

DIARRÉIA BOVINA A VÍRUS (BVD) - UMA BREVE REVISÃO*

Tayná Cardim Morais Fino¹, Cristiano Barros de Melo²⁺, Alexandre Floriani Ramos³
e Rômulo Cerqueira Leite⁴

ABSTRACT. Fino T.C., Melo C.B., Ramos A.F. & Leite R.C. [**Bovine Viral Diarrhea (BVD) - A brief Review**]. Diarréia Bovina a Vírus (BVD) - Uma breve revisão. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(2):131-140, 2012. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, ICC Sul, Caixa Postal 4508, Brasília, DF 70910-970, Brasil. E-mail: cristianomelo@unb.br

The aim of this work is to review the infections caused by BVDV. This virus cause sound losses on production, being remarkable the losses regarding reproductive aspects. Repeting breeding, abortion and the birth of weak or stillbirth calves are the most common clinical signals observed.

KEY WORDS. Bovine diarrhea, animal health, disease, abortion.

RESUMO. O presente trabalho revisa as infecções causadas pelo vírus da Diarréia Bovina a vírus (BVDV), um patógeno que provoca grandes perdas na produtividade de bovinos, sendo as mais importantes aquelas relacionadas aos aspectos reprodutivos. Repetições de cio, abortamentos e nascimento de bezerros fracos ou natimortos são os sinais clínicos mais frequentemente observados.

PALAVRAS-CHAVE. Diarréia bovina, doença, sanidade, abortamento.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a bovinocultura é uma atividade em franca expansão. Conforme dados oficiais divulgados em 2009, o efetivo nacional de bovinos é de 205, 292 milhões de cabeças, o que significa um acréscimo de 1,5% em relação ao ano anterior. Atualmente, o país é o segundo maior produtor de carne bovina e o primeiro em exportações do produto (IBGE 2010). Portanto, a atividade pecuária encerra em si números expressivos, que são respon-

sáveis por parte da geração de riquezas para o país. Consequentemente, a melhoria da produtividade é essencial para a manutenção da viabilidade e competitividade deste sistema de produção.

Vírus da Diarréia Bovina a Vírus (BVDV) é considerado um dos principais patógenos de bovinos e promove significativas perdas econômicas em explorações de corte e leite. BVDV é responsável por uma ampla variedade de manifestações clínicas, que variam desde infecções inaparentes ou subclínicas até uma doença aguda e, por vezes, fatal (Baker 1995). Apesar de produzir efeitos deletérios em diversos sistemas do organismo do hospedeiro, as perdas reprodutivas são notadamente, as mais importantes (Grooms 2004).

No Brasil, o primeiro relato foi feito no final dos anos 60 e descreveu a ocorrência de uma doença gastroentérica, com aspectos clínicos e patológicos compatíveis a Doença das Mucosas, identificada em 1946 no Canadá (Corrêa et al. 1968, Olafson 1946 *apud* Baker 1995). A partir de inquéritos soroló-

*Recebido em 8 de julho de 2011.

Aceito para publicação em 28 de fevereiro de 2012.

¹ Médica-veterinária, *M.Ci.Ani.* Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade de Brasília (UnB), Campus Darcy Ribeiro, ICC Sul, Asa Norte, Brasília, DF. - bolsista CAPES.

² Médico-veterinário, *Dr.Ci.Anim.* Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, ICC Sul. C.P. 4508, Brasília, DF 70910-970, Brasil. +Autor para correspondência. E-mail: cristianomelo@unb.br - bolsista CNPq.

³ Médico-veterinário, *Dr.Ci.Ani.* Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, PqEB - Av. W5 Norte (final), Caixa Postal 02372, Brasília, DF 70770-917, Brasil.

