bacia leiteira do Maranhão, estimar a prevalência da diarreia viral bovina, identificar a faixa etária de fêmeas bovinas em que mais ocorre a doença, avaliar possíveis fatores de risco associados à enfermidade e sugerir medidas sanitárias e de controle para a BVD.

# *Revisão de Literatura*

---

---

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

A denominação “Diarréia Viral Bovina (BVD)” abrange uma série de manifestações clínico-patológicas que variam desde infecções inaparentes até uma enfermidade altamente fatal. Essa denominação deve-se ao fato do agente ter sido inicialmente identificado em casos de doença gastroentérica em bovinos. Posteriormente, a infecção foi associada a uma ampla variedade de sinais clínicos, incluindo sinais respiratórios, digestivos, reprodutivos, hematológicos, imunodepressivos e neurológicos (BAKER, 1990; BOTTON et al., 1998a; FLORES et al., 1999; GROOMS, 2004). Atualmente, o vírus é reconhecido como sendo responsável por diversas manifestações clínicas e perdas econômicas importantes em rebanhos de corte e leite em todo o mundo (LINDBERG, 2003; DIÉGUEZ et al., 2008).

### **2.1 Etiologia**

O agente etiológico da diarréia viral bovina é um vírus denominado BVDV (vírus da diarréia viral bovina), classificado na família Flaviviridae e membro do gênero Pestivirus. O gênero Pestivirus abriga outros dois vírus antigenicamente relacionados, o vírus da peste suína clássica (CSFV) e o da doença da fronteira (BDV), dos ovinos (BAKER, 1987; FRANCKI et al., 1991; HORZINEK, 1991; ICTV, 2000).

O BVDV mede de 40 a 60 nm de diâmetro (FRANCKI et al., 1991) e está entre os menores vírus RNA envelopados que causam infecções em animais (HORZINEK, 1981). O seu genoma é constituído por um único segmento de RNA, fita simples, com aproximadamente 12,5 Kb de extensão (RENARD et al., 1985; FRANCKI et al., 1991). O vírus possui um nucleocapsídeo icosaédrico envolto por um envelope lipoprotéico contendo glicoproteínas virais: gp48/E0, gp25/E1, gp53/E2 e NS23 (DONIS, 1995).

As glicoproteínas estruturais E0, E1 e E2 localizadas no envelope viral exercem funções importantes no revestimento protetor do ácido nucléico viral e permitem sua saída da célula infectada, bem como sua entrada em outras células (DONIS, 1996). A proteína NS23/p125 é considerada a mais importante na replicação viral. Esta proteína é responsável ainda pela produção da

proteína NS3/p80 que está correlacionada à formação de citopatologia em culturas de células (FRANCKI et al., 1991; DONIS, 1995).

Uma das importantes características do BVDV é a grande diversidade antigênica, genotípica e biotípica do vírus (DONIS, 1995). Algumas evidências indicam que a alta instabilidade em seu genoma devido à alta frequência de mutações, a propensão à recombinação e a pressão seletiva pela resposta imune estimulada por infecções naturais ou vacinações explicariam tal fato (BOLIN & GROOMS, 2004).

O BVDV apresenta dois grupos antigênicos baseados na sua replicação em cultura de células designados como biotipos não-citopatogênico (NCP) e citopatogênico (CP) (MEYERS & THIEL, 1996, FRAY et al., 2000). O NCP é mais comumente isolado no campo; replicam em cultura de células sem causar nenhum efeito citopático (BAKER, 1987), e podem atravessar a placenta estabelecendo infecção persistente (FRAY et al., 2000). Este biotipo é responsável pela circulação permanente do BVDV na população bovina (BROWNLIE, 1990; BOOTH et al., 1995). Em contraste, o biotipo CP, que se origina de mutações do vírus NCP (CORAPI et al., 1988; DONIS, 1995), produz efeito citopático característico, que se traduz em vacuolização citoplasmática e morte celular (GILLESPIE et al., 1960; ZHANG et al., 1996) e é incapaz de estabelecer infecção fetal persistente (BROWNLIE et al., 1989).

Uma posterior classificação do vírus, baseado em diferenças encontradas na seqüência genética de uma região do genoma, conhecida como região 5'UTR, determinou a existência dos genótipos 1 (BVDV-1) e 2 (BVDV-2), estes com diferenças a nível molecular e quanto à severidade dos sinais clínicos que produzem (RIDPATH et al., 1994). Além disso, tem sido proposta uma subclassificação de isolados do BVDV-1 em 11 subgenótipos (VILCEK et al., 2001; STAHL et al., 2009) e do BVDV-2 em pelo menos dois subgrupos, 2a e 2b (FLORES et al., 2002).

O BVDV-1 inclui isolados clássicos de virulência baixa ou moderada, além de cepas tradicionalmente usadas na pesquisa (ex: Oregon C24V, Osloss), 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).

## **2. 2 Epidemiologia**

O BVDV apresenta distribuição mundial, sendo considerado um dos principais patógenos de bovinos. Infecções nos rebanhos são muito comuns, as quais são evidenciadas por altas taxas de animais soropositivos na população bovina com idade acima de 3 anos (VOGEL et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003; NORONHA et al., 2003, BACHOFEN et al., 2008).

O vírus é altamente infeccioso para bovinos (LONERAGAN et al., 2005). A prevalência média de animais portadores de anticorpos situa-se entre 60% e 90% nos diferentes países (BROWNLIE, 1990). Entretanto, a incidência da Doença das Mucosas (DM) clínica é baixa, pois normalmente a prevalência dos bovinos persistentemente infectados (PI) no rebanho é de aproximadamente 1 a 2% (RADOSTITS et al., 2002).

O vírus da BVD é patógeno não só para bovinos, como também para ovinos, caprinos e ruminantes selvagens, cabendo aos suínos a habilidade de se tornarem infectados assintomaticamente. Entretanto, o bovino é a única espécie capaz de desenvolver a DM (SNOWDON, 1975; HARKNESS et al., 1978; DOYLE & GEUSCHELE, 1983).

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 soroepidemiológicos, relatos clínicos e isolamentos de vírus têm demonstrado que a infecção está amplamente difundida no rebanho bovino brasileiro (VIDOR, 1974; PITUCO et al., 1997; LOVATO, 1998; FLORES et al., 2000a; PINTO et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003, SILVA et al., 2004).

Amostras dos dois genótipos e com diferenças genéticas e antigênicas marcantes das cepas americanas já foram identificadas no Brasil (BOTTON et al., 1998b, FLORES et al., 2002). Essa diversidade genética e antigênica possui implicações práticas para o diagnóstico, produção de vacinas e

programas de controle da enfermidade (FLORES et al., 2002, RIDPATH 2003a).

A situação epidemiológica atual da infecção no país ainda é pouco conhecida. Isso se deve, em parte, ao pequeno número de laboratórios que realizam o diagnóstico da infecção. Informações de veterinários de campo indicam que é provável que ocorra um maior número de casos sem diagnóstico, especialmente da forma reprodutiva. Da mesma forma, é possível que ocorra subnotificação, com grande parte dos diagnósticos sendo realizados a campo, sem confirmação laboratorial (FLORES, 2003).

A transmissão do BVDV pode ocorrer através de dois principais mecanismos: contato direto ou indireto com animais virêmicos e suas secreções e infecção transplacentária. Pritchard (1956; 1963) observou que o vírus pode ser transmitido horizontalmente pelo contato direto com secreções orais e nasais, ou pelo contato indireto com fetos abortados e placentas. A infecção oronasal é considerada uma das principais vias de transmissão do BVDV.

As principais fontes de infecção para o rebanho são os animais infectados ou clinicamente assintomáticos através de secreções nasais, saliva, sangue, fezes e urina, sêmen, secreções uterinas e placenta (CORIA & MACCLURKIN, 1978; STECK, 1980; KAHRS, 1981; STUBER, 1984; REVELL et al., 1988; KIRKLAND et al., 1991; MOENNIG & PLAGEMANN, 1992; HOUE et al., 1993; VOGEL et al., 2001, MARLEY et al., 2009).

A possibilidade de infecção venérea foi constatada por Whitmore et al. (1978) e Kirkland et al. (1991) ao observarem que o sêmen de reprodutores cursando a forma aguda da doença pode se tornar fonte transitória de infecção. Revell et al. (1988) constataram que o BVDV pode estar presente no sêmen de reprodutores com infecção persistente e ser eliminado intermitentemente, difundindo assim a infecção (McCLURKIN et al., 1979). Além disso, o homem pode contribuir para a disseminação do vírus, através de instrumentos de trabalho, inseminação artificial, transferência de embriões, premunição contra Babesiose e Anaplasiose e vacinas contaminadas com o BVDV (MOENNIG & PLAGEMANN, 1992).

A infecção transplacentária ocorre em fêmeas prenhes suscetíveis, situação em que o vírus invade o placentoma multiplica-se e alcança o feto (CASARO et al., 1971). A capacidade de o BVDV estabelecer infecções persistentes “*in utero*” (BROWNLIE et al., 1984) faz com que o animal infectado albergue o vírus provavelmente durante toda sua vida, o que o torna um reservatório capaz de transmitir o vírus a outros animais (HOUE et al., 1993). Acredita-se que a infecção persistente esteja associada somente à amostra NCP, pois esta não comprometeria o desenvolvimento fetal (BROWNLIE et al., 1989; OSBURN, 1989), ao passo que as amostras CP levariam à interrupção da gestação. O vírus NCP, infectando o feto no período em que ele ainda não é imunocompetente, será reconhecido como “próprio”, instalando-se a imunotolerância específica à amostra infectante (BROWNLIE et al., 1987; BROWNLIE, 1990).

O estabelecimento de infecções persistentes, provavelmente representa o mais importante fator na manutenção dos pestivirus na natureza (CORIA & McCLURKIN, 1978). Ocasionalmente, fêmeas PI podem sobreviver até a idade reprodutiva e dar origem a “famílias” de animais PI, as quais são perpetuadas através de infecções transplacentárias (LITTLEJOHNS & WALKER, 1985).

Animais PI representam aproximadamente de 1 a 2% da população bovina e são os maiores disseminadores do vírus nos rebanhos (BOLIN et al., 1985c; HOWARD et al., 1986; EDWARDS et al., 1987; PETERS et al., 1987; VAN OIRSCHOT, 1998). A prevalência de animais virêmicos aparentemente baixa observada é suficiente para manter o vírus na população (BAKER, 1995). Apesar da prevalência de animais PI ser usualmente baixa, esta pode ser muito alta em determinados rebanhos (BOLIN et al., 1985c; FREY et al., 1991). Bolin et al. (1985c) em uma única propriedade onde testou 115 animais, isolou vírus de 31 amostras, representando 27% de animais virêmicos no rebanho.

Os animais PI representam o ponto-chave da epidemiologia da infecção pela sua importância na perpetuação e disseminação do vírus; e por isso constituem-se no alvo principal de medidas de combate do agente (FLORES, 2003).



## **2.3 Patogenia, Sinais Clínicos e Patologia**

A patogenia depende de fatores interativos múltiplos envolvendo as fases intra-uterina e pós-natal e de fatores imunológicos do hospedeiro (BIELEFELDT-OHMANN, 1995; RADOSTITS et al., 2002; POTGIETER, 2004).

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).

### **2.3.1 Infecções Pós-Natais**

A infecção de animais imunocompetentes pelo BVDV NCP é na maioria das vezes assintomática, caracterizada por quadros sub-clínicos, ocasionalmente causando uma infecção aguda relativamente leve (BROWNLIE, 1985), por amostras do BVDV-1 (PELLERIN et al., 1994). Algumas cepas de maior patogenicidade podem provocar um curto período febril, acompanhado por hipersalivação, descarga nasal, tosse e diarreia. Sinais de infecção respiratória também podem ser observados. Lesões ulcerativas na mucosa oral podem estar presentes. A enfermidade é autolimitante, cursando com alta morbidade e letalidade muito baixa ou ausente (FLORES, 2003).

As amostras de BVDV- 2 têm sido freqüentemente associadas à BVD aguda, à doença respiratória severa, e algumas vezes à síndrome hemorrágica que cursa com trombocitopenia. Pode afetar bovinos jovens e adultos e tem alta letalidade, principalmente nos animais jovens (USDA, 1994). Alguns animais morrem de forma hiperaguda. Surtos com 40% de morbidade e 10% de mortalidade, com sinais de diarreia, pirexia e agalactia em bovinos adultos foram também diagnosticados como BVDV-2. Embora freqüentemente associadas à doença severa, cepas de BVDV-2 podem ser nada ou pouco virulenta, a exemplo da maioria das cepas de BVDV-1 (FLORES, 2003).

#### **2.3.1.1 Imunossupressão**

Durante o curso da BVD ocorre imunossupressão, caracterizado por diminuição da produção de interferon (MALMQUIST, 1968), e pela queda no

número de neutrófilos e linfócitos B e T circulantes (BOLIN et al., 1985d). Esta imunossupressão pode ocasionar o aumento da patogenicidade de agentes secundários no trato respiratório e digestivo, como o vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Parainfluenza-3 (PI-3), pneumonias microfibrinopurulentas por *Mannheimia (Pasteurella) hemolytica* e diarreias por *Salmonella spp*, Coronavírus ou Rotavírus (BAKER, 1987).

O mecanismo de imunossupressão induzido pelo BVDV não foi estabelecido, embora especulações tenham sido importantes, baseado amplamente em observações *in vitro* (POTGIETER, 1995).

A capacidade do BVDV de causar imunossupressão pode estar relacionado ao tropismo do vírus por células do sistema imune. O vírus infecta células TCD4+ e células TCD8+, células B e células apresentadoras de antígeno (APC) *in vivo* (BRUSCHKE et al., 1998, SOPP et al., 1994). Monócitos, macrófagos e células dendríticas (DCs) constituem a maioria de APCs envolvidas na resposta imune. Destas APCs, as DCs são as mais efetivas e tem a habilidade para iniciar uma resposta imune primária em animais novos (BANCHEREAU et al., 2000). Além disso, o BVDV tem sido relatado por modular funções de células imunes após infecção *in vitro*, com aumento na produção de óxido nítrico em macrófagos infectados, diminuição na produção de Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), redução da expressão de receptores para Fc e proteínas do complemento (C3) e da atividade fagocítica de macrófagos alveolares (WELSH et al., 1995).

### **2.3.2 Infecções Pré-Natais**

A gestação é o período mais importante na infecção e disseminação do BVDV (CASARO et al., 1971; CORIA & McCLURKIN, 1978). Após a infecção de fêmeas prenhes, o BVDV é capaz de atravessar a placenta e infectar o feto. A infecção fetal é responsável pelos maiores impactos econômicos causados pelo vírus (FLORES, 2003). O resultado da infecção pré-natal dependerá do período da gestação em que ela ocorre e o biotipo do vírus infectante (OSBURN, 1989; BROWNLIE, 1990).

A patogenia da infecção durante os primeiros 30 dias de gestação ainda é incerta, em nível de células germinativas e implantação embrionária (BROWNLIE, 1990). Nesta época, o estabelecimento da infecção persistente pode ocorrer, mas é provavelmente um evento raro (PATON et al., 1990). Neste estágio inicial, poucos casos de infecção transplacentária ocorrem (WHITMORE et al., 1978), provavelmente porque o contato entre o epitélio maternal e o trofoblasto não é suficientemente íntimo (KENDRICK, 1976). Vários autores observaram que o BVDV, neste período, pode causar queda nos índices de concepção, morte fetal ou reabsorção embrionária e infertilidade temporária (McCLURKIN et al., 1979; WHITMORE et al., 1981; GRAHN et al., 1984; BARLOW et al., 1986; VIRAKUL et al., 1988; PATON et al., 1990; HOUE et al., 1993).

A infecção com o BVDV no período entre 37 e 99 dias de gestação leva freqüentemente ao aborto (CASARO et al., 1971; MEYLING et al., 1987), mas também pode causar mumificação fetal e nascimento de natimortos (SCOTT et al., 1973; McCLURKIN et al., 1984; BROWNLIE et al., 1989). Mumificações fetais têm sido ocasionalmente encontradas nas infecções induzidas até 107 dias de gestação (SCOTT et al., 1973).

De especial interesse epidemiológico é a infecção fetal nos primeiros 90 a 120 dias de gestação por cepas NCP que gera animais PI. Os fetos que resistem à infecção freqüentemente se tornam imunotolerantes ao vírus. Podem nascer e se desenvolver normalmente, apesar de alguns nascerem fracos e morrerem nos primeiros dias de vida. Os animais PI permanecem portadores por toda a vida e geralmente não apresentam anticorpos contra o vírus. A infecção destes animais PI por cepas citopatogênicas determina o aparecimento da doença das mucosas (DM) (LIESS et al., 1984; McCLURKIN et al., 1984; BROWNLIE et al., 1989; FLORES, 2003).

Infecção no período aproximado de 110 a 150 dias, pode resultar em malformações ou degenerações de órgãos fetais (CASARO et al., 1971; BROWN et al., 1973; DONE et al., 1980; BAKER, 1987). Nesta fase da gestação, o SNC é um alvo comum nas infecções pelo BVDV, podendo dar origem a lesões cavitativas ou anomalias anatômicas, como hipoplasia

cerebelar, microcefalia, mielinização deficiente na medula espinhal e, nos olhos, pode determinar, atrofia ou displasia da retina, catarata, microftalmia, podendo observar-se ainda, aplasia tímica, braquignatismo e retardo de crescimento que, dependendo de sua gravidade ou localização, podem ocasionar a morte ou aborto (SCOTT et al., 1973; LIESS et al., 1984; BROWNLIE, 1990; FLORES, 2003).

Aproximadamente após os 150 dias de gestação o feto está geralmente apto a desenvolver uma resposta imunológica eficaz, sendo capaz de responder à infecção e eventualmente eliminar completamente o vírus. Ao exame do soro fetal (pré-colostral), a presença de anticorpos neutralizantes específicos pode ser a única alteração notável no recém-nascido (CASARO et al., 1971; BROWN et al., 1979).

### **2.3.3 Doença das Mucosas (DM)**

Os animais persistentemente infectados estão sujeitos a desenvolver uma síndrome usualmente fatal produzida pelo BVDV, denominada Doença das Mucosas (DM) (LIESS et al., 1974). Esta é uma enfermidade com manifestação severa que acomete animais geralmente entre 6 e 24 meses de idade, levando invariavelmente a morte (BROWNLIE et al., 1984). A doença ocorre quando um animal PI infectado com o vírus NCP é superinfectado com o vírus CP "homólogo". A estreita semelhança antigênica dos "pares" de amostras CP e NCP isoladas de casos de DM foi verificada pela similaridade nos títulos neutralizantes produzidos pelos pares de amostras (HOWARD et al., 1987), pela semelhança nos pesos moleculares dos polipeptídeos imunoprecipitados (POCOCK et al., 1987) e pelo perfil de reatividade antigênica (CORAPI et al., 1988). Howard et al. (1987) e Corapi et al. (1988) supõem que a amostra CP de surtos de DM tem origem por mutação do vírus NCP no animal PI.

O surgimento do biotipo CP em casos de DM tem sido explicado por dois possíveis mecanismos. Um deles é através de rearranjos dos genes responsáveis pela proteína não estrutural NS23, da qual se origina a NS3. O segundo é pela inserção de genes celulares no genoma viral (MEYERS et al.,

1991; QI et al., 1992), ou seja, ela teria uma origem endógena. Uma vez originada a amostra CP, a partir do vírus homólogo NCP em um animal PI, a transmissão horizontal do vírus CP para outros animais PI provocaria o desencadeamento de surtos de DM dentro dos rebanhos (MEYERS et al., 1990). Outra possibilidade seria a superinfecção com o vírus CP originado por transmissão horizontal. Experimentalmente, superinfecções com amostras CP homólogas foram produzidas em animais PI (BROWNLIE et al., 1984; BOLIN et al., 1985a).

A DM ocorre com baixa morbidade, em torno de 1 a 2% do rebanho e altíssima letalidade (próximo de 100%). É observada com maior frequência em bovinos com 6 meses a dois anos de idade e geralmente tem curso agudo, embora casos crônicos já tenham sido descritos (FLORES, 2003).

Na forma aguda, a enfermidade se caracteriza por febre (40-41°C), salivação, descarga nasal e ocular, diarreia profusa hemorrágica, desidratação, depressão e morte. Laminite e coronite podem ser vistas. Os animais afetados apresentam severa leucopenia. 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).

A BVD aguda, causada principalmente por BVDV-2 apresenta-se clinicamente muito semelhante à DM. No entanto, diferencia-se pelos seguintes aspectos: a DM geralmente afeta um ou poucos animais, e ocorre somente em animais PI. Na DM, podem ser detectados os dois biotipos do vírus, o citopatogênico e o não-citopatogênico. A BVD aguda pelo BVDV-2 geralmente acomete vários animais do rebanho, e nesse caso apenas a cepa NCP é detectada. Logo, o isolamento da cepa CP pode ser considerado um marcador da DM (FLORES, 2003).

Na forma crônica, menos comum, os sinais clínicos são inespecíficos. Observa-se inapetência, perda de peso e apatia progressiva. A diarreia pode ser contínua ou intermitente. Algumas vezes, há descarga nasal e ocular

persistente. Áreas alopécicas e de hiperqueratinização podem aparecer, geralmente, no pescoço. Lesões erosivas crônicas podem ser vistas na mucosa oral e na pele. Laminite, necrose interdigital e deformação do casco podem também ocorrer. Esses animais podem sobreviver por muitos meses e geralmente morrem após debilitação progressiva (FLORES, 2003; FERREIRA et al., 2008).

#### **2.4 Situação da Diarréia Viral Bovina**

Já se passaram mais de 60 anos desde a descrição inicial de uma doença entérica aguda caracterizada por surtos de diarréia e lesões erosivas do trato digestivo de bovinos (OLAFSON et al., 1946). No início da década de cinquenta o vírus foi associado à ocorrência de uma doença entérica de alta mortalidade conhecida como doença das mucosas, enfermidade fatal sempre precedida da infecção pelo vírus da BVD (RAMSEY & CHIVERS, 1953).

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; FLORES, 1997). Além disso, toda a epidemiologia da infecção gira em torno da infecção fetal, com o nascimento de animais PI (FLORES, 1997). Atualmente o vírus é bastante conhecido pelas perdas provocadas na pecuária bovina estando amplamente distribuído na população mundial (MEYLING et al., 1990; HOUE et al., 1990, DIÉGUEZ et al., 2008).

A quantificação exata dos danos após a infecção é bastante difícil, pois os estudos têm se baseado na ocorrência de surtos da doença. Apenas alguns trabalhos têm avaliado o impacto do vírus em alguns rebanhos sem a ocorrência de surtos. As perdas podem variar de algumas centenas a milhares de dólares em alguns rebanhos (HOUE et al., 1993).

Os estudos observacionais que procuraram investigar a ocorrência do vírus nos rebanhos têm apresentado resultados bastante controversos. Segundo McGowan et al. (1993), a presença do vírus da BVD pode ser associada a perdas embrionárias e, conseqüentemente, redução nas taxas de

concepção dos rebanhos infectados. Animais que soroconverteram no período no qual foram inseminados ou logo em seguida à inseminação, apresentaram segundo Virakul et al. (1988), uma redução nas taxas de concepção em comparação a animais infectados previamente. Rebanhos expostos ao vírus da BVD apresentaram um aumento significativo no risco de retorno ao cio quando comparados a rebanhos livres da doença (ROBERT et al., 2004).

Rebanhos onde ocorrem surtos de aborto causados por BVD têm seu desempenho reprodutivo prejudicado por razões óbvias. Entretanto, ainda não são claros os efeitos da infecção em animais infectados subclínicamente. Robert et al. (2004) encontraram uma associação entre o retorno tardio ao cio e presença de vacas previamente expostas ao vírus.

Há também uma associação negativa entre a produção de leite e a presença do vírus da BVD (LINDBERG, 2003). Bennet et al. (1999a) encontraram uma associação negativa entre vacas não vacinadas infectadas pelo vírus e a produtividade destes animais, ou seja, a produção de leite nestes rebanhos sofreu uma queda de 30% em seu estudo realizado no Reino Unido. Em outro rebanho de 273 vacas com 40% de prevalência, foi observada uma queda na produção de leite de 7.500 para 5.724 litros, ou seja, cerca de 23% de redução na produção após duas semanas do início do surto com o aparecimento de diversos quadros clínicos agudos durante este período (DAVID et al., 1994).

Fouruchon et al. (2005) estimaram as perdas relacionadas à produção e concluíram que na média os custos chegaram a 10,7 Libras Esterlinas para cada 1.000 litros de leite produzidos. Nos casos mais severos, a perda chegou a 19,0 Libras Esterlinas para cada 1.000 litros.

Com relação ao risco de descarte, David et al. (1994) investigaram a ocorrência de BDV em três rebanhos na Inglaterra e encontraram um aumento de 11% no descarte involuntário de animais infectados em razão da cronicidade da doença. Em outro estudo, Pritchard et al. (1989) relataram a morte de 8% dos animais e o aumento de 11% no descarte precoce de animais com infecções agudas da doença em um rebanho de 183 animais em Norfolk, Inglaterra. Em outro estudo realizado para avaliar as perdas causadas pelo

vírus, os riscos mínimo, médio e máximo de descarte foram calculados, sendo eles respectivamente 2, 8 e 11% (BENNETT et al., 1999b). Em propriedades onde a doença é endêmica e os animais não vacinados, o risco de descarte involuntário foi na média menor quando comparado aos estudos anteriores, ou seja, o risco encontrado foi de 2% (MEYLING et al., 1990).

Um trabalho realizado por Tiwari et al. (2005), entre os animais descartados pela baixa produção de leite, vacas provenientes de rebanhos onde o vírus estava presente apresentaram um aumento de 1,86 no risco de descarte quando comparado com animais oriundos de rebanhos onde o vírus da BVD não se encontrava circulante.

#### **2.4.1 Situação da Diarréia Viral Bovina no Mundo**

Na América do Sul, foi relatada a presença da BVD em diversos países. Na Argentina, Romeno (1968) relatou pela primeira vez um surto de BVD. Rweyemamu et al. (1990) detectaram uma prevalência de animais soropositivos de 37%, em 1.494 amostras colhidas.

Muñoz et al. (1996), avaliaram a freqüência de isolamento de BVDV a partir de órgãos de fetos bovinos colhidos em matadouros. Foi feita cultura primária de testículo de feto, inoculada com homogenado de baço, rim, pulmão e fígado de 52 fetos. A investigação do antígeno foi realizada por Imunofluorescência Indireta (IFI), detectando-se BVDV não citopático em, pelo menos, um órgão em 11 dos 52 fetos (21,2%). Em 2 fetos foi detectado BVDV citopático e não citopático e 2 fetos negativos para isolamento revelaram anticorpos contra o vírus. Como as vacinas contra o BVDV na Argentina são inativadas, os autores concluem que os isolados são vírus de campo. Dois dos fetos com isolamento de BVDV apresentaram anticorpos contra o vírus. Pinto et al. (1993), efetuaram ensaio sorológico em 196 fetos, detectando 2% (4) positivos para BVDV.

No Uruguai, desde 1974 existem suspeitas clínicas da enfermidade. Também existem evidências sorológicas, histopatológicas e imunohistoquímicas de que a enfermidade surgiu no Uruguai antes de 1980. Em 1982, no Uruguai, foi realizado um pequeno estudo sorológico com 71



amostras de casos suspeitos de BVD onde 66% foram positivas. Esta percentagem não está muito longe do estimado, de acordo com outro estudo realizado em 1996, cujos resultados preliminares mostraram uma prevalência de 62%. Esta prevalência foi estimada mediante a técnica de ELISA para a detecção de anticorpos no soro e leite (MAISONNAVE, 1998).

No Chile, Reinhardt et al. (1986) isolaram cepas citopatogênicas e não citopatogênicas de BVDV a partir de um surto de doença das mucosas em terneiros na região sul do país. Estes pesquisadores efetuaram estudo sorológico em 40 rebanhos, demonstrando que 100% dos rebanhos estavam infectados, com prevalência de 69,2% de animais soropositivos. Rweyemamu et al. (1990) detectaram prevalência de animais soropositivos para BVDV, de 77%, em 525 amostras provenientes de duas províncias.

Reinhardt et al. (1992) efetuaram isolamento do BVDV e identificação por imunofluorescência, inclusive de animais persistentemente infectados. Segundo Celedón (1993), a infecção de bovinos pelo BVDV no Chile é descrita desde os anos 1982 e 1984, pela observação de lesões típicas da forma entérica, detectada em exames anatomopatológicos. Atualmente, a BVD está oficialmente reconhecida no país, que não dispõe de um programa oficial de controle. Vacinas inativadas são aplicadas de forma massiva em algumas zonas da região sul do país, concluindo-se serem necessárias mais informações epidemiológicas, do comportamento patogênico e antigênico das cepas atuantes nas regiões. Além disso, é preciso dispor de melhores técnicas de diagnóstico e de vacinas adequadas que permitam maior conhecimento e controle desta virose no país.

Celedón et al. (1996) observaram que a prevalência de anticorpos soroneutralizantes para BVD, na região metropolitana do Chile, para bovinos de aptidão leiteira e de corte, foi respectivamente de 60% (258/432) e 82% (262/305). Isolaram ainda neste estudo, cepa NCP de 5 animais adultos, 14 fetos abortados, 1 natimorto e 3 bezerros. De 99 bovinos aparentemente saudáveis, isolaram cepa NCP em 53% (52). Em 238 bovinos suspeitos de serem PI, de 40% isolaram-se BVD.

Riedemann et al. (1996) analisaram 2.864 amostras de soro provenientes de 12 rebanhos leiteiros da província de Valdivia, Chile, contra BVD, pela técnica de soroneutralização. A soroprevalência foi de 50,9% e 100% dos rebanhos estavam infectados. Reinhardt et al. (2001) analisaram 500 amostras de soro bovino provenientes de 50 rebanhos leiteiros da Região X, Chile. O objetivo do estudo foi comparar a técnica de soroneutralização (SN) com o teste de ELISA indireto (ELISA-I) em termos de especificidade e sensibilidade na detecção de anticorpos para BVDV. Os resultados mostraram que a SN detectou 278 amostras positivas, enquanto o teste de ELISA-I revelou 347 amostras como positivas.

Amostras altamente virulentas do BVDV foram isoladas de surtos severos de BVD aguda na América do Norte, com mortalidade alta em animais de várias idades. Trombocitopenia e enfermidade hemorrágica foram descritos em alguns rebanhos (CORAPI et al., 1989, ALVES et al., 1996). Foi demonstrado que as amostras isoladas destes surtos tinham características genéticas e antigênicas distintas das amostras clássicas do BVDV. Estes vírus isolados foram então classificados como BVDV tipo 2 e as amostras clássicas denominadas de BVDV tipo 1 (PELLERIN et al., 1994, RIDPATH et al., 1994). Amostras de BVDV tipo 2 têm sido identificadas predominantemente nos Estados Unidos e Canadá, com poucos relatos na Europa (WOLFMAYER et al., 1997).

O vírus está amplamente distribuído por todo o Continente Europeu; a prevalência em diferentes países parece variar consideravelmente. A prevalência de rebanhos infectados pode estar entre 70 e 100%, mas também pode ser menor que 40% (HOUE, 1995). Tem sido demonstrado que ambas as cepas de BVDV, tipo 1 e 2, estão circulando no continente (PATON, 1995, HAMERS et al., 2002).

Em outro trabalho, Luzzago et al. (1999) demonstrou a prevalência de anticorpos para BVDV em rebanho leiteiro no norte da Itália, entre 1995 a 1996. Um total de 704 amostras de soro de 29 rebanhos não vacinados, com problemas reprodutivos, foi testado pela técnica de soroneutralização. Como resultado do estudo, 53,3% das amostras foram sorologicamente positivas.

Mockeliuniene et al. (2004) fizeram um estudo em 147 rebanhos leiteiros de 27 diferentes regiões da Lituânia. Foi diagnosticado BVDV em todas as regiões investigadas. O número de animais soropositivos variou de 11,9% a 100%. É importante salientar que 29,9% dos rebanhos não estavam infectados com BVDV e em 32,7% dos rebanhos de 70 a 100% de bovinos foram soropositivos ao BVDV.

#### **2.4.2 Situação da Diarréia Viral no Brasil**

Casos clínicos relacionando o BVDV como provável agente etiológico foram descritos por Correa et al., (1968), embora o vírus não tenha sido isolado até então, nem tão pouco estudos sorológicos tenham sido realizados. O primeiro estudo sorológico evidenciando a presença de anticorpos anti-BVDV em rebanhos brasileiros foi publicado em 1972, no Estado do Rio Grande do Sul, onde foram detectados 39% de animais soropositivos em 229 soros examinados (WIZIGMANN et al., 1972).

O primeiro isolamento do vírus no país, a partir do soro de um bezerro em culturas de células, foi realizado em 1974 no Rio Grande do Sul (VIDOR, 1974). Em seguida, outros estudos sorológicos e isolamentos virais foram feitos em outras regiões do país (ROEHE et al., 1998). Estudos recentes têm demonstrado que a infecção pelo BVDV está amplamente difundida no rebanho bovino do Brasil (PITUCO et al., 1997; CANAL et al., 1998, BOTTON et al., 1998 a,b; LOVATO, 1998; FLORES et al., 2000a, b; PINTO et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003, FLORES et al., 2005).

A análise filogenética de amostras isoladas no país revela a presença do vírus dos 2 genótipos no rebanho brasileiro (CANAL et al., 1998, GIL, 1998), estas amostras apresentam diferenças genéticas e antigênicas marcantes das cepas americanas (BOTTON et al., 1998a, FLORES et al. 2002).

Botton et al. (1998b) caracterizaram biológica, antigênica e molecularmente 19 amostras do BVDV isoladas no Brasil, sendo 11 amostras isoladas de fetos bovinos, 06 obtidas do sangue de animais clinicamente saudáveis de rebanhos com problemas reprodutivos e 02 isoladas de casos clínicos de enfermidade gastroentérica. Dezesesseis amostras (84,2%), incluindo

as isoladas de fetos e dos casos clínicos, pertenciam ao biotipo não-citopatogênico (NCP). A replicação das outras 03 amostras (15,8%) foi caracterizada pelo aparecimento de vacuolização e destruição progressiva do tapete celular. A análise das amostras que produziram citopatologia, após clonagem, revelou tratar-se de populações mistas composta de vírus citopatogênicos (CP) e não-citopatogênicos (NCP).

Pinto et al. (2001), analisaram 22 amostras de cérebro bovino, negativos para raiva e herpesvirus bovino (BHV) por IFI. Dez por cento de homogenado dos cérebros foram preparados em Meio Mínimo Essencial Eagle (MEM) e inoculado em células de rim bovino (MDBK). Após a 5ª passagem do vírus de BVD em célula, a presença deste foi investigada por IFI. Como resultado do estudo, em 2 (9%) dos 22 isolados, observou-se efeito citopático na 5ª passagem. A presença do antígeno viral foi confirmada por IFI.

Flores et al. (2000a) isolaram o vírus de 2 novilhas de rebanhos diferentes. Um dos animais apresentou enfermidade aguda, o outro animal desenvolveu enfermidade de longa duração (sete meses). Os animais afetados foram necropsiados e fragmentos de tecidos foram coletados para imunohistoquímica e tentativas de isolamento viral. Antígenos do BVDV foram identificados e amostras NCP foram isoladas em cultivo celular a partir de leucócitos e baço dos animais afetados e identificados por imunofluorescência. A caracterização antigênica e análise filogenética desses isolados, revelou tratar-se de BVDV tipo 2.

Soros de touros provenientes de 5 Centrais de Inseminação Artificial foram submetidos à técnica de SN, foram encontradas 40,8% (201/493) de amostras reagentes, com títulos variando de 4 a 8096 (PITUCO & DEL FAVA, 1998). Já Langoni et al., (1995), em pesquisa realizada em São Paulo, observaram por meio do EIE 39,5% de prevalência.

Pituco et al.(1997) estudaram a prevalência de anticorpos contra BVD na região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. Foram examinadas 425 amostras de soro sanguíneo de búfalas com idade a partir de 1 ano, provenientes de 16 propriedades dos municípios de Registro, Pariqueraçu, Sete Barras, Iguape, Canadéia, Eldorado e Jacupiranga. A técnica empregada

foi a SN em microplacas. A prevalência encontrada foi de 16,2% (69). Em 5 propriedades estudadas (33,3%) não foram detectados anticorpos no soro dos animais e em 11 propriedades, a prevalência variou de 3,0% a 85,7%. Em todos os municípios foram identificados animais positivos. Os dados demonstram a disseminação do BVDV em rebanhos bubalinos e que há necessidade de maiores estudos para se estabelecer a importância desta espécie na cadeia epidemiológica.

Richtzeinhain (1997) ao realizar estudo sorológico em diferentes estados do Brasil pela técnica de soroneutralização, observou prevalência de 78% em São Paulo, 84% no Mato Grosso do Sul, 67% no Paraná, 71% no Rio de Janeiro e de 73% no Rio Grande do Sul.

Dias e Samara (2003) analisaram 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. Para a pesquisa de anticorpos contra o BVDV, utilizou-se o 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%).

Em Minas Gerais, Figueiredo et al. (1997) avaliaram pela soroneutralização, a prevalência de portadores de anticorpos contra o BVDV em 287 soros de bovinos de diversas regiões, colhidos em matadouro, encontrando soropositividade entre 61,47% e 75,13% das amostras.

Na região do Triângulo Mineiro, Mineo et al. (2002) testaram pelo método ELISA, 2 rebanhos com falhas reprodutivas conhecidas. Ambos os rebanhos mostraram padrão alto de anticorpos, com 55,8% soropositivos para BVDV. O rebanho 1 teve um grande número de amostras positivas com uma prevalência de 61%. O rebanho 2 apresentou prevalência de 45,7%.

Vieira et al. (1999) analisaram 282 amostras de soro bovino provenientes de 34 rebanhos de bovinos de corte e leite com sinais clínicos de

infertilidade, coletadas de diferentes distritos de Goiás. Cento e oitenta e quatro amostras foram testadas para BVDV pelo teste de ELISA comercial, encontrando uma percentagem de 15,8% (29) das amostras positivas. Dentro dos 25 municípios de Goiás, 52% (13) tiveram amostras positivas e dentro os rebanhos, 47,1% (16) tiveram no mínimo um animal positivo.

Na região de Goiânia, Guimarães et al., (2000) compararam as técnicas de Elisa e soroneutralização ao testar 207 amostras de soro bovino criados em regime semi-intensivo, encontraram 54,11% de soropositividade na região estudada e não houve diferença estatística significativa entre as técnicas.

Em 10 municípios de Goiás, Brito et al. (2002) analisaram 452 amostras de soro de 37 rebanhos de bovinos de leite, com problemas reprodutivos, não vacinados contra BVDV. Foram utilizados 2 testes sorológicos: o teste de ELISA de bloqueio comercial e a técnica de soroneutralização (SN). Do total das amostras, 35,2% foram soropositivas no ELISA enquanto 34,5% foram soropositivas no teste de SN. Setenta por cento dos rebanhos e 80% dos municípios apresentavam no mínimo um animal soropositivo.