⁴ Médico-veterinário, *PhD*, LD. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG 30123-970, Brasil. E-mail: romulocleite@ufmg.br - bolsista CNPq.

gicos, virológicos e clínico-patológicos realizados durante a década de 70, evidenciaram-se a presença da infecção por BVDV nos rebanhos brasileiros, assim como sua ampla distribuição no território nacional, ratificada em estudos posteriores (Botton et al. 1998). Somente em 1974, Vidor e colaboradores conseguiram isolar o agente etiológico da BVD a partir do sangue de um feto coletado em um matadouro no Rio Grande do Sul (Vidor 1974).

O presente trabalho teve como objetivo revisar sobre as infecções causadas por BVDV em bovinos, com enfoque aos estudos nacionais.

ETIOLOGIA

BVDV pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*, que abriga dois outros vírus antigenicamente relacionados: o vírus da Peste Suína Clássica e o vírus da Doença da Fronteira ou “Border Disease” dos ovinos. Devido a esta semelhança pode ocorrer infecção cruzada entre espécies, o que compromete a acurácia dos métodos de diagnóstico sorológico (Baker 1995, Radostits et al. 2007). As partículas virais são esféricas, medindo entre 40 e 60 nm de diâmetro, possuem um capsídeo de simetria icosaédrica e um envelope de composição lipídica. O genoma viral é composto por moléculas de RNA fita simples, não segmentado, de polaridade positiva e organizado em uma longa “open reading frame” (janela de leitura - ORF). Esta é traduzida em uma única poliproteína que sofre clivagem, originando entre 10 a 12 polipeptídios estruturais e não estruturais (Baker 1995, Goens 2002). Segundo Donis (1995), as proteínas não-estruturais do genoma do BVDV (N^{pro} , P_7 , $NS_{2/3}$, NS_4A , NS_4B , NS_5A e $NS5B$) estão envolvidas no processo de replicação viral. As proteínas estruturais C , E^{ms} , E_1 e E_2 exercem funções importantes no revestimento protetor do RNA viral e permitem a entrada e saída das partículas virais das células infectadas. Dentre estas, a glicoproteína E_2 é responsável pela adsorção do vírus a receptores específicos nas células.

Dentre as diversas características dos *Pestivirus*, a mais marcante é o seu elevado grau de variabilidade antigênica observado, principalmente, entre as amostras de BVDV (Roehe et al. 1998). As regiões que refletem maior variabilidade na partícula viral encontram-se nas glicoproteínas do envelope, especialmente a glicoproteína E_2 cujos epítopos possuem uma região de hipervariabilidade ou *Hot Spot* responsáveis pela alta frequência de mutações e recombinações genéticas observada no referido vírus (Baker 1995, Donis 1995).

Taxas de mutação na ordem de 0,03 a 2% por nucleotídeo/ano são frequentemente observadas em RNA-vírus e superam em um milhão de vezes as taxas descritas em DNA-vírus (Strauss et al. 1996 *apud* Goens 2002). Tais eventos são responsáveis pela grande diversidade antigênica de BVDV, sendo possível identificar dois grupos antigênicos distintos a partir de isolados de campo, BVDV-1 e BVDV-2 (Donis 1995). Os vírus do genótipo BVDV-1 abrangem a maioria das cepas vacinais e das estirpes de referência, além de serem responsáveis por infecções de caráter brando a moderado. Em contrapartida, BVDV-2 foram identificados em surtos de BVD aguda e doença hemorrágica no Canadá, em 1993 e 1994, porém incluem também isolados de virulência baixa ou moderada. Conforme diferenças genéticas e antigênicas, foi proposta uma subdivisão do genótipo 1 em 11 subgrupos, sendo o BVDV-1.a predominante em quadros de infecção respiratória e BVDV-1.b mais comum em infecções fetais em estágios gestacionais tardios. O genótipo BVDV-2 também foi classificado em, pelo menos dois subgrupos diferentes (Flores et al. 2005, Radostits et al. 2007). Ridpath (2003), evidenciou significativas diferenças biológicas entre BVDV-1 e 2, principalmente no que se refere a glicoproteína E_2 , envolvida da indução de anticorpos neutralizantes contra o vírus. Esta diversidade antigênica entre estirpes isoladas de BVDV possui importantes implicações para a epidemiologia, diagnóstico, escolha das estratégias de imunização e controle da enfermidade (Botton et al. 1998).