Pellegrin et al. (1997), em uma propriedade localizada no Pantanal, MS, coletaram 153 amostras de soro de matrizes Nelore de forma aleatória, onde estas amostras foram testadas para a presença de anticorpos soroneutralizantes para o BVDV. Os resultados mostraram 43,6% de reações positivas ao teste.

No Rio Grande do Sul, Krahl et al. (1997), pesquisaram anticorpos para BVD em 1.823 soros de bovinos, pela técnica de soroneutralização. Encontraram 23,4% amostras soropositivas, sendo que das 265 propriedades examinadas, 45,3% (171) apresentaram animais reagentes.

Canal et al. (1998) obtiveram amostras de soro de 430 bovinos, provenientes de 19 propriedades do Rio Grande do Sul e 1 propriedade de Corrientes, Argentina, para a detecção de anticorpos para BVDV. Para análise, foi desenvolvido um teste de ELISA baseado em antígenos derivados da cepa BVDV genótipo 1 isoladas na Suíça. Com isso, foram constatados anticorpos em 56% dos soros testados para BVDV, indicando que no Brasil a prevalência de infecção com o BVDV é similar à encontrada na Europa e EUA.

Vilela et al. (2003), analisaram 260 amostras de soro bovino, de 20 propriedades pertencentes a 11 municípios do sul do Rio Grande do Sul, com histórico de problemas reprodutivos. As amostras foram testadas pela técnica de soroneutralização, mostrando uma prevalência de 38,9% (101).

Vilela et al. (2004) analisaram 254 amostras de soro bovino de 16 propriedades de sete municípios da Região Sul do RS. O monitoramento sorológico foi feito pela técnica de soroneutralização. Das 218 amostras testadas para BVDV, 70,18% (153) foram soropositivas.

Em outro estudo, Storch et al. (2004) fizeram um levantamento das inseminações artificiais realizadas no município de Pelotas/RS, em um plantel de vacas leiteiras da raça Holandesa, registrando-se o percentual de retorno ao cio. Ao mesmo tempo, amostras de sangue foram examinadas no Laboratório de Virologia e Imunologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPeI), pela técnica de SN, constatando a presença de anticorpos para BVDV. Com os dados obtidos na sorologia, associado aos sinais clínicos, chegou-se ao diagnóstico presuntivo de BVD. A relação entre as inseminações e concepções com a porcentagem de retorno ao cio foram respectivamente: 1997 de 12:11 (8.34%); 1998 de 24:20 (16.67%); 1999 de 63:48 (23.81%); 2000 de 82:47 (42.69%); 2001 de 71:40 (43.67%); 2002 de 84:39 (53.58%) e em 2003 de 102:38 (62.75%).

Schmitz (2006) testou 654 biópsias de tecidos cutâneos da orelha de bovinos e 161 fetos bovinos abortados pela técnica da imunohistoquímica (IHQ). Concomitantemente foram avaliados também pela necropsia, histologia e IHQ, 21 casos ocorridos entre 1996 a 2005, remetidos ao Setor de Patologia Veterinária (SPV) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Na IHQ a marcação positiva do antígeno viral foi evidenciada principalmente na pele, cérebro, cerebelo, intestino delgado, linfonodos e baço. A prevalência de casos de BVDV representou 23,8% do total de 21 bovinos suspeitos necropsiados e 1,86% de fetos abortados.

Quincozes et al., (2007) estimaram a prevalência e determinaram os principais fatores associados à infecção pelo BVDV no rebanho bovino dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí, na região sul do estado do Rio

Grande do Sul. Amostras de soro foram submetidas à prova de SN. Estas foram coletadas em 85 propriedades, cujos animais apresentavam ou não sinais clínicos de infecção pelo BVDV. Das 1.734 amostras de soro analisadas, 1.150 (66,32%) foram positivas com a detecção de bovinos sorologicamente positivos em 70 (82,35%) propriedades. Dentre os fatores avaliados, exploração mista, criação extensiva, realização de ordenha mecânica, uso de inseminação artificial ou de inseminação artificial associada à monta natural, uso de piquete de parição, ausência de assistência veterinária e idade, apresentaram significância estatística ( $P < 0,05$ ) associada à soropositividade. Os resultados obtidos demonstram a expressiva disseminação do BVDV no rebanho bovino dessa região do Rio Grande do Sul.

Pilz et al., (2007) na região dos Campos Gerais do estado do Paraná utilizou a técnica da RT-PCR para a detecção da região 5' UTR do genoma do vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em *pools* de soros sangüíneos provenientes de um rebanho, constituído por 226 animais, que apresentava distúrbios da reprodução. Com o estudo identificou-se 11 vacas lactantes e 12 bezerros em amamentação positivos. Para a identificação de animais persistentemente infectados (PI) entre os 23 positivos na primeira avaliação, realizou-se a segunda colheita de soros sangüíneos, três meses depois. A RT-PCR das amostras individuais de soro revelou resultado positivo em cinco bezerros. Em dois, foi possível isolar o BVDV em cultivo de células MDBK.

Na região Nordeste o primeiro estudo sorológico foi realizado por Ribeiro et al., (1987) no estado da Bahia, que registraram prevalência de 14,64% pela técnica de soroneutralização. Em Pernambuco, Castro et al., (1993) encontraram prevalência de 70% pela técnica da soroneutralização. Em 1994, Castro et al., na região de Garanhuns (PE) no ano avaliaram a ocorrência de BVD em bezerros de até 1 ano de idade, com e sem sintomatologia respiratória, por amostragem pareada, pela prova de soroneutralização. Dentre os 27 bezerros afetados por broncopneumonia, 5 soroconverteram para BVD, enquanto que no grupo dos aparentemente saudáveis, não houve soroconversão.



No estado do Sergipe, Melo et al., (1997) estimaram prevalências para o BVDV que variou de 58,23 a 71,18%. Existem indícios que este estado não se adota como conduta preventiva o uso de vacina contra BVD

Noronha et al. (2003), coletaram sangue de 156 bovinos, de 1 à 4 anos de idade, de 8 propriedades de diferentes municípios da Bahia, sem diagnóstico prévio ou antecedentes de vacinação contra BVDV. Foram também obtidas 64 amostras do matadouro local, de outros 3 municípios diferentes. O teste utilizado para análise das amostras foi a técnica de soroneutralização. O teste demonstrou que 56% (123) das amostras foram positivas e 44% (96) negativas. A distribuição dos títulos de anticorpos soroneutralizantes (TSN), mostrou que 82% das amostras apresentaram TSN de até 512, enquanto que 18% apresentaram TSN maiores que 512. Neste trabalho também foi feito isolamento viral a partir da fração leucocitária e de secreções nasais em células MDBK. Do total de 220 bovinos, 145 animais foram utilizados para o isolamento viral. Foi confirmada a presença do vírus em 4 bovinos aparentemente saudáveis e de 1 bezerro com sinais clínicos respiratórios. Os 5 isolados não apresentaram efeito citopático nos cultivos celulares. A presença do antígeno viral foi confirmada por IFI.

A detecção de animais persistentemente infectados (PI) em rebanhos com grande número de cabeças é difícil. Os PI são usualmente pouco numerosos e sua identificação requer que sejam testados essencialmente todos os animais do rebanho. O primeiro levantamento feito buscando identificar animais PI em um número relativamente grande de animais foi realizado por Oliveira et al., (1996). Na ocasião, foram testados 2.186 soros, sendo isolado vírus de 2 amostras, o que corresponde a uma taxa de 0,26% de animais PI. No entanto, outros levantamentos são necessários para que se possa ter uma idéia precisa da prevalência de infecções persistentes nos rebanhos no País.

Em outro estudo, foi detectado o vírus em um lote de neonatos persistentemente infectados enviados ao matadouro, em que 15 de 40 animais apresentavam viremia no momento da coleta das amostras (OLIVEIRA et al., 1996). Esta situação é clara, e consistente com a patogenia de infecções pelo BVDV adquiridas durante a gestação, onde grupos de animais prenhes, que

não tenham tido contato prévio com o vírus ou não tenham sido imunizados, são expostos à infecção durante a gestação. Nessa população alvo, a introdução do vírus traz invariavelmente conseqüências desastrosas (ROEHE et al., 1998). No entanto, Botton et al. (1998a) mencionaram a detecção de vírus em 0,78% e anticorpos em 1,36% de uma amostra de 1.396 soros fetais coletados em matadouro. Estas taxas seriam certamente suficientes para garantir a perpetuação da infecção nos rebanhos.

## **2.5 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).

Os materiais de eleição para o diagnóstico da infecção pelo vírus da BVD devem ser: sangue, soro sangüíneo, órgãos (baço, timo, intestino, intestino e linfonodos), fetos e envoltórios fetais (placenta e placentomas), além de órgãos ou tecidos com lesões macroscópicas (FLORES, 2003).

Existem várias técnicas de diagnóstico úteis na detecção da enfermidade que podem ser divididas em dois grandes grupos: o método direto e o método indireto. O primeiro se baseia na detecção do antígeno viral e o segundo determina a resposta imune do tipo humoral do hospedeiro frente à ação do agente etiológico (REINHARDT et al., 2001).

A identificação do vírus pode ser feita por diferentes métodos, como as técnicas de soroneutralização, imunofluorescência (IFA), imunoperoxidase (IPX), reação de polimerase em cadeia (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) (ROEHE, 1996; SANDVIK, 1999; GUIMARÃES et al., 2000; DIAS & SAMARA, 2003; PILZ, 2005). Em geral, a totalidade dos métodos diagnósticos utilizados nos laboratórios para o estudo da BVD requer, para um resultado satisfatório, uma correlação apropriada de amostras, bom material de trabalho, transporte e processamento adequado (FAO, 1985).

O teste padrão de diagnóstico do BVDV é a técnica de soroneutralização que consiste no isolamento do agente em cultivos celulares seguidos da identificação por imunofluorescência e/ou imunoperoxidase (FAO, 1985; FLORES, 2003). Segundo Duffel e Harkness (1985), esta prova diagnóstica apresenta a limitação de não detectar baixas taxas de anticorpos como no caso de animais virêmicos imunocompetentes, a necessidade de laboratórios equipados e de pessoal treinado. Além disso, a técnica é demorada o que impede resultados rápidos, requerendo de vários dias a algumas semanas para obtenção dos resultados (RUTH, 1986).

Atualmente, os testes imunoenzimáticos (EIE) têm sido utilizados para a detecção rápida de antígenos e anticorpos (SANDVIK, 1999).

### **2.5.1 Ensaio Imunoenzimático (ELISA)**

Esta técnica descrita por Engval e Perlmann (1971), expresso pela sigla ELISA (Enzyme Linked Imuno Sorbent Assay) é utilizada para a detecção de pequenas quantidades de antígenos/anticorpos, que geralmente não são detectáveis pelos métodos convencionais. Apresenta a característica de alta sensibilidade e especificidade e rapidez na sua execução. Isso permite o estudo de grandes populações em curto espaço de tempo, e em laboratórios de rotina (DINTER, 1989). A identificação de antígenos/anticorpos é baseada em reação enzima-substrato que produz uma mudança de cor e a leitura espectrofotométrica evita resultados subjetivos. Os erros técnicos pela utilização de "kits" comerciais são mínimos, uma vez que as variáveis são padronizadas para que os parâmetros medidos, não se alterem (DUBOVI, 1990). A técnica de ELISA apresenta sensibilidade equivalente ao método do isolamento viral (OIE, 2000).

## **2.6 CONTROLE E PROFILAXIA**

A escolha das estratégias mais adequadas para controle e profilaxia da infecção pelo BVDV, dependem basicamente das condições específicas de cada rebanho (HOUE, 2003). Em geral, essas estratégias consistem na prevenção da entrada de animais PI, detecção e eliminação destes das

propriedades, além da utilização de vacinas (VAN OIRSCHOT, 1999; FULTON & BURGE, 2001). Entretanto, as únicas abordagens que têm sido bem sucedidas na redução do impacto decorrente da infecção pelo BVDV, são aquelas onde se dá ênfase às medidas de biossegurança em geral, com ou sem o uso de vacinas (LINDBERG, 2003).

Nos Estados Unidos, as primeiras vacinas contra o BVDV surgiram na década de 60, sendo que, atualmente, estão disponíveis mais de 160 vacinas comerciais contendo imunógenos do vírus (RIDPATH, 2003b). O objetivo principal da vacinação é a prevenção da infecção transplacentária e conseqüentemente as perdas reprodutivas e a geração de animais PI (VAN OIRSCHOT, 1999; LINDBERG, 2003). Apesar dos esforços para a produção de vacinas que atendam esse requisito e dos programas de controle da enfermidade implantados nos Estados Unidos e Europa, o BVDV ainda continua sendo responsável por perdas econômicas significativas à pecuária de corte e leite em todo o mundo (HOUE, 2003; RIDPATH, 2003b).

As vacinas mais utilizadas contra o BVDV, geralmente incluem preparações inativadas do vírus (vacinas mortas) ou cepa(s) atenuadas (vacinas vivas modificadas) (VAN OIRSCHOT, 1999; LINDBERG, 2003).

Programas de controle e erradicação da infecção pelo BVDV sem uso de vacinas têm sido implantados em alguns países europeus. Esses programas baseiam-se na identificação de rebanhos infectados e certificação de rebanhos livres, seguidos do descarte dos animais PI das propriedades positivas (LINDBERG & ALENIUS, 1999). Rebanhos que possuem animais PI podem ser identificados por sorologia, já que a presença do vírus resulta na ausência de anticorpos nos PI e altos níveis de anticorpos nos animais que foram infectados (HOUE, 1995).

A prevenção da infecção pré-natal e nascimentos de animais PI constituem a base do controle da doença o qual implica em um restrito controle de vacas mães e filhos. Bovinos que nascem PI representam um fator de perpetuidade do vírus no rebanho, conseqüentemente é importante a sua detecção e remoção do plantel. Uma eficiente estratégia para o controle da doença depende do conhecimento epidemiológico desta, do estado

imunológico do rebanho, principalmente para o feto ou terneiro, e de um diagnóstico confiável (BROWNLIE, 1990; MOERMAN et al., 1993; SANDVIK, 1999).

Segundo Brock (2003), o vírus da BVD é único capaz de causar infecções persistentes em fetos expostos nos primeiros 150 dias de gestação. Prevenindo as infecções fetais, podemos ter um melhor controle da doença. Esta habilidade única do BVDV em causar as infecções persistentes permite ao vírus realizar mutações contínuas e variações antigênicas dentro das populações bovinas. Por essa razão, o BVDV difundiu-se rapidamente trazendo prejuízos econômicos devido a doenças respiratórias, reprodutivas e entéricas.

As vacinações fornecem alguma proteção para a forma aguda, porém, programas de vacinação não podem, por si, controlar ou eliminar BVDV (BROCK, 2003). Tanto vacinas vivas atenuadas como vacinas inativadas estão disponíveis (BROWNLIE et al., 1995, CORTESE et al., 1998). O alvo primário das vacinações é a prevenção das infecções congênitas, mas somente poucas vacinas têm mostrado este nível de proteção (VAN OIRSCHOT et al., 1999).

As vacinas atenuadas ou vivas modificadas, geralmente contêm amostras do vírus que são capazes de replicar no hospedeiro. Entre as principais vantagens do uso dessas, está a capacidade de indução de uma resposta imunológica mais sólida e duradoura que vacinas inativadas (VAN OIRSCHOT, 1999, ARENHART et al., 2008). Isso foi demonstrado em um trabalho em que anticorpos neutralizantes contra 12 isolados do BVDV foram detectados 18 meses após imunização com uma única dose de uma vacina que continha a cepa NADL do BVDV atenuada (CORTESE et al., 1998).

A grande maioria das vacinas utilizadas na profilaxia e controle da infecção pelo BVDV não são eficazes na prevenção da infecção transplacentária e a conseqüente geração de animais PI. Nesse sentido, o uso de vacinas atenuadas parece ser uma boa alternativa (ARENHART et al., 2008), visto que já foi demonstrada a proteção fetal completa em ovinos frente ao desafio, após duas imunizações com amostras do BVDV-1 e BVDV-2 atenuadas experimentalmente (BRUM et al., 2002).

As vacinas vivas quando usadas de forma inadequada, têm sido associadas com lesões de ovário (GROOMS et al., 1998), supressão imune e doença das mucosas (BOLIN, 1995). Também tem sido discutido que vacinações inapropriadas promovem a propagação do vírus, o que ocorre predominantemente em países que usam vacinas vivas. Embora vacinas inativadas não tragam este problema, elas induzem uma resposta imune mais breve. Um dos maiores prejuízos com as vacinações é a necessidade de aplicações repetidas, e, isto muitas vezes não é feito (CARRUTHERS & PETRIE, 1996).

Diversos trabalhos têm demonstrado a incapacidade de vacinas inativadas em conferir proteção fetal completa em bovinos. As taxas de proteção obtidas variam entre 25% a 64% (HARKNESS et al., 1985); 83% (BROWNLIE et al., 1995), até 86% (McCLURKIN et al., 1975).

Lima et al., (2005), estudaram os títulos e a duração de anticorpos neutralizantes contra o BVDV induzidos por uma vacina experimental atenuada em bovinos e compararam com os induzidos por três vacinas comerciais inativadas. Os resultados obtidos demonstram que a vacina experimental atenuada induziu títulos de anticorpos significativamente superiores, mais duradouros e com maior espectro de reatividade do que as vacinas comerciais. Esses resultados associados a outro estudo realizado por Lima et al., (2004) são promissores no sentido da utilização dessas amostras na formulação de vacinas atenuadas para o controle da infecção pelo BVDV no Brasil.

No Brasil, só são comercializadas vacinas inativadas, contendo cepas norte americanas do BVDV. Estudos prévios demonstraram que essas vacinas induzem níveis baixos de anticorpos neutralizantes em ovinos e bovinos, principalmente frente a amostras brasileiras do BVDV-2. Além disso, essas vacinas foram incapazes de prevenir a infecção fetal em ovelhas previamente imunizadas (VOGEL et al., 2002).

O trabalho realizado por Flores et al. (2000b) caracterizando as cepas virais com AcMs, mostrou diferenças estruturais existentes nas proteínas do vírus. A ausência de homologia entre estas cepas leva a crer que as vacinas possam não estar funcionando, por serem produzidas com cepas padrões ou

isolado de outros países. Isso é muito importante não só na vacinação como também na interpretação do diagnóstico. Animais vacinados não estariam devidamente protegidos e o uso de cepas padrões no diagnóstico pode estar mascarando a verdadeira situação da doença nos rebanhos. Portanto, vacinas elaboradas com cepas padrões não protegem suficientemente, por diferirem antigenicamente das cepas isoladas regionalmente. Estes resultados demonstram que testes de soroneutralização utilizando vírus de apenas um genótipo podem resultar em um número significativo de falsos negativos, indicando a necessidade da formulação de vacinas com amostras locais do BVDV e/ou contendo vírus dos dois genótipos.

A decisão entre o uso ou não de vacinas para o controle das infecções pelo BVDV deve ser realizado de acordo com as condições específicas de cada propriedade, além da avaliação do custo-benefício (LINDBERG, 2003).

No Brasil, não existe um programa específico de controle do BVDV. Assim, o uso de vacinas vem sendo realizado indiscriminadamente, comprometendo a interpretação dos testes sorológicos, uma vez que os anticorpos vacinais não podem ser diferenciados daqueles induzidos pela infecção natural. No Brasil, devido à falta de um controle oficial sobre a venda e a aplicação de vacinas, o uso acontece de forma indiscriminada. Além disso, há estudos demonstrando que o uso de vacinas pode dar uma falsa sensação de segurança em relação a uma determinada enfermidade, promovendo um comportamento de risco por parte dos produtores.

## ***Materiais e Método***

---

---



### **3 MATERIAIS E MÉTODO**

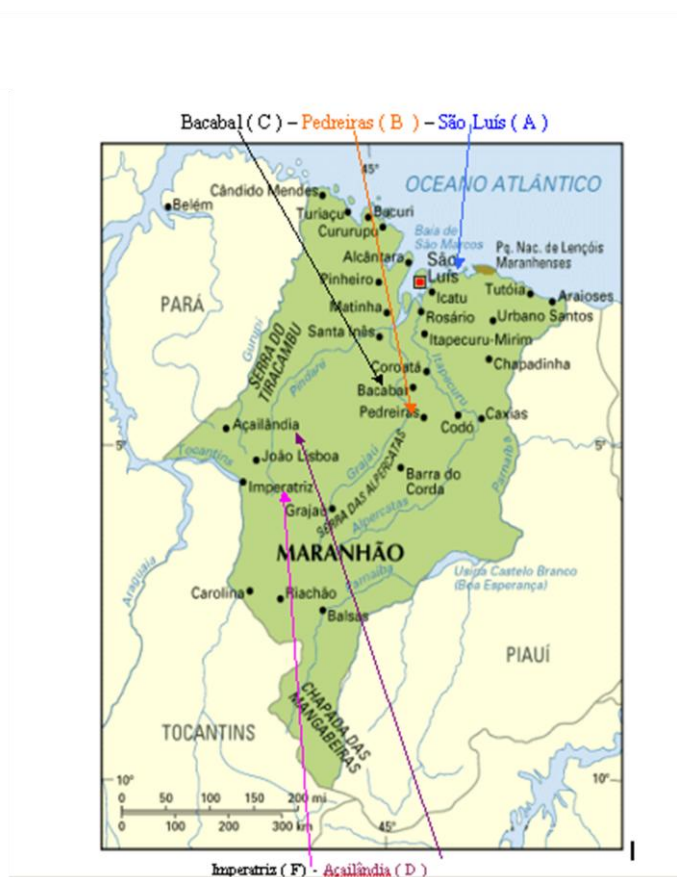
#### **3.1 Região**

O Estado do Maranhão ocupa uma área territorial de 331.983,293 km<sup>2</sup>, localizado a Noroeste da Região Nordeste. Limita-se ao Norte com o Oceano Atlântico, Sul e Sudoeste ao Estado do Tocantins, Leste e Sudeste com o Estado do Piauí e ao Oeste com o Estado do Pará, possui 217 municípios com uma população estimada em 6.103.327 habitantes. O efetivo de rebanho bovino é de 6.609.438 cabeças, sendo aproximadamente 9.45% de exploração leiteira (IBGE, 2007).

O rebanho leiteiro é composto de animais das raças Girolanda, Holandesa e mestiços de Holandesa com um efetivo de aproximadamente 625.000 cabeças, das quais 25% (156.250) estão em produção por um período médio de seis meses, com uma produção mensal média de 270.000.000 litros de leite (INAGRO, 2007).

#### **3.2 Propriedades**

A bacia leiteira do Estado do Maranhão é constituída pelas regionais da **Ilha de São Luís** (municípios de Paço do Lumiar, Raposa, São José de Ribamar e São Luís), **Imperatriz** (Amarante, Imperatriz, João Lisboa, Lageado Novo, Porto Franco, São João do Paraíso e Senador La Roque), **Açailândia** (municípios de Açailândia, Cidelândia e São Francisco do Brejão), **Pedreiras** (Bernardo do Mearim, Igarapé Grande, Pedreiras e Trizidela do Vale) e **Bacabal** (municípios de Bacabal, Bom Lugar, Lago Verde, Olho d'Água das Cunhas e São Luís Gonzaga), (Fig. 1).



**FIGURA 1.** Mapa do Estado do Maranhão com as principais regionais produtoras de leite.

Foram realizados sorteios para selecionar quais propriedades seriam amostradas e estas deveriam apresentar pré-requisitos como, sistema de criação semi-intensivo, número igual ou superior a 20 animais e sem histórico de vacinação anterior para BVD. Na determinação do tamanho da amostras utilizou-se a fórmula proposta por Stevenson (1981), como especificada abaixo:

$$n = \frac{Z^2 \cdot P \cdot q}{e^2}$$

- Onde:
- n = Tamanho da amostra;
  - Z = Nível de confiança (1,96);
  - P = Prevalência esperada;
  - q = (100-p)
  - e = margem de erro admitida.

Para se estabelecer o tamanho da amostra, foi adotado, como valor de referência, a prevalência observada por Castro et al. (1993), que foi de 70%, no estado do Pernambuco, considerando-se uma margem de erro (e) de 3% e um nível de confiança (Z) (95%).

$$Z = 1,96 \text{ (95\%);}$$

$$P = 70\%;$$

$$q = 30$$

$$e = 4\%.$$

Logo: 
$$n = \frac{1,96^2 \cdot 70 \cdot (100-70)}{3^2} \rightarrow N= 896 \text{ amostras}$$

Assim, foi realizado o ajuste da amostra para **920**.

### **3.3 Coleta das Amostras**

Foram coletadas 920 amostras de sangue de animais, pertencentes a 92 propriedades do estado do Maranhão. As amostras foram provenientes de fêmeas bovinas de aptidão leiteira estratificadas em três faixas etárias: estrato-1 (até 3anos), estrato-2 (entre 3 a 7 anos) e estrato-3 (>7 anos), apresentando ou não sinais clínicos de infecção pelo BVDV. A porcentagem de animais dentro de cada faixa etária foi definida de acordo com os dados obtidos por Brownlie (1990), que indicaram que a prevalência é maior em animais adultos. Com base nesta característica, foram coletadas 20% das amostras para animais até 03 anos, 60% para animais entre 03 a 07 anos e 20% para animais acima de 07 anos. O número de amostras coletadas foi igual para todas as propriedades. A distribuição das propriedades e o número total de amostras encontram-se listado na tabela 1.

**TABELA 1.** Distribuição das regionais com seus respectivos municípios, bem como, o número de amostras/propriedade, Maranhão, 2008

<b>Regional</b>	<b>Municípios</b>	<b>N ° de Propriedades</b>	<b>N° de Amostras</b>
<b>Açailândia</b>	Açailândia	4	40
	Cidelândia	4	40
	São Francisco do Brejão	4	40
<b>Bacabal</b>	Bacabal	4	40
	Lago Verde	4	40
	Olho D'água das Cunhãs	4	40
	São Luís Gonzaga	4	40
	Bom Lugar	4	40
<b>Ilha de São Luís</b>	Paço Lumiar	4	40
	São José de Ribamar	4	40
	São Luís Gonzaga	4	40
	Raposa	4	40
<b>Imperatriz</b>	Amarante	4	40
	Imperatriz	4	40
	João Lisboa	4	40
	Lageado Novo	4	40
	Porto Franco	4	40
	São João do Paraíso	4	40
	Senador La Roque	4	40
<b>Pedreiras</b>	Igarapé Grande	4	40
	Bernardo do Mearim	4	40
	Pedreiras	4	40
	Trizidela do Vale	4	40
<b>TOTAL</b>		<b>92</b>	<b>920</b>

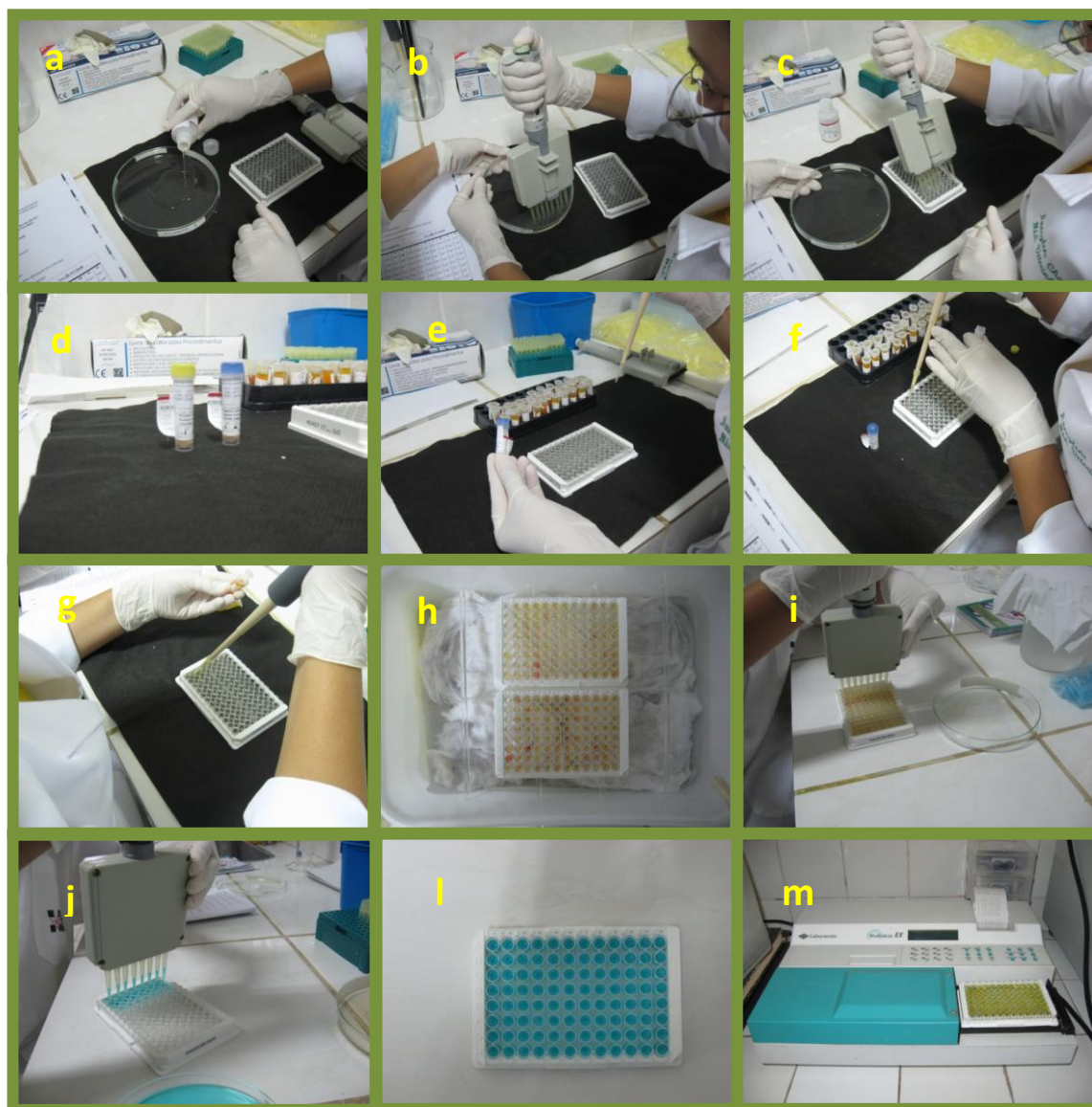
As coletas foram realizadas nos meses de fevereiro a julho de 2008. O sangue foi coletado pela punção da veia jugular, com agulhas descartáveis e sistema de vácuo, em tubos esterilizados e siliconizados, os quais foram deixados em posição inclinada até a retração do coágulo e liberação do soro e encaminhados sob refrigeração ao Laboratório de Virologia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 2.000 rpm, durante 15 minutos. As amostras foram acondicionadas em ampolas tipo Eppendorf (Fig. 2) e estocadas a -20° C até a realização dos testes sorológicos.



**FIGURA 2.** Fotografia da coleta de sangue, acondicionamento e processamento das amostras de soro sangüíneo de fêmeas bovinas leiteiras: (a) punção da veia jugular, (b) tubos vacutainer siliconizados com amostras de sangue, (c) material para obtenção das amostras de soro, (d) tubos eppendorf com amostras de soro em duplicata.

### **3.4 Análise das Amostras**

A detecção qualitativa de anticorpos contra BVD foi realizada mediante a técnica de ELISA, conforme descrito por Chu et al. (1985) e Howard et al. (1985) utilizando o “Kit” (CHEKIT BVD – SERO - Dr. BOMMELI AG / Liebefeld – Bern – Swiss) comercial de ELISA indireto (I-ELISA), no Laboratório de Virologia da UEMA. (Fig.3). As amostras foram analisadas em duplicata e, aquelas que apresentaram resultados suspeitos foram retestadas. A leitura espectofotométrica das placas de ELISA foi realizada no Laboratório de Imunofisiologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) utilizando-se uma leitora modelo Multiskan EX Lodysisten.



**FIGURA 3.** Fotografias da técnica de ELISA-indireto para identificação de anticorpos anti-BVDV: (a, b, c) sensibilização da placa de poliestireno com o diluente da amostra; (d, e, f) adição dos controlos positivos e negativos; (g) adição dos soros a serem testados; (h) placas sensibilizadas com os respectivos soros e incubada em câmara úmida; (i) lavagem da placa de poliestireno após a incubação; (j, l) adição do conjugado; (m) placa na leitora de ELISA após a adição do substrato e da solução de parada.

A interpretação dos resultados foi determinada pelo cálculo da razão das densidades ópticas (OD) das amostras testadas com relação ao controle positivo, utilizando um filtro com comprimento de onda de 450 nm, como mostra a fórmula abaixo:

**A/P = Amostra A 450 – NCx A 450**

**PCx A 450 – NCx A 450**

Amostras com razão A/P < 0,200 OD foram classificadas como negativas, razão entre  $0,200 \geq OD < 0,300$  suspeitas e valores de  $OD \geq 0,300$  positivas. Para que o teste fosse validado era necessário que a diferença das médias dos controles positivos e negativos fosse  $\geq 0,150$  OD e a média dos controles negativos  $\leq 0,250$  de densidade óptica.

### **3.5 Fatores de Risco**

Para cada propriedade foi aplicado questionário epidemiológico com o objetivo de relacionar possíveis fatores de risco associados ao BVDV, conforme descritos nos apêndices A e B. Os fatores de risco analisados nas propriedades foram: tipo de ordenha, inseminação artificial, aborto, presença de ovino-caprinos e suínos, aquisição de animais, assistência veterinária.

### **3.6 Análise Estatística**

Para o cálculo da frequência dividiu-se o número de animais sorologicamente positivos pelo número de animais amostrados, utilizando-se análise estatística descritiva por meio de distribuições absoluta e relativa. A prevalência observada no estudo foi calculada pela razão da somatória do número de animais soropositivos e suspeitos multiplicado por 100 e dividido pelo número de animais testados.

Para o estudo da associação entre a soropositividade e fatores de riscos analisados, utilizou-se estatística por meio do teste Exato de Fisher ou, teste Qui-quadrado de independência, quando as condições para o teste Exato de Fischer não foram verificadas. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5% (0,05) e obtiveram-se os intervalos com confiabilidade de 95%. O programa utilizado para a obtenção da análise foi o InStat 2.0 versão 2003 e o Eplnfo 3.43 versão 2007.

# *Resultados*

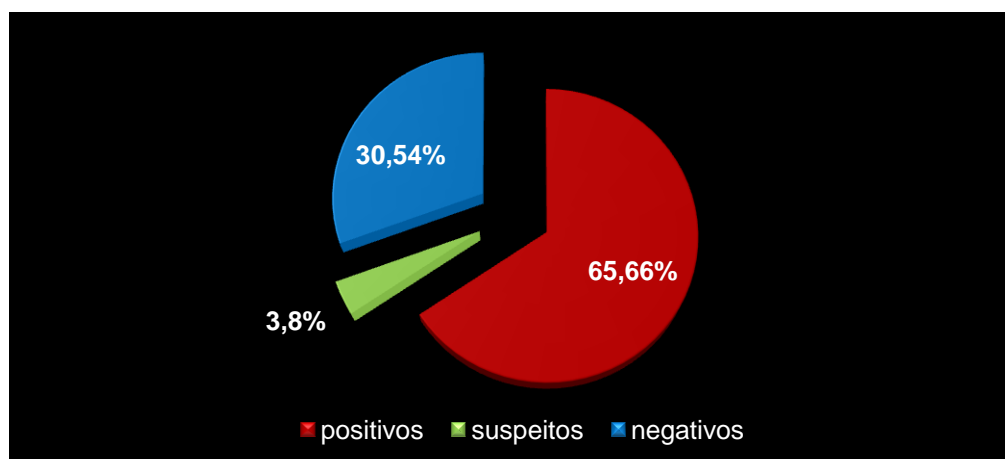
---

---



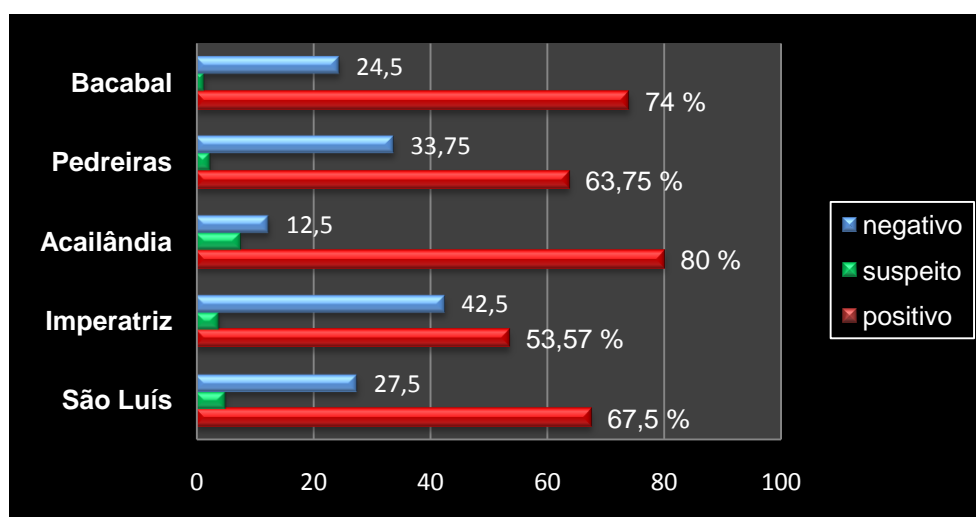
#### 4 RESULTADOS

Das 920 amostras analisadas, 65,65% (n=604) foram reagentes, 3,80% (n=35) suspeitas e 30,54% (n=281) não reagentes (Fig. 4).



**FIGURA 4.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas da bacia Leiteira do estado do Maranhão, 2008.

Com relação às cinco regionais que compõem a bacia Leiteira do Estado do Maranhão, obtiveram-se frequências de 67,5% (n=108), 53,57% (n=150), 80% (n=96), 63,75% (n=102) e 74% (n=148) para as regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal, respectivamente (Fig. 5).



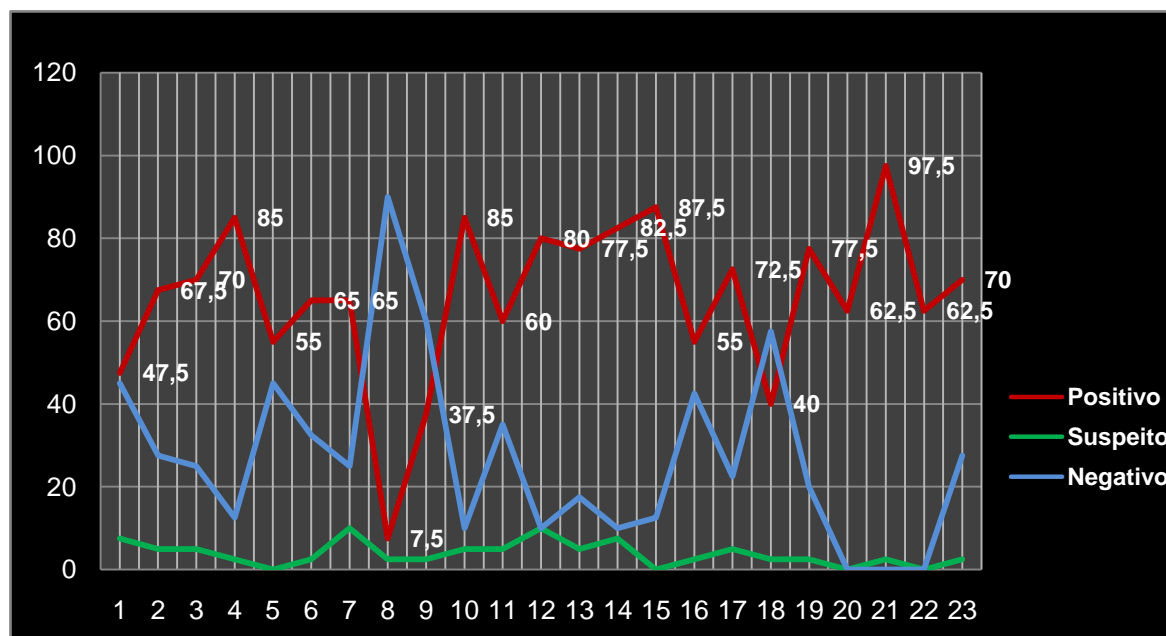
**FIGURA 5.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras nas regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal, 2008.