Com base no efeito de replicação em cultivos celulares, BVDV é classificado em dois biótipos: citopático (CP) e não-citopático (NPC). O vírus CP provoca extensos danos nas células do cultivo, como vacuolização citoplasmática e destruição celular completa entre 48 a 72 horas. Diferentemente do biótipo CP, os isolados NPC causam pouca ou nenhuma mudança na morfologia celular, além disso, constituem a maioria dos isolados de campo e estão associados às infecções naturais, enfermidades entéricas, reprodutivas, congênitas. É primordial ressaltar que somente o biótipo não-citopático atravessa a placenta, invade o feto e estabelece nele uma infecção persistente, o que é essencial para a disseminação do vírus no rebanho (Flores 2007, Radostits et al. 2007). Vírus do biótipo CP constituem uma minoria e são isolados, quase que exclusivamente, de animais com a Doença das Mucosas ou de surtos de doença pós-vacinal (Radostits et al. 2007).

Os dois biótipos são indistinguíveis sorologicamente, entretanto, em nível molecular, constatou-se que nas células infectadas pelo vírus citopatogênico havia produção de uma proteína adicional, que não era observada nas células infectadas pelo outro biótipo. Esta proteína foi designada como NS3 ou p80 e considerada como um marcador de citopatogenicidade. A p80 é originária de alterações no biótipo NPC que podem ocorrer como resultado de inserções, em nível celular, de material genético, duplicações, recombinações ou deleções de genes virais. Tais alterações são decorrentes de interações entre os diferentes biótipos do BVDV (RNA homólogo ou heterólogo) ou ainda, entre o RNA viral e o da célula hospedeira resultando na criação de um novo sítio de clivagem interna da NS2/3 - proteína não-estrutural presente em todas as células infectadas por BVDV (Baker 1995, Donis 1995, Radostits et al. 2007). Segundo Baker (1995), a expressão da proteína p80 causa modificações na fisiologia da célula infectada que podem ser responsáveis pelo aumento da replicação viral. Adicionalmente, o acúmulo de proteínas virais no citoplasma e o aumento da atividade biológica celular causam danos celulares irreversíveis que culminam com a morte da célula.

PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

O epitélio do trato respiratório superior, orofaringe e o tecido linfóide regional são os sítios primários de replicação viral após infecção pela via oro-nasal. O vírus também possui tropismo pelas células das linhagens germinativas de ambos os sexos, sendo encontrado no sêmen e em folículos ovarianos (Grooms 2004) e por tecidos em constante divisão, logo as placas de Peyer e o feto são os principais locais de multiplicação do BVDV. A viremia ocorre entre três e 10 dias pós-infecção e o vírus pode ser isolado do sangue nesse período (Brownlie 2002, Flores 2007).

As conseqüências da infecção, bem como a severidade dos sinais clínicos dependem de diversos fatores que incluem a cepa viral (ou biótipo), imunidade do animal e ocorrência de infecções secundárias. Em animais imunocompetentes, há formação de anticorpos entre duas a três semanas após a infecção. Estes anticorpos circulantes são capazes de neutralizar o vírus e impedir que este chegue aos órgãos-alvo e ao feto (Brownlie 2002).

BVDV tem a capacidade de deprimir o sistema imune de bovinos provocando a depleção das células de defesa - linfócitos T e B - e afetando a fun-

ção macrofágica, predispondo, assim, o organismo do hospedeiro às infecções secundárias (Radostits et al. 2007). Agentes como hespervírus bovino tipo 1, rotavírus, coronavírus, *Pasteurella haemolytica*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis* e *Salmonella* spp. são frequentemente associados a quadros clínicos de BVD (Brownlie 2002).