Do total de 23 municípios amostrados, em 100% foram registrados animais reagentes. O número de amostras foi igual para todos os municípios. O município de Lageado Novo, pertencente à Regional de Imperatriz apresentou o menor percentual de amostras reagentes, 7,5% (n=3), enquanto Lago Verde, da Regional de Bacabal apresentou o maior percentual, 97,5% (n=39) (tab.2).

**TABELA 2.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras pertencentes a 05 regionais da Bacia Leiteira do Estado do Maranhão, 2008

Regionais	Municípios	Nº de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Ilha de São Luís	Paço do Lumiar	40	19	47,5	3	7,5	18	45,0
	São Luís	40	27	67,5	2	5,0	11	27,5
	São José de Ribamar	40	28	70,0	2	5,0	10	25,0
	Raposa	40	34	85,0	1	2,5	5	12,5
Imperatriz	Amarante	40	22	55,0	0	0	18	45
	Imperatriz	40	26	65,0	1	2,5	13	32,5
	João Lisboa	40	26	65,0	4	10	10	25,0
	Lageado Novo	40	3	7,5	1	2,5	36	90,0
	Porto Franco	40	15	37,5	1	2,5	24	60,0
	São João do Paraíso	40	34	85,0	2	5,0	4	10,0
	Senador La Roque	40	24	60,0	2	5,0	14	35,0
Açailândia	Açailândia	40	32	80,0	4	10,0	4	10,0
	Cidelândia	40	31	77,5	2	5,0	7	17,5
	São Francisco Brejão	40	33	82,5	3	7,5	4	10,0
Pedreiras	Bernardo do Mearim	40	35	87,5	0	0,0	5	12,5
	Igarapé Grande	40	22	55,0	1	2,5	17	42,5
	Pedreiras	40	29	72,5	2	5,0	9	22,5
	Trizidela do Vale	40	16	40,0	1	2,5	23	57,5
Bacabal	Bacabal	40	31	77,5	1	2,5	8	20,0
	Bom Lugar	40	25	62,5	0	0,0	15	0,0
	Lago Verde	40	39	97,5	1	2,5	0	0,0
	Olho D'água das Cunhãs	40	25	62,5	0	0,0	15	0,0
	São Luiz Gonzaga	40	28	70,0	1	2,5	11	27,5

O intervalo de variação no percentual de animais reagentes entre os municípios foi de 7,5% a 97,5% (Fig.6).



**FIGURA 6.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em 23 municípios da bacia leiteira do estado do Maranhão, 2008.

Das 92 propriedades testadas contra o BVDV, em 94,57% (n=87) foram encontrados animais reagentes. Foram consideradas propriedades positivas aquelas que possuíam pelo menos uma amostra reagente ao BVDV (tab. 3, 4, 5, 6 e 7). A variação no percentual de animais reagentes para o BVDV foi de 0 a 100%.

Em todas as propriedades da bacia leiteira da Ilha de São Luís foram encontradas pelo menos 02 amostras reagentes. As propriedades do município de Raposa apresentaram o maior número de animais reagentes 85% (n=34). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 20 a 100% (tab. 3).

**TABELA 3.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira da Ilha de São Luís - MA, 2008

Municípios	Propriedade	N° de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Paço do Lumiar	1	10	6	60	0	0	4	40
	2	10	6	60	1	10	3	30
	3	10	2	20	2	20	6	60
	4	10	5	50	0	0	5	50
Raposa	5	10	7	70	1	10	2	20
	6	10	8	80	0	0	2	20
	7	10	10	100	0	0	0	0
	8	10	9	90	0	0	1	10
São José de Ribamar	9	10	9	90	1	10	0	0
	10	10	7	70	0	0	3	30
	11	10	6	60	0	0	4	40
	12	10	6	60	1	10	3	30
São Luís	13	10	7	70	2	20	1	10
	14	10	6	60	0	0	4	40
	15	10	9	90	0	0	1	10
	16	10	5	50	0	0	5	50

Na bacia leiteira de Imperatriz, 02 propriedades, uma pertencente ao município de Porto Franco e outra ao município de Lageado Novo, não foram encontradas amostras reagentes. São João do Paraíso foi o município com maior percentual de animais reagentes, 85% (n=34). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 0 a 100% (tab. 4).

**TABELA 4.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Imperatriz - MA, 2008

Municípios	Propriedade	N° de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Amarante	17	10	7	70	0	0	3	30
	18	10	5	50	0	0	5	50
	19	10	6	60	0	0	4	40
	20	10	4	40	0	0	6	60
Imperatriz	21	10	7	70	0	0	3	30
	22	10	8	80	0	0	2	20
	23	10	4	40	0	0	6	60
	24	10	7	70	1	10	2	20
João Lisboa	25	10	7	70	1	10	2	20
	26	10	10	100	0	0	0	0
	27	10	7	70	0	0	3	30
	28	10	2	20	3	30	5	50
Lageado Novo	29	10	1	10	0	0	9	90
	30	10	1	10	1	10	8	80
	31	10	0	0	0	0	10	100
	32	10	1	10	0	0	9	90
Porto Franco	33	10	3	30	1	10	6	60
	34	10	7	70	0	0	3	30
	35	10	5	50	0	0	5	50
	36	10	0	0	0	0	10	100
São João do Paraíso	37	10	9	90	0	0	1	10
	38	10	10	100	0	0	0	0
	39	10	8	80	0	0	2	20
	40	10	7	70	2	20	1	10
Senador La Roque	41	10	8	80	0	0	2	20
	42	10	5	50	0	0	5	50
	43	10	6	60	1	10	3	30
	44	10	5	50	1	10	4	40

Em todas as propriedades da bacia leiteira de Açailândia foram encontradas pelo menos 06 amostras reagentes. As propriedades do município de São Francisco do Brejão apresentaram o maior número de animais reagentes, 82,5% (n=33). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 60 a 90% (tab. 5).

**TABELA 5.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Açailândia - MA, 2008

Municípios	Propriedade	Nºde Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Açailândia	45	10	9	90	1	10	0	0
	46	10	9	90	0	0	1	10
	47	10	8	80	1	10	1	10
	48	10	6	60	2	20	2	20
Cidelândia	49	10	6	60	1	10	3	30
	50	10	8	80	1	10	1	10
	51	10	9	90	0	0	1	10
	52	10	8	80	0	0	2	20
São Francisco do Brejão	53	10	9	90	0	0	1	10
	54	10	9	90	1	10	0	0
	55	10	6	60	2	20	2	20
	56	10	9	90	0	0	1	10

Na bacia leiteira de Pedreiras, 02 propriedades, uma pertencente ao município de Igarapé Grande e outra ao de Trizidela do Vale, não foram encontradas amostras reagentes. As propriedades do município de Bernardo do Mearim apresentaram o maior número de animais reagentes, 87,5% (n=35). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 0 a 100% (tab. 6).

**TABELA 6.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Pedreiras - MA, 2008

Municípios	Propriedades	N° de Animais	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Bernardo do Mearim	57	10	10	100	0	0	0	0
	58	10	7	70	0	0	3	30
	59	10	8	80	0	0	2	20
	60	10	10	100	0	0	0	0
Igarapé Grande	61	10	9	90	0	0	1	10
	62	10	9	90	0	0	1	10
	63	10	0	0	0	0	10	100
	64	10	4	40	1	10	5	50
Pedreiras	65	10	6	60	1	10	3	30
	66	10	7	70	1	10	2	20
	67	10	9	90	0	0	1	10
	68	10	7	70	0	0	3	30
Trizidela do Vale	69	10	7	70	0	0	3	30
	70	10	0	0	0	0	10	100
	71	10	1	10	0	0	9	90
	72	10	8	80	1	10	1	10

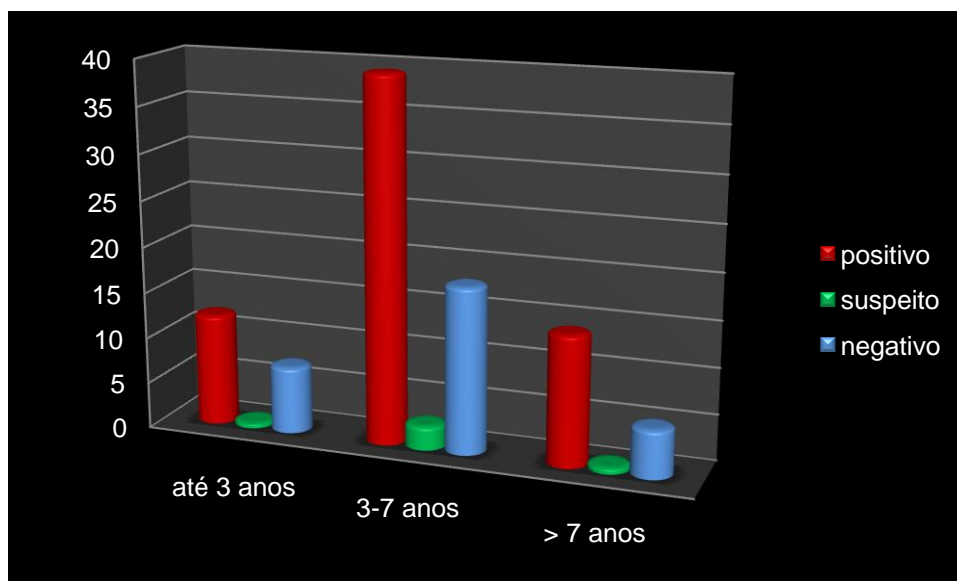
Na bacia leiteira de Bacabal, apenas 01 (uma) propriedade pertencente ao município de Bom Lugar não evidenciou amostras reagentes. As propriedades do município de Bom Lugar apresentaram o maior número de animais reagentes, 97,5% (n=39). O percentual de positividade entre as propriedades variou de 0 a 100% (tab. 7).

**TABELA 7.** Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras em propriedades da bacia leiteira de Bacabal - MA, 2008

Municípios	Propriedades	N° de Amostras	Reagentes		Suspeitos		Não Reagentes	
			n	%	n	%	n	%
Bacabal	73	10	2	20	0	0	8	80
	74	10	10	100	0	0	0	0
	75	10	10	100	0	0	0	0
	76	10	9	90	1	10	0	0
Bom Lugar	77	10	10	100	0	0	0	0
	78	10	7	70	0	0	3	30
	79	10	8	80	0	0	2	20
	80	10	0	0	0	0	10	100
Lago Verde	81	10	10	100	0	0	0	0
	82	10	10	100	0	0	0	0
	83	10	10	100	0	0	0	0
	84	10	9	90	1	10	0	0
Olho D'água das Cunhãs	85	10	7	70	0	0	3	30
	86	10	7	70	0	0	3	30
	87	10	7	70	0	0	3	30
	88	10	4	40	0	0	6	60
São Luiz Gonzaga	89	10	10	100	0	0	0	0
	90	10	5	50	0	0	5	50
	91	10	5	50	0	0	5	50
	92	10	8	80	1	10	1	10

Quanto à faixa etária foram encontradas frequências de 12,18% (n= 112) para animais com até 03 anos, 39,34% (n=362) para animais entre 03 a 07 anos e 14,13% para animais maiores de 07 anos de idade ( Fig. 7).





**FIGURA 7.** Frequência de fêmeas bovinas positivas para o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) de acordo com a faixa etária, Maranhão, 2008.

Quanto aos fatores de risco analisados nas propriedades houve associação estatística significativa para as variáveis, presença de suínos, ausência de assistência veterinária, monta natural e monta natural associada à inseminação artificial como formas de reprodução e diarréia.

Das 92 propriedades estudadas, em 26,08% (n=24) foi relatada a presença de suínos. Destas, 8,69% (n=8) recebiam assistência veterinária, sendo 100% do tipo particular. Quanto ao manejo reprodutivo empregado nas propriedades, 91,30% (n=84) faziam uso da monta natural (MN), 2,18% (n=2) utilizavam somente a inseminação artificial (IA) e em 6,52% (n=6) utilizava-se a IA associado à monta natural (tab. 8).

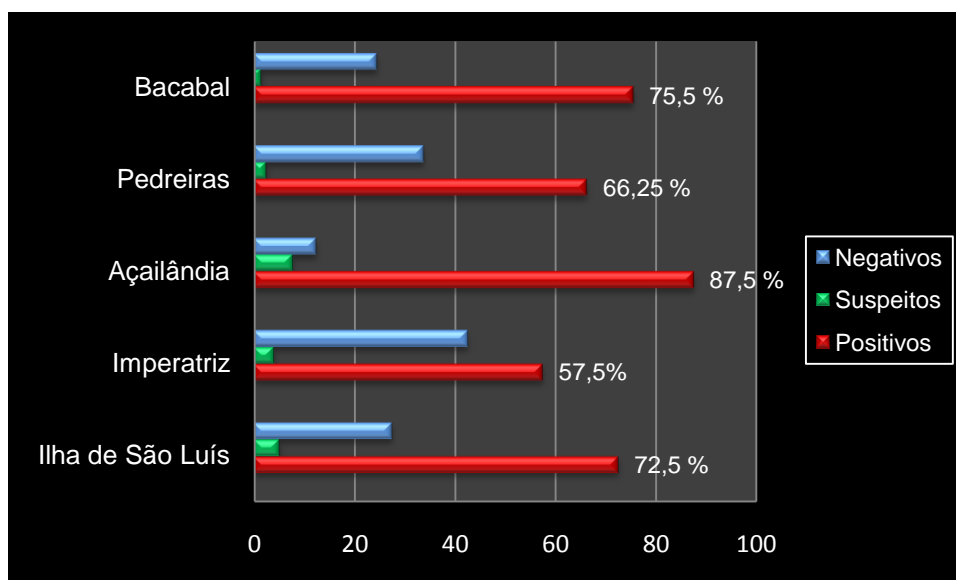
**TABELA 8.** Fatores de risco para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas na bacia leiteira do estado do Maranhão, 2008

		Reagentes		Não Reagentes		Total		OR	IC 95%	Valor de P
		N	%	N	%	N	%			
Tipo de Ordenha	Manual	590	67,00	276	30,00	866	97,00	0.76	0.24;2.14	0.80
	Mecânica	14	2,00	5	1,00	19	3,00			
Aquisição de Animais	Região	574	52,86	275	25,32	849	78,18	--	--	0,23**
	Estado	105	9,67	67	6,17	172	15,84			
Presença de Ovinos/Caprinos	Estados	42	3,87	23	2,12	65	5,99	0.89	0.64;1.23	0.50
	Sim	142	16,00	72	8,00	214	24,00			
Presença de Suínos	Não	462	52,00	209	24,00	671	76,00	1.53	1.08;2.16	0.01*
	Sim	164	19,00	55	6,00	219	25,00			
Produção de Leite/Vaca	1 - 5 L	418	47,18	202	22,80	620	69,98	--	--	0,69**
	6 - 10 L	180	20,31	76	8,58	256	28,89			
	> 10 L	7	0,80	3	0,33	10	1,13			
Assistência Veterinária	Sim	40	5,00	37	4,00	77	9,00	0.46	0.29;0.74	0.00 *
	Não	564	64,00	244	28,00	808	91,00			
Reprodução	MN	562	63,50	245	27,69	807	91,19	--	--	0,00 *
	IA	34	3,85	25	2,82	59	6,67			
	MN + IA	8	0,90	11	1,25	19	2,15			
Sinais Digestivos	Sim	95	11,00	51	6,00	146	16,00	0.84	0.57; 1.2	0.38
	Não	509	58,00	230	26,00	739	84,00			
Diarreia	Sim	75	8,00	41	6,00	116	14,00	0.63	0.43;0.94	0.02*
	Não	529	60,00	240	26,00	769	86,00			
Sinais Reprodutivos	Sim	578	65,00	271	31,00	849	96,00	0.82	0.39;1.72	0.71
	Não	26	3,00	10	1,00	36	4,00			
Abortamento	Sim	578	65,00	271	31,00	849	96,00	0.82	0.39;1.72	0.71
	Não	26	3,00	10	1,00	36	4,00			

(\*) Associação significativa ao nível de 5%

(\*\*) Teste de Qui-quadrado

A prevalência observada (PO) da infecção pelo BVDV no Estado do Maranhão foi de 69,45%. Para as bacias leiteiras da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal de 72,50%, 57,5%, 87,5%, 66,25% e 75,5%, respectivamente (Fig. 8).



**FIGURA 8.** Prevalência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em fêmeas bovinas leiteiras nas regionais da Ilha de São Luís, Imperatriz, Açailândia, Pedreiras e Bacabal do estado do Maranhão, 2008.

*Discussão*

---

## **5 DISCUSSÃO**

A frequência de bovinos reagentes para o BVDV, no estudo, foi de 65,66%. Esse valor foi ligeiramente superior aos encontrados por Guimarães et al. (2000), no estado de Goiás, que utilizando a mesma técnica (ELISA-I), obtiveram frequência de 47,83% de um total de 207 amostras analisadas. Tal diferença pode estar relacionada ao tamanho da amostra utilizada na pesquisa. Entretanto, os resultados dos dois estudos indicam que a infecção por este vírus, ocorre em frequências importantes nos rebanhos bovinos e, ao contrário das afirmações feitas por muitos profissionais ligados à pecuária bovina, que a BVD é uma doença exótica no Brasil os resultados dos dois trabalhos mostram o contrário.

As frequências encontradas por regional mostram que houve uma dispersão relativamente aos resultados encontrados nas diferentes regionais, registrando-se maior variação entre as de Imperatriz (53,57%) e Açailândia (80%). Os percentuais de animais reagentes por regional estão dentro dos previstos por outros autores (RIBEIRO et al., 1987; LANGONI et al., 1995; FIGUEIREDO et al., 1997; RICHTZEINHAIN, 1997).

Nos 23 municípios estudados, 100% apresentaram pelo menos 03 animais reagentes. O percentual de soropositividade variou de 7,5 a 97,5%. Esses resultados diferem dos encontrados por Vieira et al. (1999), que utilizando a mesma técnica, ao analisar amostras de 23 municípios de Goiás, detectaram que 52% (n=15) destes apresentaram amostras positivas. Essa variação pode estar relacionada a questões regionais, tipo de exploração e idade dos animais utilizados no estudo.

Das 92 propriedades amostradas, 94,57% (n=84) apresentaram pelo menos um animal reagente ao BVDV, resultados semelhantes aos encontrados em outros países (RIEDEMANN et al., 1996; LUZZAGO et al., 1999; MOCKELIUNIENE et al., 2004). Em relação ao Brasil, o percentual encontrado no presente estudo corrobora com Guimarães et al. (2000) no estado de Goiás, Dias e Samara (2003), no estado de Minas Gerais e noroeste do estado de São Paulo e Krahl et al. (1997) no estado do Rio Grande do Sul. Apenas 5,43% (n=08) propriedades não apresentaram amostras positivas. Os resultados do

presente estudo indicam que a infecção está amplamente distribuída na região estudada.