A patogenia da infecção depende de múltiplos fatores acerca das fases pós-natal e intra-uterina do hospedeiro. Em bovinos imunocompetentes e não prenhes a enfermidade é, de modo geral, assintomática ou subclínica, de caráter autolimitante, que cursa com quadros de depressão, febre, inapetência, diarreia leve, leucopenia transitória. Afeta ambos os sexos e todas as classes animais após o fim da imunidade colostrar, em alguns casos, podem ocorrer surtos de diarreia em bovinos jovens, caracterizados por alta morbidade de e baixa mortalidade (Baker 1995, Radostits et al. 2007). Os sinais clínicos mais evidentes são febre transitória, depressão, anorexia, descargas óculo-nasais, salivação, diarreia aquosa e, ocasionalmente, erosões e ulcerações orais são rotineiramente observadas em animais infectados. A taxa de mortalidade fica em torno de 8%, superada pela taxa de morbidade que pode chegar a 90% em alguns casos (Potgieter 2004).

Manifestações agudas da enfermidade foram relacionadas às infecções causadas por isolados não-citopáticos do tipo 2 e caracterizadas por pirexia, hiperemia de mucosas, sialorréia, aparecimento de lesões ulcerativas na mucosa oral, descarga nasal, tosse, diarreia e queda na produção de leite (Potgieter 2004, Radostits et al. 2007). A infecção pode persistir por até 15 dias com um período de incubação prévio de três a sete dias. Síndromes hemorrágicas com acentuada trombocitopenia é resultado da infecção de animais pela forma hiperaguda da BVD também atribuídas a este genótipo. Clinicamente, observa-se febre, diarreia sanguinolenta, epistaxe, petéquias e equimoses em membranas mucosas. Ademais, altas taxas de mortalidade foram relatadas nesse tipo de infecção, principalmente pela invasão do organismo do hospedeiro por patógenos oportunista que provocam infecções secundárias debilitantes (Baker 1995, Brownlie 2002, Flores 2007).

Fêmeas expostas ao vírus durante o estro podem apresentar baixas taxas de fertilização após a inseminação artificial ou a monta natural, devido as falhas ou atrasos na ovulação provocados pela atividade do patógeno no tecido ovariano. De ma-

neira semelhante, reprodutores com infecções agudas apresentam uma queda na qualidade do sêmen – densidade e mobilidade reduzidas assim como aumento de anomalias morfológicas – apesar de estarem clinicamente saudáveis (Grooms 2004). Já em fêmeas prenhes, BVD é caracterizada por diversas manifestações clínicas, que variam desde absorção embrionária até o nascimento de bezerros fracos e inviáveis, dependendo do estágio gestacional em que ocorreu a infecção (Flores 2007).

Infecções fetais ocorridas durante o primeiro trimestre de gestação resultam em morte embrionária ou fetal seguida de absorção, mumificação ou abortamento. A passagem do vírus para feto pode ocorrer via vascular e não célula a célula, como se acreditava anteriormente, já que um estudo realizado por Frederiksen et al. (1999) mostrou que a infecção fetal ocorreu sem que houvesse, previamente ou simultaneamente, altas concentrações virais no útero ou na placenta. O intervalo entre a infecção do conceito e a ocorrência do abortamento pode variar de 10 dias até alguns meses, por isso é comum encontrar abortamentos de fetos edemaciados ou autolisados. Segundo Brownlie (2002), somente em animais não imunizados BVDV é capaz de invadir os placentomas e se replicar no trofoblasto atingindo, assim, o feto. Macroscopicamente, observa-se esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatia e lesões necrosantes no miocárdio e pulmões. Os achados histológicos caracterizam-se por infiltrado mononuclear no miocárdio, baço, linfonodos e na região periportal do fígado (Potgieter 2004).