O percentual de positividade para BVDV, por propriedade, variou de 0 a 100%. Essa variação ocorreu tanto nas propriedades onde houvera aquisição recente de animais como naquelas que não receberam novos bovinos há pelo menos 01 ano, o que significa que a fonte de infecção deve provavelmente estar dentro das próprias fazendas.

Os resultados referentes à faixa etária indicam que estatisticamente não houve diferença significativa ( $P= 0,21$ ) entre a população estratificada. Entretanto, esses achados demonstram um crescimento nos índices de soropositividade de acordo com a idade. Situação semelhante foi observada por Castro et al. (1993), e esses resultados podem ser explicados biologicamente. É razoável supor que quanto maior a idade do animal, maiores são as chances de ele se expor ao agente. À medida que vão adquirindo mais idade, vão convivendo com outros animais que podem estar infectados, principalmente quando entram na idade reprodutiva. Além disso, na idade adulta os animais estão no ápice das suas atividades produtivas e reprodutivas, sendo exigidos ao máximo.

Esses resultados diferem dos encontrados por Quincozes et al. (2007), que detectaram uma maior prevalência para a faixa etária de 07 a 12 meses. Entretanto, é necessário chamar a atenção para a interpretação dos resultados obtidos nesse estudo, uma vez que, em alguns animais, anticorpos passivos podem persistir por até 01 ano de idade (CORIA & McCLURKIN, 1978), o que pode ter levado a uma superestimativa dos reais resultados.

Em relação ao tipo de ordenha verificou-se que as frequências mais elevadas foram encontradas nas propriedades que realizavam ordenha manual (67%), entretanto, não houve associação significativa desta variável. A ordenha mecânica foi considerada fator de risco para a infecção pelo BVDV, por Quincozes et al. (2007), embora não existam outros relatos na literatura dessa situação. Já, Samara e Dias, (2004) concluem que as maiores ocorrências de animais reagentes para BVDV são encontradas nos rebanhos menos tecnificados corroborando com os resultados do presente estudo.

A variável aquisição de animais não está associada à soropositividade para o BVDV. Observou-se soropositividade de 52,86%, 9,67% e 3,87%, para animais adquiridos da própria região, estado e outros estados, respectivamente. A maior frequência observada nos animais adquiridos da região mostra que a fonte de infecção deve estar provavelmente circulando nos rebanhos das próprias propriedades e não oriunda de outros estados.

A circunstância de que amostras de pestivirus isolados de bovinos podem infectar ovinos e suínos, leva a necessidade de se considerar esta possibilidade, quando se estuda a BVD onde diferentes espécies de animais são criadas simultaneamente (NETTLETON, 1987). O contato de bovinos com ovinos e caprinos mostrou não ser um fator de risco para a BVD; entretanto, propriedades que criam concomitantemente bovinos e suínos têm um risco 1,53 vezes maior de apresentar a doença que propriedades que não criam. Os suínos são susceptíveis à infecção, tanto natural como experimental, com o BVDV. É possível que esta espécie tenha um importante papel na epidemiologia dessa infecção (CELEDÓN et al., 2001; VOGEL et al., 2001; PESCADOR et al., 2004), cabendo aos suínos a habilidade de se tornarem infectados assintomaticamente. (SNOWDON, 1975; HARKNESS et al., 1978; DOYLE e GEUSCHELE, 1983).

A variável produção de leite/vaca mostrou maior frequência de animais reagentes nas propriedades com produção de 1 a 5 litros de leite (47,18%), apesar de não ter havido associação significativa da variável ao risco de infecção pelo BVDV. Esse resultado pode não ser conclusivo, necessita-se de maiores estudos, uma vez que as infecções que causam distúrbios reprodutivos de modo geral, podem apresentar redução na produção de leite. Segundo Bennet et al. (1999a) e Lindberg (2003), há uma associação negativa entre vacas não vacinadas infectadas pelo vírus e a produtividade destes animais, ou seja, a produção de leite nestes rebanhos pode sofrer queda de até 30%. Portanto, é necessário o monitoramento mais efetivo dessa produção.

Em relação à assistência veterinária, verificou-se frequência mais elevada (64%) nos animais procedentes das propriedades que não utilizavam assistência técnica, quando comparadas àquelas que a utilizavam (5%). No

presente estudo, a ausência de “assistência veterinária” foi considerada fator de risco para BVDV. Propriedades que não tiveram assistência veterinária apresentaram um risco maior de apresentar o BVDV que propriedades que tiveram. A falta de assistência médica veterinária pode ter se refletido especialmente no diagnóstico e na ausência de implantação de programas de controle para BVD.

Propriedades que utilizavam somente monta natural (MN) como forma de reprodução tiveram o touro como fator de risco para BVD, o que corrobora com os estudos de Whitmore et al. (1978), Revell et al. (1988), Kirkland et al. (1991) e Fray et al. (2000), ao observarem que o sêmen de reprodutores cursando a forma aguda da doença pode se tornar fonte transitória de infecção. O mesmo ocorreu em propriedades que associavam monta natural com a inseminação artificial (IA). Touros infectados que realizam cobertura natural, é um fator de risco, dependente da eliminação do vírus ou não no sêmen, no momento da monta, e do número de fêmeas cobertas. Em propriedades que utilizavam somente IA, esta mostrou não ser um fator de risco, apesar de Weiblen (1991) a considerar como forma de transmissão. A utilização de IA com sêmen sabidamente livre de vírus pode ser considerada um fator de controle desta infecção.

A variável, sinais digestivos não foi considerada fator de risco para a infecção pelo BVDV, diferentemente, a variável diarreia apresentou associação estatística significativa para a ocorrência da infecção. Segundo Flores (2003), a BVD, pode provocar quadros febris, acompanhado por hipersalivação, descarga nasal, tosse e diarreia.

Acerca do histórico de sinais reprodutivos e abortamento nas propriedades estudadas, verificou-se que a frequência de animais reagentes foi mais elevada entre os animais daquelas propriedades que apresentavam histórico de alterações reprodutivas (65%) e menores naquelas em que tal situação não ocorria (3%). Entretanto, os sinais reprodutivos e abortamento, nesse estudo não foram considerados fator de risco para a infecção, apesar de Ellis (1995) e Flores (1997) considerarem que o maior impacto econômico do BVDV na pecuária deve-se aos problemas reprodutivos.



A prevalência encontrada no estudo foi de 69,45%. Valor que está de acordo com as estimativas de prevalência de anticorpos contra o BVDV na população bovina, que de acordo com Brownlie (1990) e Houe (1999) está em torno de 50 a 90%. Também da mesma maneira, essa prevalência assemelha-se aos valores encontrados por Richtzenhain (1997), que ao analisar 2.448 amostras provenientes de 56 propriedades em diversos Estados pela técnica de ELISA, encontrou prevalência de 65% em Minas Gerais, 84% no Mato Grosso do Sul, 67% no Paraná, 71% no Rio de Janeiro, 73% no Rio Grande do Sul e 78% em São Paulo e 61 % por Mineo et al., (2002) no Triângulo Mineiro.

Confrontando os resultados encontrados no presente estudo com os descritos para as outras regiões do país com a utilização da técnica de soroneutralização (SN), observa-se uma pequena diferença entre as prevalências. Como exemplos, no estado do Pernambuco, Castro et al. (1993) constataram prevalência de anticorpos de 72,6%. Já Mello et al. (1997) no Estado de Sergipe, descreveram dados de prevalência de 71,18%. Vilela et al. (2004), no estado do Rio Grande do Sul (RS), encontraram prevalência de 70,18% em 218 amostras testadas. E, Quincozes (2007), ainda no RS determinou prevalência de 66,32%. Essa pequena diferença pode estar relacionada tanto à metodologia empregada, como, ao tipo de população bovina utilizada, ao uso de diferentes técnicas de amostragem, à origem e ao manejo dos animais testados e por diferenças regionais (LOVATO et al., 1995a; PITUCO & DEL FAVA, 1998).

É importante ressaltar que a pesquisa sorológica demonstrou a frequência atual da infecção pelo BVDV no rebanho bovino de aptidão leiteira no estado do Maranhão. A soropositividade para o BVDV representa a presença de animal portador e potenciais disseminadores do vírus no rebanho. Portanto, no geral, o estudo realizado mostrou que o BVDV consiste em mais um problema sanitário com o qual os produtores têm de conviver.

Em consequência de altas frequências do BVDV, torna-se importante alertar sobre os mecanismos para o controle desta doença. Para a redução gradativa dos índices de soropositividade e prevenção de novas infecções é necessária a combinação de medidas de controle, como, remoção gradual de

animais infectados, utilização de vacinas que permitam a diferenciação entre animais vacinados e infectados, realização de quarentena ao ingresso de bovinos na propriedade e, exames sorológicos anuais, buscando impedir a reintrodução dessa doença no rebanho (ROCHA et al., 2001). Além disso, em propriedades que utilizam a inseminação artificial como forma de reprodução é importante que sejam utilizadas algumas medidas de biossegurança, como a utilização de sêmen certificado como livre de BVDV (ROEHE et al., 1998).

Os dados de frequência e prevalência aqui obtida são preocupantes, já que as propriedades estudadas não adotam a vacinação em seu manejo sanitário e, portanto, os anticorpos encontrados, não são de origem vacinal. Os resultados obtidos demonstram pela avaliação sorológica que a infecção poderá não garantir a eles o “status” imunológico de proteção e que a imunidade do rebanho obtida pela infecção poderia ser reforçada pela vacinação. Considerando que o “status” imunológico dos rebanhos pode ser muito heterogêneo em termos de presença de anticorpos é muito importante pensar no tipo de vacina que poderá ser utilizada.

Considerando que esses rebanhos são sorologicamente positivos. Vacinas com antígenos expostos seriam prejudicadas pela presença de anticorpos, portanto, as vacinas oleosas seriam as mais adequadas já que os anticorpos pré-existent não irão interferir com a resposta imunológica.

A partir deste estudo, surge a necessidade da realização de outros, que venham a elucidar esta enfermidade, com a identificação dos animais PI e das cepas virais encontradas no estado, correlacionando com as já identificadas em outros estados e países. Assim como, a certificação da viabilidade e da eficácia das vacinas inativadas para uso a campo e da elaboração de vacinas vivas com cepas próprias do estado do Maranhão.

## *Conclusões*

---

---

## **6 CONCLUSÕES**

Com base nos resultados desta pesquisa pode-se concluir que:

1. Os dados de frequência e prevalência da infecção pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no estado do Maranhão foram elevados;
2. Pela distribuição de animais reagentes para o BVDV nas propriedades estudadas, pode-se afirmar que o vírus encontra-se difundido no rebanho bovino de aptidão leiteira no estado do Maranhão;
3. Animais entre 3 e 7 anos de idade apresentaram maior frequência de anticorpos;
4. Os fatores de risco associados à soropositividade para o BVDV foram: presença de suínos, assistência veterinária, uso de monta natural, monta natural associada à inseminação artificial e diarréia;
5. Baseando-se nestes dados de frequência e prevalência no rebanho bovino leiteiro do Maranhão, recomenda-se que sejam tomadas medidas de prevenção e controle, como remoção gradual de animais infectados, realização de quarentena ao ingresso de novos animais nas propriedades, realização de exames sorológicos e vacinações.

## *Referências*

---

## REFERÊNCIAS

ALVES, D.; TREMBLAY, R.; GODKIN, A.; ANDERSON, N.; CARMAN, S.; McEWEN, B.; HAZLETT, M. Update on bovine virus diarrhoea in Ontario. **Can. Vet. J.**, v. 37, p.177, 1996.

ARENHART, S.; SILVA, L. F.; HENZEL, A.; FERREIRA, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Proteção fetal contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em vacas prenhes previamente imunizadas com uma vacina experimental atenuada. **Pesq. Vet. Bras.**, v.28, n.10, p. 461- 470, 2008.

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, n. 1/2, p.93-102, 2008.

BAKER, J.C. Bovine Viral Diarrhoea Virus: A Review. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 190, n.11, p. 1449-1457, 1987.

BAKER, J.C. Clinical aspects of bovine virus diarrhoea infection. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.**, v.9, p.25-41, 1990.

BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. **Vet. Clin. North Am.**, v. 11, p. 425 – 445, 1995.

BANCHEREAU, J.; BRIERE, F.; CAUX, C.; DAVOUST, J.; LEBECQUE, S.; LIU, Y.J.; PULENDRAN, B. & PALUCKA, K. Immunobiology of dendritic cells. **Annu. Rev. Immunol.**, v.18, p.767-811, 2000.

BARLOW, R.M.; NETTLETON, P.F.; GARDINER, A.C.; GREIG, A.; CAMPBELL, J.R. & BONN, J.M. Persistent bovine virus diarrhoea virus infection in a bull. **Vet. Rec.**, v. 118, p.321-324, 1986.

BEER M., HEHNEN H.R., WOLFMEYER A., POLL G., KAADEN O.R.; WOLF G. A new inactivated BVDV genotype I and II vaccine. An immunization and challenge study with BVDV genotype I. **Vet. Microbiol.**, v. 77, p. 195-208, 2000.

BENNETT, R. M.; CHRISTIANSEN, K.; CLIFON-HADLEY, R. S. Modeling the impact of livestock disease on production: case studies on non-notifiable diseases on farm animals in Great Britain. **Anim. Sci.**, v. 68, p. 681 – 689, 1999a.

BENNETT, R. M.; CHRISTIANSEN, K.; CLIFON-HADLEY, R. S. Preliminary estimates of the direct costs associated with endemic diseases of livestock in Great Britain, **Prev. Vet. Med.**, v. 39, p. 155 – 171, 1999b.

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, p.447-476, 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.

BOLIN, S.R.; McCLURKIN, A.W.; CUTLIP, R.C. & CORIA, M.F. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, p. 573-578, 1985a.

BOLIN, S.R.; McCLURKIN, A.W.; CUTLIP, R.C. & CORIA, M.F. Response of cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus to vaccination for bovine viral diarrhoea and to subsequent challenge exposure with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, n.12, p. 2467-2470, 1985b.

BOLIN, S.R.; McCLURKIN, A.W. & CORIA, M.F. Frequency of persistent bovine viral diarrhoea virus infection in selected cattle herds. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, n.11, p. 2385-2387, 1985c.

BOLIN, S.R.; McCLURKIN, A.W. & CORIA, M.F. Effects of bovine viral diarrhoea virus on percentages and absolute numbers of circulating B and T lymphocytes in cattle herds. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, p. 884-886, 1985d.

BOLIN, S.R. Control of bovine viral diarrhoea infection by use of vaccination. In: Backer, J.C.; Houe, H. (Eds.), Bovine Viral Diarrhoea Virus. **Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.** 11pp. 615-627, 1995.

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

BOTTON, S.A.; GIL, L.H.V.G.; SILVA, A.M.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; PITUCO, E.M.; ROEHE, P.M.; MOOJEN, V.; WENDELSTEIN, A.C. Caracterização preliminar de amostras do vírus da diarréia viral bovina (BVDV) isoladas no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 18, p. 84-92, 1998a.

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, 1998b.

BRACKENBURY, L.S.; CARR, B.V.; CHARLESTON, B. Aspects of the innate and adaptive immune responses to acute infections with BVDV. **Vet. Microbiol.**, v.96, p.337-344, 2003.

BRITO, W.M.E.D.; SOUZA, W.J.; VIEIRA, S.; LINHARES, D.C.L.; BARBOSA, A.C.V.C.; ALFAIA, B.T. Serological study on bovine viral diarrhoea in non vaccinated dairy herds with reproductive disorders from Goiás. **J. Braz. Soc. Virol.**, v.7, n.1, p.144, 2002. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, XIII, 2002, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia, SP: Sociedade Brasileira de Virologia, 2002. p. 144.

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

BROWN, T.T.; deLAHUNTA, A.; SCOTT, F.W.; KAHRS, R.F.; McENTEE, K. & GILLESPIE, J.H. Virus induced congenital anomalies of the bovine fetus. II. Histopathology of cerebellar degeneration (hypoplasia) induced by the virus of bovine viral diarrhoea-mucosal disease. **Corn. Vet.**, v.63, p. 561-578, 1973.

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

BROWNLIE, J.; CLARK, M.C. & HOWARD, C.J. Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. **Vet. Rec.**, v.114, p. 535-536, 1984.



BROWNLIE, J. Clinical aspects of bovine viral diarrhoea/mucosal disease complex in cattle. **In Practice**, v.7, p.159-202, 1985.

BROWNLIE, J.; CLARK, M.C. & POCOCCO, D.H. Pathogenesis and Epidemiology of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection of Cattle. **Ann. Rech. Vet.**, v.18, p.157-166, 1987.

BROWNLIE, J.; CLARK, M.C. & HOWARD, C.J. Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. **Res. Vet. Sc.**, v.46, n.3, p. 307-311, 1989.

BROWNLIE, J. The pathogenesis of bovine viral diarrhoea virus infections. **Rev. Sc. Technology**, Office International des Epizooties, v.9, p.43-59, 1990.

BROWNLIE, J.; CLARKE, M.C, HOOPER, L.B.; BELL, G.D. Protection of the bovine foetus from bovine viral diarrhoea virus by means of a new inactivated vaccine. **Vet. Sci.**, v. 137, p. 58-62, 1995.

BRUM, M.C. S.; SCHERER, C.F.C.; FLORES, E.F; WEIBLEN, F.; BARROS, C.S.L; LANGOHR, I.M. Enfermidade gastroentérica e respiratória em bezerros inoculados com amostras brasileiras do vírus da diarréia viral bovina tipo 2 (BVDV-2). **Ciência Rural**, v.32, p.803-820, 2002.

BRUSCHKE, C. J. M.; WEERDMEESTER, K.; VAN OIRSCHOT, J. T. & VAN RIJN, P. A. Distribution of bovine virus diarrhoea virus in tissues and white blood cells of cattle during acute infection. **Vet. Microbiol.**, v.64, p.23-32, 1998.

CANAL, C.W.; STRASSER, M.; HERTIG, C.; MASUDA, A.; PETERHANS, E. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. **Vet. Microbiol.**, v. 63, n. 2-4, p. 85-97, 1998.

CARRUTHERS, T.D.; PETRIE, L. A survey of vaccination practices against bovine viral diarrhoea (BVD) virus in Saskatchewan dairy herds. **Can. Vet. J.**, v. 37, p. 621-622, 1996.

CASARO, A.P.E.; KENDRICK, J.W. & KENNEDY, P.C. Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus. **Am. J. Vete. Res.**, v.32, p.1543-1562, 1971.

CASTRO, R.S.; MELO, L.E.H.; ABREU, S.R.O.; MUNIZ, A. M.M.; ALBUQUERQUE, A.P.S. Anticorpos neutralizantes contra pestivirus em soros bovinos do estado do Pernambuco. **Pesq. Agropec. Bras**, v.28, n.11, p.1327-1331, 1993.

CASTRO, R.S.; RABEL, S.S.A.; NASCIMENTO, S.A.; FRUTUOSO, E.M.; SILVA, F.A.G. HVB-1 e VDBV/EM em surtos de broncopneumonia na microregião de Garanhuns em Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, XXIII, 1994, Olinda. **Resumos...** Olinda, PE: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1994. p. 251.

CELEDÓN, M.O. Nuevos antecedentes en el comportamiento del virus de la diarrea viral bovina. Situación en Chile. **Avances en Ciencias Vet.**, v.8, n.1, p.11-17, 1993.

CELEDÓN, M.O.; VARGAS, C.; PALACIOS, L.; IBARRA, L.; ROCO, L.; CARBONELL, J.; SANTIBANEZ, M.; PIZARRO, J.; BERRIOS, P. Virus Diarrea Viral Bovina. Prospección en bovinos de la región metropolitana, Chile. In: PANVET, XV, 1996, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande, MT: Panamerican Association of Veterinary Sciences, 1996. n. 168, p. 294.

CELEDÓN, M.; SANDOVAL, A.; DROGUETT, J.; CALFIO, R.; PIZARRO, J.; NAVARRO, C. Pesquisa de anticorpos seroneutralizantes para pestivirus y herpesvirus en ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos de Chile. **Arch. de Med. Vet.**, v.33, n.2, p. 0-0, 2001.

CHU, H. J. et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine viral diarrhea virus in bovine sera. **Vet. Microbiol.**, v. 10, p. 325-333, 1985.

CORAPI, W.V.; DONIS, R.O. & DUBOVI, E.J. Monoclonal Antibody Analyses of Cytopathic and Noncytopathic Viruses from Fatal Bovine Viral Diarrhea Virus Infections. **J. Virol.**, v.62, n.8, p. 2823-2827, 1988.

CORAPI, W.V.; FRENCH, T.W. & DUBOVI, E.J. Severe Thrombocytopenia in Young Calves Experimentally Infected with Noncytopathic Bovine Viral Diarrhea Virus. **J. Virol.**, v.63, n.9, p. 3934-3943, 1989.

CORIA, M.F. & McCLURKIN, A.W. Specific immune tolerance in na apparently healthy bull persistently infected with BVD virus. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.172, p. 449-451, 1978.

CORREA, W.M.; NETO, L.Z.; BARROS, H.M. & GOTTSCHALK, A.F. Nota clinicopatológica de uma enfermidade das mucosas em São Paulo. **Arq. Inst. Biol.**, v.35, n.4, p. 141-151, 1968.

CORTESE, V.S.; WHITTAKER, R.; ELLIS, J.; RIDPATH, J.F.; BOLIN, S.R. Specificity and duration of neutralizing antibodies induced in healthy cattle after administration of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhoea. **Am. J. Vet. Res.**, v. 59, p. 848-850, 1998.

DAVID, G. P.; CRAWSHAW, T. R.; GUNNING, R. F.; HIBBERD, R. C.; LLOYD, G. M.; MARSH, P. R. Severe disease in adult dairy cattle in three UK dairy herds associated with BVD virus infection. **Vet. Rec.**, v. 134, p. 468 – 472, 1994.

DIAS, F.C.; SAMARA, S.I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia 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.

DINTER, Z.. A review of methods at the National Veterinary Institute. Coordinated research programme on animal disease diagnostics. **Diag. Virol.**, National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden, 1989.

DONE, J.T.; TERLECKI, S.; RICHARDSON, C.; HARKNESS, J.W.; SANDS, J.J.; PATTERSON, D.S.P.; SWEASEY, D.; SHAW, I.G.; WINKLER, C.E. & DUFFEL, S.J. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: Pathogenicity for the fetal calf following maternal infection. **Vet. Rec.**, v. 106, p.473-479, 1980.

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.** v.11, p.393-424, 1995.

DONIS, R.O. Biologia molecular del virus de Diarrea Virica Bovina. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE VIROLOGIA MOLECULAR VETERINÁRIA, 1996, Santa Maria. **Resumos...** Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria, 1996. p.111-148.

DOYLE, I. G.; GEUSCHELE, W. P. Bovine viral diarrhoea virus infection in adaptive exotic ruminants. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 183, p. 1257 - 1259, 1983.

DUBOVI, E. J. The diagnosis of bovine viral diarrhoea infections: A laboratory view. **Vet.Med.**, v.85, p. 1133 – 1139, 1990.

DUFFELL, S. J.; HARKNESS, J. W. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. **Vet. Rec.** v. 117, p. 240 – 245, 1985.

EDWARDS, S.; DREW, T.W. & BUSHNELL, S.E. Prevalence of bovine virus diarrhoea virus viraemia. **Vet. Rec.**, v.57, n.17, p. 71, 1987.

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

ENGVALL, E. & PERLMANN, P. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **J. Immunol.**, v.102, p.129-135, 1971.

FAO, **ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN**. Manual de técnicas de diagnóstico virológico, 1985.

FENNER, F. J.; GIBBS, E. P. J.; MURPHY, F. A.; ROTT, R.; STUDERT, M. J.; WHITE, D. O. **Vet. Virol.**, 2ª ed. San Diego: Academic Press, 1993a. 666p.

FERREIRA, L. C.L.; FLORES, EDUARDO F.; DRIEMEIER, D.; MELO, O.; LEMOS, R. A.A. Doença das mucosas associada à dermatite generalizada em bovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 28, n.6, p.285-292, 2008.

FIGUEIREDO, H.C.P.; VIEIRA, P.R.; LAGE, A.P.; LEITE, R.C. Prevalência de Anticorpos contra o vírus da Diarréia Bovina a vírus em Minas Gerais, Brasil. **Rev. Bras. Repr. Anim.**, v. 21, n.4, p.11-15, 1997.

FLORES, E. F. Problemas reprodutivos em bovinos causados pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV). **Ver. Bras. Repr. Anim.**, v. 21, n. 3, p. 57-61, 1997.

FLORES, E.F.; GIL, L.H.G.V.; BOTTON, S.A.; WEIBLEN, R.; RIDPATH, J.F.; KREUTZ, L.C.; PILATI, C.; DRIEMEIER, D.; MOOJEN, V.; WENDELSTEIN, A.C. Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. **Virus Rev. Res.**, v.4, suppl. 1, p.55, 1999.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; SCHERES, C.F.C.; GIL, L.H.V.G.; PILATI, C.; DRIEMEIER, D.; MOOJEN, V.; WENDELSTEIN, A.C. Identificação do vírus da Diarréia Viral Bovina tipo 2 (BVDV-2) no sul do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 20, n. 2, p.85-89, 2000a.

FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; GIL, L.H.V.G.; TOBIAS, F.L.; LIMA, M.; GARCEZ, D.C.; BOTTON, S.A. Diversidade antigênica de amostras do vírus da diarréia viral bovina isoladas no Brasil: implicações para o diagnóstico e estratégias de imunização. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** v.52, n.1, p. 11-17, 2000b.

FLORES, E.F.; RIDPATH J.; VOGEL F.S.F.; WEIBLEN R.; GIL L.H.V.G. Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2. **Virus Res.**, v. 87, p.51-60, 2002.

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

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.

FOURUCHON, C.; BEAUDEAU, F.; BAREILLE, N.; SEEGER, H. Quantification of economic losses consecutive to infection of a dairy herd with bovine viral diarrhea virus. **Prev. Vet. Med.**, v. 72, p. 177 – 181, 2005.

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. **Arch. Virol.**, [suppl.2], p.228-229, 1991.

FREY, H.R.; DEPNER, K.R.; GELFERT, C.C. & LIESS, B. BVD virus isolation techniques for routine use in cattle herds with or without previous BVD history. **Arch. Virol.**, [suppl.3], p.257-260, 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. Repr. Sci.**, v. 60-61, p.615-627, 2000.

FULTON R.W.; BURGE L.J. Bovine viral diarrhea virus types 1 and 2 antibody response in calves receiving modified live virus or inactivated vaccines. **Vaccine**, v. 19 p. 264-274, 2001.

GIL, L.H.V.G. Sequenciamento, análise filogenética e caracterização de polipeptídeos não- estruturais de amostras do vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV). Santa Maria, 1998. 69f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, UFSM, 1998.

GILLESPIE, J.H.; BAKER, J.A.& McENTEE, K. A cytopathogenic strains of vírus diarrhea virus. **Corn. Vet.**, v.50, p.73-79, 1960.

GRAHN, T.C.; FAHNING, M.L. & ZEMJANIS, R. Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhea virus. **J. Am. Veterinary Med. Assoc.**, , v.185, n.4, p.429-432, 1984.

GROOMS, D.L., BROCK, K.V., WARD, L.A. Detection of bovine viral diarrhea virus in the ovaries of cattle following immunization with a modified live bovine viral diarrhea virus vaccine. **J. Vet. Diag. Invest.**, v. 10, p. 130-134, 1998.

GROOMS, D. L. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. **Vet. Clin. North Am.**, v. 20, p. 5 – 19, 2004.

GUIMARÃES, P.L.S.N.; CHAVES, N.S.T.; SILVA, L.A.F.; ACYPRESTE, C.S. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina em bovinos do entorno de Goiânia, em regime de criação semi-extensivo. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n.2, p. 137-142, 2000.

HAMERS, C.; DI VALENTIN, E. LECOMTE, C.; LAMBOT, M.; JORIS, E.; GENICOT, B.; PASTORET, P. P. Virus Neutralising Antibodies Against 22

Bovine Viral Diarrhoea Virus Isolates in Vaccinated Calves. **The Veter. J.**, v. 163, p. 61-67, 2002.

HARKNESS, J.W.; SANDS, J.J. & RICHARDS, M.S. Serological studies of mucosal disease virus in England and Wales. **Res. Vet. Sci.**, v.24, p. 98- 103, 1978.

HORZINEK, M.C. Non-arthropod-borne togaviruses. **Academic Press**, London, 1981.

HORZINEK, M.C. Pestivirus-taxonomic perspectives. *Arch Viral., Suppl.*, v.3, p.1-5, 1991.

HOUE, H.; PEDERSEN, K.M. & MEYLING, A. The effect of bovine virus diarrhoea virus infection on conception rate. **Prev. Vet. Med.**, v.15, p. 117-123, 1993.

HOUE, H. Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. **Vet. Clin. North Am.**, v. 11, p. 521-548, 1995.

HOUE, H.; BAKER, J. X.; MAES, R. K.; et al.. Prevalence of cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus in 20 dairy herds in two counties in central Michigan and comparison of prevalence of antibody positive cattle among herds with different infection and vaccination status. **J. Vet. Diag. Invet.**, v. 7, p. 321 – 326, 1995.

HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections. **Vet. Microbiol.**, v. 64, p. 89 – 107, 1999.

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

HOWARD, C.J.; CLARKE, M.C.; BROWNLIE, J. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to bovine viral diarrhea virus (BVDV) in cattle sera. **Vet. Microbiol.**, v.10, p.359-369, 1985.

HOWARD, C.J.; BROWNLIE, J.; THOMAS, L.H. Prevalence of bovine virus diarrhoea virus viraemia in cattle in the U.K. **Vet. Rec.**, v.119, n.25/26, p.628-629, 1986.

HOWARD, C.J.; BROWNLIE, J.; CLARKE, M.C. Comparison by the neutralisation assay of pairs of non-cytopathogenic and cytopathogenic strains of bovine virus diarrhoea virus isolated from cases of mucosal disease. **Vet. Microbiol.**, v.13, p.361-369, 1987.

GUIMARÃES, P.L.S.N.; CHAVES, N.S.T.; SILVA, L.A.F.; ACYPRESTE, C.S. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina em bovinos do entorno de Goiânia, em regime de criação semi-extensivo. **Ciência Animal Brasileira**, v.1, n.2, p. 137-142, 2000.

**IBGE**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2007. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.com.br>. Acesso em: Janeiro de 2009.

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

**INAGRO**. Instituto de Agronegócios do Maranhão, 2007. Disponível em:<<http://www.inagro.org.br> Acesso em: Janeiro 2009.

KAHRS, R. F. Effects of bovine viral diarrhoea on reproduction. In: **Current Therapy in Theriogenology**. Philadelphia, W. B. Saunders, p. 498 – 502, 1981.

KENDRICK, J.W. Bovine viral diarrhoea virus induced abortion. **Theriog.**, v.5, p.91- 93, 1976.

KIRKLAND, P.D.; RICHARDS, S.G.; ROTHWELL, J.T. & STANLEY, D.F. Replication of bovine viral diarrhoea virus in the bovine reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. **Vet. Rec.**, v.128, p.587-590, 1991.

KRAHL, M.; BRAGA, A.C.; OLIVEIRA, L.G.; NETO, J.A.S.P.; PRADO, J.A.P.; ROSA, J.C.A.; WUNDER JÚNIOR, E. Pesquisa de anticorpos para leptospirose, Rinotraqueíte Infecciosa Bovina e Diarreia Viral Bovina em soros bovinos de propriedades rurais do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO



BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25, 1997, Gramado. **Anais...** Gramado, RS: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1997. INF 075, p. 174.

KUNRATH, C.F.; VOGEL, F.S.F.; OLDONI, I.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; DEZENGRINI, R.; TORRES, F.D.; PAN, K.A. Soroneutralização e imunofluorescência utilizando anticorpos monoclonais no diagnóstico rápido de infecções pelo herpesvírus bovino tipos 1 e 5 (BHV-1 e BHV-5). **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1877-1883, 2004.

LANGONI, H.; PAES, A.C.; TONIN, F.B.; SILVA, A.V.; DENARDI, M. B.; Prevalence of BVD, IBR and PI 3 in bovine by ELISA test. I: **VIROLOGIA**, 5, Ribeirão Preto, 1995. **Anais...** Sociedade Brasileira de Virologia, 1995.

LIESS, B.; FREY, H.R.; KITTSTEINER, H.; BAUMANN, F. & NEUMANN, N. Beobachtungen und Untersuchungen über die "Mucosal Disease" des Rindes. **Dt. Tierärztl. Wschr.**, v. 81, p. 477-500, 1974.

LIESS, B.; ORBAN, S. & FREY, H. Studies on the transmissibility of a bovine virus diarrhoea (BVD) vaccine virus in cattle. **Zentr. Vet. [B]**, v.31, p. 669-681, 1984.

LIMA, M.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ARENHART, S. Caracterização de amostras atenuadas do vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) tipos 1 e 2 para uso em vacinas. **Pesq. Vet. Bras.** V.24, n.1, p. 35-42, 2004.

LIMA, M.; VOGEL, F. S. F.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R. Anticorpos neutralizantes contra o vírus da diarréia vira bovina (BVDV): comparação entre um imunógeno experimental atenuado e três vacinas comerciais inativadas. **Ciência Rural**, v.35, n.1, p.230-234, jan-fev, 2005.

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

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

LITTLEJOHNS, I. & WALTER, K.H. A etiology and pathogenesis of mucosal disease of cattle, current concepts, observations and speculation. **Aust. Vet. J.**, v.62, p.101-103, 1985.

LONERAGAN, G.H.; THOMSON, D.U.; MONTGOMERY, D.L.; MASON, G.L.; LARSON, R.L. Prevalence, outcome, and health consequences associated with persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in feedlot cattle. **J. Am. Vet. Med. Assoc**, v. 226. p. 596-601, 2005.

LOVATO, L. T.; WEIBLEN, R.; TOBIAS, F. L.; MORAES, M. P. Herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1): inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 25, n. 3, p. 425-430, 1995a.

LOVATO, L. T. BHV-1 E BHV-5, Isolamentos e Sorologia no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 1998. p. 97-100.

LUZZAGO, C.; PICCININI, R.; ZEPPONI, A.; ZECCONI, A. Study on prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in 29 Italian dairy herds with reproductive problems. **Vet. Microbiol.**, v. 64, p. 247-252, 1999.

MAISONNAVE, J. Situacion de BVDV en Uruguay. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 1998. p. 67-68.

MALMQUIST, W.A. Bovine viral diarrhoea-mucosal disease: etiology, pathogenesis and applied immunity. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.152, p.763-768, 1968.

MARLEY, M.S.D.; TABOR, J.M.; GIVENS, M.D; KAPROTH, M.; RIDDELL, K.P.; GALIK, P.K.; ZHANG, Y.; EASON, A.B. Bovine viral diarrhoea virus is inactivated when whole milk from persistently infected cows is heated to prepare semen extender. **Vet. Microbiol.**, v. 134, n.3-4, p. 249-253, 2009.

McCLURKIN, A.W.; CORIA, M.F.; SMITH, R.L. Evaluation of acetyleneimine-killed bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus (BVD)

vaccine for prevention of BVD infection of the fetus, In: **Proc. 79 th. Ann. Meet. US Anim. Health Assoc.**, p.114-123, 1975.

McCLURKIN, A.W.; CORIA, M.F.; CUTLIP, M.C. Reproductive performance of apparently healthy cattle persistently infected with BVD virus. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.174, p.1116-1119, 1979.

McCLURKIN, A.W.; LITLEDIKE, 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.**, v.48, p.156-161, 1984.

McGOWAN, M. R.; KIRKLAND, P. D; RICHARDS, S. G.; et al.. Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. **Vet. Rec.** v. 133, p. 39 – 43, 1993.

MELO, C. B; OLIVIRA, A.M; FIGUEIREDO, H.C.P; LEITE, R.C; LOBATO, Z.I.P. Prevalência de anticorpos contra herpesvírus bovino 1, vírus da diarreia viral bovina a vírus e vírus da leucose enzoótica bovina em bovinos do Estado de Sergipe, Brasil. **Ver. Bras. Repr. Anim.**, v.21, n.2, p. 160-161, 1997.

MEYERS, G.; RÜMENAPF, T. & THIEL, H.J. New Aspects of Positive-Strand RNA Viruses. Ed. by Margo A. Brinton and Franz X. Heins, 1990. cap. 4, p.25-30: Insertion of Ubiquitin-Coding Sequence Identified in the RNA Genome of a Togavirus.

MEYERS, G.; TAUTZ, N.; DUBOVI, E.J. & THIEL, H.J. Viral cytopathogenicity correlated with integration of ubiquitin-coding sequences. **Virology**, v.180, p. 602-616, 1991.

MEYERS, G.; THIEL, H.J. Molecular characterization of pestiviruses. **Adv. Virus Res.**, v. 47, p. 53-118, 1996.

MEYLING, A.; RONSHOLT, L.; DALSGAARD, K. & JENSEN, A.M. Experimental exposure of vaccinated and non-vaccinated pregnant cattle to isolates of bovine viral diarrhoea virus (BVDV). **Comm. Eur. Commun. Agric. Pest. Infec. Rumin.**, p.225-232, 1987.

MEYLING, A.; HOUE, H.; JENSEN, A. M. Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.**, v. 9, p. 75 – 93, 1990.

MINEO, T.W.P.; MONTASSIER, H.J.; BJÖRKMAN, C.; NÄSLUND, K.; UGGLA, A. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea virus and bovine herpesvirus type I in two abortion prone dairy herds in the triângulo mineiro region. **J. Brazil. Soc. Virol.**, v.7, n.1, p.145, 2002. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, XIII, 2002, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia, SP: Sociedade Brasileira de Virologia, 2002. p. 145.

MOCKELIUNIENE, V.; SALOMSKAS, A.; MOCKELIUNAS, R.; PETKEVICIUS, S. Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. **Vet. Microbiol.**, v. 99, p. 51-57, 2004.

MOENNIG, V. & PLAGEMANN, P.G.W. The pestiviruses. **Advances Virus Research**, Academic Press, v.41, p.53-98, 1992.

MOERMAN, A.; STRAVER, P.J.; DE JONG, M.C.M., QUAK, J.; BAANVIRGER, T.H.; VAN OIRSCHOT, J.T. A long term epidemiological study of bovine viral diarrhoea infections in a large herd of dairy cattle. **Vet. Rec.**, v. 132, n. 25, p. 622-626, 1993.

MUÑOZ, D.P.; LAGER, I.A.; MERSICH, S.; ZÁBAL, O.; ULLOAS, E.; SCHUDEL, A.A.; WEBER, E.L. Foetal infections with bovine viral diarrhoea virus in Argentina. **Br. Vet. J.**, v.152, n.2, p.175-182, 1996.

NETTLETON, P.F. Pathogenesis and epidemiology of Border Disease. **Ann. Research Vet.**, v.18, p.147-155, 1987.