Matrizes infectadas entre 40 e 120 dias de gestação, em geral, dão origem a bezerros persistentemente infectados (PI), visto que durante o referido período o sistema imunológico fetal está em formação e só estará concluído por volta do 125^a dia gestacional. Conseqüentemente ocorre uma incorporação errônea das proteínas virais como sendo próprias do organismo e o sistema imune do hospedeiro não forma anticorpos contra BVDV, tornando os animais infectados imunotolerantes ao vírus infectante. Estes animais, apesar de serem soronegativos, são portadores e eliminam o vírus continuamente em secreções e excreções (Baker 1995, Potgieter 2004, Flores 2007, Radostits et al. 2007). Estima-se que 2 a 5% dos fetos infectados durante a vida intra-uterina permaneçam infectados persistentemente (Flores et al. 2005). A imunotolerância dos bovinos PI é específica para a cepa NPC de BVDV infectante, sendo assim, estes animais podem res-

ponder imunologicamente tanto as cepas virais heterólogas quanto a outros patógenos. A maioria dos bezerros PI nasce fraca e debilitada, em geral com o aparecimento de problemas respiratórios, apresentam crescimento retardado, malformações congênitas e morrem no primeiro ano de vida. Contudo, existem diversos relatos de animais nessa condição que sobrevive até a idade adulta e são capazes de se reproduzir, gerando progênes PI (Flores 2007).

A ocorrência de malformações é um achado muito comum em rebanhos BVDV positivos. A infecção do feto entre 100 e 150 dias de gestação resulta em uma ampla variedade de anomalias congênitas, especialmente, no que se refere a problemas no sistema nervoso, já que este período corresponde ao estágio final de sua organogênese. Os problemas encontrados com mais freqüência são hipoplasia cerebelar, hidrocefalia, microcefalia, mielinização deficiente da medula espinhal, atrofia ou displasia da retina, microftalmia, catarata, além de hipoplasia tímica, hipotricose, barquignatismo e artrogripose (Flores 2007; Radostits et al. 2007).

Infecções ocorridas após 150 dias de gestação resultam em animais imunocompetentes, capazes de desenvolver uma resposta efetiva contra o vírus e eliminá-lo do organismo. Logo, esses bezerros nascem com anticorpos contra BVDV, mas livres do vírus. Os efeitos da infecção em estágios gestacionais tardios ainda não foram bem documentados, entretanto, abortamentos e nascimentos de animais fracos ou inviáveis já foram relatados (Radostits et al. 2007).

A Doença das Mucosas acomete, exclusivamente, animais PI imunotolerantes ao biótipo NCP de BVDV, que sofrem uma superinfecção com uma estirpe homóloga do biótipo CP do vírus. O vírus CP é, geralmente, originado a partir de mutações ou recombinações genéticas do biótipo NPC do próprio animal. Fontes virais externas, como a aplicação de vacinas vivas modificadas ou infecção com o vírus CP decorrente da transmissão por outros animais, também podem resultar na manifestação da doença (Baker 1995, Flores et al. 2005, Flores 2007, Radostits et al. 2007). A DM ocorre principalmente em animais entre seis meses e dois anos de idade e é invariavelmente fatal, podendo apresentar diferentes cursos evolutivos. A forma aguda da doença caracteriza-se por um período de incubação de 10 a 14 dias seguido de febre, anorexia, taquicardia, polipnéia, erosões na mucosa oral e nas narinas, desidratação e diarreia aquosa profusa, que pode ser acompanhada

com estrias de sangue, coágulos de fibrina e odor fétido. Corrimento nasal e ocular, opacidade de córnea, sialorréia, redução da ruminação, timpanismo também são observados em animais doentes. Os bovinos infectados geralmente morrem dentro de poucos dias após o início da sintomatologia clínica (Grooms 2004, Flores 2007, Radostits et al. 2007).

À necropsia podem ser encontradas alterações no trato gastrointestinal, especialmente nas placas de Peyer – lesões necróticas e hemorrágicas. Observa-se uma enterite catarral ou hemorrágica com conteúdo intestinal de cor escura e consistência aquosa. Exames histopatológicos ainda revelam uma extensa necrose dos tecidos linfóides do baço, linfonodos e placas de Peyer (Bielefeldt-Ohmann 1995).

Animais que sobrevivem à forma aguda desenvolvem a DM crônica, cujos sinais clínicos são inespecíficos. Bovinos com esta forma da enfermidade podem apresentar diarréia constante ou intermitente, timpanismo crônico, inapetência, corrimentos nasais e oculares persistentes, lesões interdigitais e laminite, lesões de pele não-cicatrizáveis e emaciação progressiva que levam o animal ao óbito dentro de alguns meses após a infecção (Flores 2007, Radostits et al. 2007).

EPIDEMIOLOGIA

O agente etiológico da BVD apresenta distribuição mundial e já foi identificado na maioria dos países onde há criação de bovinos. A prevalência da enfermidade, em algumas áreas, atinge cerca de 50 a 90% do rebanho e, em países livres da febre aftosa, BVDV é considerado o agente viral mais importante de bovinos e tem sido alvo de numerosos estudos e programas de controle e/ou erradicação (Flores et al. 2005, Canário et al. 2009).

O vírus é capaz de infectar uma grande variedade de ruminantes domésticos e silvestres, além de suínos, porém os bovinos são considerados seus hospedeiros naturais. Alguns estudos confirmaram a soropositividade para BVD em suínos (Roehe et al. 1998), caprinos (Castro et al. 1994), ovinos (Brum et al. 2002), bubalinos (Pituco et al. 1998) e javalis cativos (Flores et al. 2005), porém a relevância epidemiológica da infecção em outras espécies de animais domésticos e silvestres ainda permanece incerta. *In vitro*, há replicação viral em células de cultivo de diversas espécies, inclusive a humana (Flores 2007).

A transmissão horizontal pode ocorrer pelo contato direto entre animais – principalmente pe-

las mucosas, o que inclui o coito – ou indireto, por meio de secreções (aerossóis, nasais, oculares, saliva, leite e sêmen), excreções e fômites contaminados. Os animais PI são a principal fonte de infecção do rebanho, pois excretam o vírus continuamente e em altos títulos, contribuindo para a disseminação e perpetuação do agente infeccioso no plantel (Baker 1995, Flores et al. 2005, Radostits et al. 2007). Transmissões verticais e suas diversas manifestações reprodutivas já foram extensivamente documentadas. Animais recém-nascidos ainda podem se infectar através da ingestão de colostro ou leite oriundos de fêmeas positivas para BVDV (Dubovi 1998).

A introdução do vírus em rebanhos negativos ocorre, majoritariamente, pela entrada de animais PI na propriedade. Da mesma maneira, a aquisição de bovinos durante a fase aguda da doença, touros persistentemente infectados ou fêmeas gestando fetos PI, além do contato entre os rebanhos vizinhos podem ser responsáveis pela infecção dos plantéis (Flores 2007).