NORONHA, R.P.; CAMPOS, G.S.; SARDI, S.I. Pesquisa do vírus da diarréia viral bovina em bovinos jovens. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.40, p.424-430, 2003.

OIE. **Manual of standards for diagnostic test and vaccines**. Paris: Office International des Epizootias, 2000. 4<sup>th</sup> Ed.

OLAFSON, P; McCALUM, A.D; FOX, F.H. Na apparently new transmissible disease of cattle. **Corn. Vet.**, v.36, p.205-213, 1946.

OLIVEIRA, L.G.; OLIVEIRA, E.A.S.; SILVA, L.H.T.; VIEIRA, L.A.; HOFFMANN, V.L.; FERNANDES, G.V.; SILVA, T.C.; CALDAS, A.P.F.; ROEHE, P.M.

Presença de pestivirus e anticorpos contra pestivirus em soros e cultivos celulares. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.48, n.5, p. 513-521, 1996.

OSBURN, B.I. Bovine virus diarrhea: molecular studies. **Proc. 11th Int. Symp. Wild. Assn. Vet. Microb.**, Immunol Spec. Inf. Dis., p.253-256, 1989.

PATON, D.J.; BROCKMAN, S. & WOOD, L. Insemination of susceptible and preimmunized cattle with bovine viral diarrhoea virus infected semen. **Brit. Vet. J.**, v. 146, n.2, p. 171-174, 1990.

PATON, D.J. Pestivirus diversity. **J. Compar. Pathol.**, v. 112, p. 215-236, 1995.

PELLERIN, C.; HURK, J.V.D.; LECOMTE, J. & TUSSEN, P. Identification of a New Group of Bovine Viral Diarrhea Virus Strains Associated with Severe Outbreaks and High Mortalities. **Virology**, v. 203, p. 260-268, 1994.

PELLEGRIN, A.O.; SERENO, J.R.B.; LEITE, R.C. Seropositivity to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) in Zebu cows in the Brazilian Pantanal. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v.49, n. 3, p. 375-377, 1997.

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.; LIESS, B.; FREY, H.R. & TRAUTWEIN, G. In: Pestivirus Infections of Ruminants, 1987. (ed. Harkness, J.W.). Comm. Eur. Commun [Rep.] EUR, 1987, p. 133-145.

PILZ, D.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Comparação de diferentes protocolos para detecção do vírus da diarréia viral bovina por RT-PCR em grupos de sangue total e de soro sanguíneo, artificialmente contaminados. **Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 219-228, 2005.

PILZ, D.; ALFIERI, A.F.; LUNARDI, M.; ALFIERI A.A. RT-PCR em *pools* de soros sanguíneos para o diagnóstico da infecção aguda e de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarréia viral bovina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**,v.59, p.1-7, 2007.

PINTO, G.B.; HAWKES, P.; ZABAL, O. Viral antibodies in bovine fetuses in Argentina. **Res. Vet. Sci.**, v.55, p. 385-388, 1993.

PINTO, A.M.V.; ROMIJN, P.C.; SILVA, R.C.F.; MARTINS, L.L.; WEIBLEN, R.; ROEHE, P.M.; KIMURA, L.M.S.; ALFIERI, A.A. & LEITE, J.P.G. Detection of bovine viral diarrhoea virus in brain of bovines with clinical symptoms of neurological disorders. **J. Braz. Soc. Virol.**, v.6, n.2, p.146, 2001. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, XII, 2001, Caldas Novas. **Resumos...** Caldas Novas, GO: Sociedade Brasileira de Virologia, 2001. p. 146.

PITUCO, E. M.; DEL FAVA, C.; OKUDA, L.H.; DE STEFANO, E.; BILINSKYJ, M.C.V.; SAMARA, S.I. Prevalência da infecção pelo Vírus da Diarréia Bovina à Vírus (BVD) em Búfalos (*Bubalus bubalis*) no Vale do Ribeira, SP, Brasil. **Arq. Inst. Biol. SP.**, v. 64, n.1, p. 23-28, 1997.

PITUCO, E.M. & DEL FAVA, C. Situação do BHV-1 na América do Sul. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 1998. p. 75-81.

POCOCK, D.H.; HOWARD, C.J.; CLARKE, M.C. & BROWNLIE, J. Variation in the Intracellular Profiles from Different Isolates of Bovine Virus Diarrhoea Virus. **Arch. Virol.**, v.94, p.43-53, 1987.

POTGIETER, L.N.; Immunology of bovine viral diarrhoea virus. **Vet Clin. N.Am. Food Anim. Pract.**, v.11, p.501-520, 1995.

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.

PRITCHARD, W.R.; TAYLOR, D.B.; MOSES, H.E. & DOYLE, L.P. A transmissible disease affecting the mucosae of cattle. **J. Am. Vet. Medic. Assoc.**, v.128, n.1, p.1-5, 1956.

PRITCHARD, W.R. The bovine viral diarrhoea-mucosal disease complex. **Adv. Vet. Sci.**, v.8, p.1-47, 1963.

PRITCHARD, G. C.; BORLAND, E. D.; WOOD, L.; PRITCHARD, D. G. Severe disease in a dairy herd associated with acute infection with bovine virus diarrhoea virus, *Leptospira hardjo* and *Coxiella burnetii*. **Vet. Rec.**, v. 12, p. 625 – 629, 1989.

QI, F.; RIDPATH, J.F.; LEWIS, T.; BOLIN, S.R. & BERRY, E.S. Analyses of the Bovine Viral Diarrhoea Virus Genome for Possible Cellular Insertions. **Virology**, v.189, p.285-292, 1992.

QUINCOZES, C.G.; FISCHER, G.; HUBNER, S.O.; VARGAS, G.D'AVILA.; VIDOR, T.; BROD, C.S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Ciências Agrárias**, v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Diarréia 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. Am. Vet.**, v.34, p.629-633, 1953.

REINHARDT, G.; RIEDEMANN, S.; FIEDLER, H.; NIEDDA, M.; AGUILAR, M.; CUBILLOS, V. Diarrea viral bovina/enfermedad mucosa. Primer aislamiento del agente causal en Chile. **Arch. Med. Vet.**, v.18, p. 157-161, 1986.

REINHARDT, G. Diarrea viral bovina/enfermedad mucosa: una enfermedad viral compleja. **Monografias Med. Vet.**, v.14, p. 49-55, 1992.

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). **Arch. Med. Vet.**, v.33, n.2, p. 1-15, 2001.

RENARD, A.; GUIOT, C.; SCHMETS, D.; DAGENAIS, L.; PASTORET, P.P.; DINA, D. & MARTIAL, J.A. Molecular cloning of bovine viral diarrhoea virus sequences. **DNA**, v.4, p.429-438, 1985.

REVELL, S.G.; CHASEY, D.; DREW, T.W. & EDWARDS, S. Some observations on the semen of bulls persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. **Vet. Rec.**, v.123, p.122-125, 1988.

RIBEIRO, M.B; GALVÃO, C.L; COSTA, A.R; RODRIGUES, F.M; SUZART, J.C.C. Infecções pelo vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvaginite pustular infecciosa, diarréia viral bovina e parainfluenza 3, detectados por meio de avaliação sorológica no Estado da Bahia. Salvador, **EMBRAPA** (Boletim técnico n.11), 1987.

RICHTZENHAIN, L.J. Em busca de respostas. **Revista Criadores**, n.808, p.40, 1997.

RIDPATH, J.; BOLIN, S.; DUBOVI, E. Segregation of bovine viral diarrhea virus into genotypes. **Virology**, v. 205, p. 66-74, 1994.

RIDPATH, J.F. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. **Biologicals**, v. 31, p.127-131, 2003a.

RIDPATH, J.F. Introduction to detecting and controlling BVDV infections. **Biologicals**, v. 31, n. 2 p.87, 2003b.

RIEDEMANN, S.; REINHARDT, G.; TADISCH, N.; AGUILAR, M.; AGUILAR, R.; MONTECINOS, M.I.; MIRANDA, J.C. Seroprevalence of bovine diarrhoea virus (BDV), bovine herpesvirus 1 (BHV-1), parainfluenza virus (PI3) and bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in 12 dairy herds in the province of Valdivia in Chile. **Arch. Med. Vet.**, v. 28, p. 121-124, 1996.

RIET-CORREA, F.; MOOJEN, V.; ROEHE, P.M.; WEIBLEN, R. Viroses confundíveis com febre aftosa: revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, v. 26, p. 323-332, 1996.

ROBERT, A.; BEAUDEAU, F.; SEEGER, E.; JOLY, A.; PHILIPOT, J. M. Large scale assessment of the effect associated with bovine viral diarrhea infection on fertility of dairy cows in 6149 dairy herds in Brittany (western France). **Theriogenology**, v. 61, p. 117 – 127, 2004.



ROCHA, M.A.; GOUVEIA, A.M.G.; LOBATO, Z.I.P.; LEITE, R.C. Pesquisa de anticorpos para IBR em amostragem de demanda no Estado de Minas Gerais, 1990-1999. **Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.**, v.53, n.6, p. 645-647, 2001.

ROEHE, P. M. **Diagnóstico de enfermidades víricas de bovinos**. In: I Encontro de Laboratórios de Diagnóstico Veterinário do Conesul. Editora da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande, MS. p. 73-78, 1996.

ROEHE, P. M.; TEIXEIRA, M. B.; ESTEVES, P. A.; MELO, S. V.; ALMEIDA, R. S.; D'ARCE, R. C. F.; SILVA, T. C.; LEMOS, R. A.; OLIVEIRA, L. G. Situação do BHV-1 e BHV-5 no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 1998. p. 89-96.

ROMENO, C.R.E. Primer brote de la diarrea viral en el partido de Ajacucho y su tratamiento. **Ver. Fac. Vet. De la Plata**, v.24, p. 395-396, 1968.

RUTH, G. R. Bovine viral diarrhea: A difficult infection to diagnose. **Vet. Med.** 81: 870-874, 1986.

RWEYEMAMU, M.M.; FERNANDEZ, A.A.; ESPINOSA, A.M.; SCHUDEL, A.A.; LAGER, L.A.; MUELLER, S.B.K. **Revue Scientifique et Technique OIE**, v.9, n.1, p. 207-221, 1990.

SAMARA, S. I.; DIAS, F. C.; MOREIRA, S. P. G. Ocorrência da diarréia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 41, p.396-40, 2004.

SANDVIK, T. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. **Vet. Microbiol.**, v. 64, n. 2-3, p. 123 – 134, 1999.

SCHMITZ M. Caracterização patológica e imunoistoquímica da infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina. 2006. 59 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

SCOTT, F.W.; KAHRS, R.F.; deLAHUNTA, A.; BROWN, T.T.; McENTEE, K. & GILLESPIE, J.H. Virus induced congenital anomalies of the bovine fetus. I. Cerebelar degeneration (hypoplasia), ocular lesions and fetal mumification following experimental infections with bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus. **Corn. Vet.**, v.63, p.536-560, 1973.

SILVA, M. I. S.; MOTA, R. A.; ALVES, L. C.; COSTA, A. J. Aspectos epidemiológicos das infecções por *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* e vírus da Diarréia Viral Bovina em matrizes bovinas leiteiras do município de Gravatá - PE. In: XXXI CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 2004, São Luís. **Anais...** São Luís, MA, 2004.

SNOWDON, W. A., PARSONSON, I. M. ; BROUN, M. L.. The reaction of pregnantewes to inoculation with mucosal disease virus of bovine origin. **J. Comp. Path.**, v. 85, p. 241 – 251, 1975.

SOPP, P.; HOOPER, L.B.; CLARKE, M.C.; HOWARD, C.J.; BROWNLIE, J. Detection of bovine viral diarrhoea virus p80 protein in subpopulations of bovine leukocytes. **J. Gener. Virol.**, v.75, p.1189-1194, 1994.

STAHL, K.; BENITO, A.; FELMER, R.; ZUÑIGA, J.; REINHARDT, G.; RIVERA, H.; BAULE, C.; MORENO-LÓPEZ, J. Genetic diversity of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) from Peru and Chile. **Pesq. Vet. Bras.**, v.29, n.1, p.41-44, 2009.

STECK, F. Immune responsiveness in cattle fatally affected by bovine virus diarrhoeamucosal disease. **Zbl. Vet. Med.**, v. 27, p. 429 – 445, 1980

STEVENSON, W. J. **Estatística aplicada à administração**. São Paulo: Harper e RON do Brasil, 1981. 485p.

STORCH, T.; CAMPOS, F. S.; VILELA, C.O.; DUMMER, L.A.; QUINCOZES, C.G.; CLEFF, M.B.; FISCHER, G. HÜBNER, S.O.; VIDOR, T. Avaliação da redução na eficiência reprodutiva em um rebanho leiteiro com diagnóstico positivo para BVD. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, XIII, 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Universidade Católica de Pelotas, 2004. Versão digitalizada.

STUBER, M. Current knowledge of BVD syndrome of cattle: agent, immune response, course and spread control. **Bov. Prac.**, v. 19, p. 49 - 60, 1984.

TIWARI, A.; VANLEEUEWEN, J. A.; DOHOO, I.; STRYHN, H.; KEEFE, G. P.; HADDAD, J. P. Effects of seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* on culling in dairy cattle in four Canadian provinces. **Vet. Mic.**, v. 109, p. 147 – 158, 2005.

USDA. Emerging acute/peracute clinical disease outbreaks associated with BVD Virus. Fort Collins: **USDA**: Aphis: Vs, Ceah, Nahms, 1994.

VAN OIRSCHOT, J.T. The BHV-1 Situation in Europe. In SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS, 1998. p. 69-72.

VAN OIRSCHOT, J.T.; BRUSCHKE, C.J.; VAN RIJN, P.A. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea. **Vet. Microbiol.**, v. 64, p. 169-183, 1999.

VIDOR, T. Isolamento e identificação do vírus da Doença das Mucosas no Rio Grande do Sul. **Bolet. Inst. de Pesq. Vet. Desidério Finamor**, especial 2, p.51-58, 1974.

VIEIRA, S.; DIAS F<sup>o</sup>, 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.; PATON, D. J.; DURKOVIC, B.; STROJNY, L.; IBATA, G.; MOUSSA, A.; LOITSCH, A.; ROSSMANITH, W.; VEGA, S.; SCICLUNA, M. T.; PALFI, V. Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. **Arch. Virol.**, v. 146, p. 99 – 115, 2001.

VILELA, C.O.; QUINCOZES, C.G.; GOMES, F.R.; FISCHER, G.; BARUEL, C.C.; FERREIRA, L.N.; OLIVEIRA, L.S.; VIDOR, T. Prevalência de BVD em rebanhos com problemas reprodutivos no Sul do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA e V ENCONTRO DA PÓSGRADUAÇÃO, XII, 2003, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Universidade Federal de Pelotas, 2003. Versão digitalizada.

VILELA, C.O.; DUMMER, L.A.; CAMPOS, F.S.; STORCH, T.; QUINCOZES, C.G.; FISCHER, G.; CLEFF, M.B.; HÜBNER, S.O.; VIDOR, T. Incidência do BVDV e do BHV em rebanhos com problemas reprodutivos no Sul do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, XIII, 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Universidade Católica de Pelotas, 2004. Versão digitalizada.

VIRAKUL, P.; FAHNING, M.L.; JOO, H.S. & ZEMJANIS, R. Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine virus diarrhea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. **Theriog.**, v.29, p.441-449, 1988.

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.

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.

WEIBLEN, R. Doenças víricas que interferem na reprodução bovina. **Rev. Bras. Repr. Anim.**, v.1, n. 3, p.120-130, 1991.

WELSH, M. D.; ADAIR, B. M.; FOSTER, J. C. Effect of BVD virus infection on alveolar macrophage functions. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v.46, p.195-210, 1995.

WHITMORE, H.L.; GUSTAFSSON, B.K.; HAUARESHTI, P.; DUCHATEAU, A.B.; MATHER, E.C. Inoculation of bulls with bovine virus diarrhea virus: excretion of virus in semen and effects on semen quality. **Theriog.**, v.9, p.153-169, 1978.

WHITMORE, H.L.; ZEMJANIS, R. & OLSON, J. Effect of bovine viral diarrhea virus on conception in cattle. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.178, p.1065-1067, 1981.

WIZIGMANN, G.; VIDOR, T.; RICCI, Z.M.T Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus PI-3, IBR e diarréia a vírus - Enfermidade das

Mucosas dos bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Bolet. Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor**, Porto Alegre- RS. v. 1, p. 52-58, 1972.

WOLFMEYER, A., WOLF, G.; BEER, M. Genomic (5'UTR) and serological differences among German BVDV field isolates. **Arch. Virol.**, v. 142, p. 2049-2057, 1997.

ZHANG, G.; ALDRIDGE, S.; CLARKE, M.C.; McCAULEY, J. Cell death induced by cytopathogenic bovine viral diarrhea virus is mediated by apoptosis. **J. Gen. Virol.**, v.77, p. 1677-1681, 1996.

# *Apêndices*

---

## APÊNDICE A – FICHA CADASTRAL DA PROPRIEDADE.

Frequência de Anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em Bovinos  
Leiteiros não Vacinados no Estado do Maranhão.

Ficha Nº \_\_\_\_\_

### Ficha Cadastral da Propriedade

#### Dados Gerais

1. Nome da Propriedade: \_\_\_\_\_

2. Bacia Leiteira: \_\_\_\_\_ Município: \_\_\_\_\_

3. Endereço: \_\_\_\_\_

4. Nome do Proprietário: \_\_\_\_\_

5. Raça dos Animais: \_\_\_\_\_ Pelagem \_\_\_\_\_

6. Sistema de Criação: \_\_\_\_\_

7.

ANIMAIS								
Faixa Etária	> 03 anos		03<1<07 anos		> 07 anos		TOTAL	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Quantidade								

## APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO.

Ficha Nº \_\_\_\_\_

### INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS:

1. Adquire animais com freqüência? ( ) Sim ( ) Não
2. Aquisição de animais: ( ) Região ( ) Estado ( ) Outros Estados
3. Realiza quarentena? ( ) Sim ( ) Não
4. Assistência veterinária: ( ) Sim ( ) Não
5. Ordenha: Nº de ordenhas / Dia: \_\_\_\_\_  
( ) Manual ( ) Mecânica
6. Produção/dia/leite: \_\_\_\_\_
7. Reprodução:  
( ) MN ( ) MN + IA ( ) IA
8. Destino dos Animais:  
Destino dos Animais: ( ) Abate ( ) Venda
9. Propriedades Vizinhas : Sim ( ) Não ( )  
Distância Aproximada: \_\_\_\_\_  
Contato entre os animais das prop. vizinhas: ( ) Sim ( ) Não  
Contato de Fômites das prop. vizinhas: ( ) Sim ( ) Não
10. Criação de suínos: Sim ( ) Não ( ).
11. Criação de caprinos/ovinos: Sim ( ) Não ( ).
12. Vacinação: Sim ( ) Não ( )  
Aftosa ( ) Raiva ( ) Clostridioses ( ) Brucelose ( )  
Leptospirose ( ) BVD ( )
13. Ocorrência de doenças: Sim ( ) Não ( )
14. Diagnosticadas : Sim ( ) Não ( )
- 15 Sinais Clínicos



15.1 Digestivos: Sim ( ) Não ( )

Quais:

---

15.2 Reprodutivos: Sim ( ) Não ( )

Quais:

---

Eficiência Reprodutiva:

Retorno ao cio ( )

Aumento do intervalo entre cios ( )

Esterelidade ( )

15.3 Respiratórios:

Sim ( )

Não ( )

Quais:

---

15.4 Neurológicos:

Sim ( )

Não ( )

Quais:

---

16. Sacrifício de Animais: Sim ( ) Não ( ).

Observações:

---

---

---

---

---

---