As infecções por BVDV são endêmicas nas populações de bovinos. Conforme sugerido por Lazzari et al. (2008), estimou-se que a prevalência mundial média de anticorpos em animais adultos seja em torno de 60%, já a porcentagem de animais persistentemente infectados foi avaliada entre 1 e 2% do rebanho global de bovinos (Houe 2003). Em termos gerais, as taxas de prevalência variam entre países e entre diferentes regiões geográficas de um mesmo país. Essa variação depende de alguns fatores, tais como densidade animal, aptidão do rebanho (leiteiro ou corte), sistema de criação (sistemas intensivo, semi-intensivo ou extensivo), programa de vacinação, práticas de manejo e medidas de biossegurança adotadas por cada propriedade (Pacheco 2010). Em países sul-americanos como Chile e Uruguai, a prevalência variou entre 69 e 77,8% (Reinhardt et al. 1990; Guarino et al. 2008). Quando considerados somente animais persistentemente infectados a prevalência, no Chile, atingiu 0,3% dos animais estudados (Reinhardt et al. 1990). Odeón et al. (2001) conduziram um estudo sorológico em diferentes regiões argentinas e encontraram prevalências que variaram entre 25,6 e 90,7% de acordo com a localidade e a categoria animal analisada. Alguns países europeus como a Dinamarca, Suécia, Finlândia, Noruega e Áustria conseguiram erradicar a BVD sem vacinação, entretanto, apenas a Islândia é considerada livre da doença (OIE 2009).

No Brasil, diversos trabalhos comprovaram a existência da circulação de BVDV em vários Estados e sua ampla difusão na população bovina. Um abrangente inquérito sorológico foi realizado no período de julho de 1995 a agosto 1997, no qual 4.065 soros bovinos provenientes de rebanhos com problemas reprodutivos de vários estados, e 47,7% das amostras foram reagentes ao teste diagnóstico (Pituco & Del Fava 1998). Melo et al. (1997) encontraram uma porcentagem de 64,7% de animais reagentes ao analisar amostras de bovinos coletadas em matadouros do estado de Sergipe. Prevalência semelhante, 61,7%, foi observada por Figueiredo et al. (1997) no estado de Minas Gerais; estudos posteriores realizados no mesmo Estado constataram 57,56% de animais reagentes ao teste da soroneutralização (Samara et al. 2004). Na Paraíba, Thompson et al. (2006) encontraram 22,2% de soroprevalência entre 2.343 amostras de sangue bovino coletadas em 72 propriedades.

Em Goiás, Brito et al. (2002) observaram 34,5% de amostras positivas para anticorpos contra BVDV. Anos antes, entre dezembro de 1997 e novembro de 1998, foram coletadas 207 amostras de soro bovino no entorno de Goiânia e verificou-se a prevalência de 54,11% de anticorpos para o vírus (Guimarães et al. 2001). Scherer et al., (2002) detectaram, por meio da soroneutralização, 74,7% de positividade em amostras de soro e leite provenientes do Rio Grande do Sul. No mesmo Estado, entre os anos de 1995 e 2004 foram coletadas amostras de sangue bovino de 1.264 propriedades espalhadas por, aproximadamente, 100 municípios e a prevalência observada foi de 39,33% (Flores et al. 2005). Quincozes et al. (2007) relataram 66,32% de animais positivos na região sul do Estado. Estudos recentes realizados no Maranhão mostraram 61,5% de positividade dentre 400 amostras de soro de fêmeas bovinas analisadas (Chaves et al. 2010).

A caracterização das cepas virais circulantes no país tem sido tema constante de pesquisa. Botton (1998) caracterizou biológica, antigênica e molecularmente 19 amostras do BVDV isoladas no Brasil, das quais 11 foram isoladas de fetos bovinos, seis obtidas do sangue de bovinos clinicamente saudáveis, porém oriundos de rebanhos com problemas reprodutivos, e duas amostras foram isoladas de casos clínicos de doença gastroentérica. A maioria das amostras (84,2%) pertenciam ao biótipo NPC. No mesmo ano, Gil (1998) analisou filogeneticamente 21 isolados e concluiu que 17 pertenciam ao genó-

tipo 1 e quatro ao genótipo 2, além disso, comprovou haver uma baixa reatividade sorológica cruzada entre as amostras de diferentes genótipos. Outro estudo de caracterização feito em 17 amostras brasileiras revelou grande variabilidade genética e antigênica e identificou, também, vírus pertencentes aos dois genótipos (BVDV-1 e 2) e aos subgenótipos BVDV-1a e 1b (Flores et al. 2000). Conforme comprovado por Flores et al. (2002) em um estudo filogenético baseado na sequência do gene da proteína NS3, os genótipos brasileiros do BVDV-2 são geneticamente distintos dos norte-americanos e europeus – utilizados como cepas de vacinais e de referência para testes de soroneutralização.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico de BVD é feito com base na identificação da sintomatologia clínica e nos achados patológicos característicos da doença, porém devido à diversidade de manifestações sintomatológicas, o diagnóstico definitivo só pode ser realizado com o auxílio de testes laboratoriais.

O isolamento viral é o teste diagnóstico de excelência e o método recomendado pela OIE em casos comércio internacional (OIE 2009). Para possibilitar uma boa confiabilidade do teste, as amostras devem ser coletadas de maneira asséptica e conservadas sob refrigeração, sendo que o material de escolha para envio deve ser fragmentos do fígado ou baço, mucosa do intestino delgado, linfonodos, sangue total ou soro e sêmen. Culturas celulares de Madin and Darby Bovine Kidney (MDBK) são amplamente utilizadas na rotina laboratorial e possibilitam o isolamento de cepas CP e NCP do vírus, sendo a última facilmente identificada pelos efeitos citopáticos causados no tapete celular, após 48 horas da inoculação viral. Por ser uma prova laboriosa, não é indicada para o processamento de um grande número de amostras (Saliki & Dubovi 2004, Radostits et al. 2007).

Como o isolamento viral requer mais tempo para ser realizado, métodos diagnósticos como a imunohistoquímica e ELISA estão adquirindo importância por serem mais baratos, rápidos e apresentarem boa sensibilidade. A prova de imunohistoquímica é uma ferramenta de detecção sensível e específica para os antígenos de BVDV em bovinos a partir de biópsias de pele. Uma das principais vantagens da utilização desse método é a possibilidade de identificação de animais PI e sua vasta aplicabilidade, já que é possível testar animais jovens sem que haja a interfe-

rência de anticorpos maternos no resultado (Saliki & Dubovi 2004, Flores 2007, Radostits et al. 2007).

O ELISA é um teste que permite uma rápida e precisa identificação de anticorpos específicos anti-BVDV em amostras de sangue total, plasma, soro e leite de animais infectados ou PI. Indicado para mensurar a prevalência da BVD em rebanhos leiteiros e como teste de rotina, pois permite a avaliação de uma grande quantidade de amostras, não requer um preparo prévio das mesmas e os resultados são obtidos em poucas horas (Radostits et al. 2007). Atualmente, há no mercado *kits* comerciais ELISA que apresentam alta especificidade e sensibilidade, sendo de grande valia em programas de controle e erradicação da enfermidade (Saliki & Dubovi 2004).

O teste de soroneutralização viral é rotineiramente utilizado para detectar e mensurar os anticorpos contra BVDV, sendo considerado como teste padrão para a titulação de anticorpos. Após infecção aguda, os animais infectados soroconvertem entre 10 e 14 dias, contudo os níveis séricos de anticorpos só chegam ao pico entre oito a 10 semanas pós-infecção. Altos títulos de anticorpos podem ser encontrados durante vários meses como consequência de uma vacinação bem sucedida. Logo, a soropositividade apenas indica exposição prévia ao agente viral, por isso em rebanhos onde a vacinação é praticada o valor epidemiológico do teste é limitado, servindo apenas para verificar o status sorológico, a eficácia da vacina e a possível circulação viral no rebanho. Por serem soronegativos, animais PI não são identificados em triagens sorológicas (Saliki & Dubovi 2004, Radostits et al. 2007).

Métodos moleculares como a PCR são capazes de detectar ínfimas quantidades de ácidos nucléicos virais em amostras de sangue e tecidos, inclusive os preservados. Por ser extremamente sensível, essa técnica tem grande utilidade na identificação de rebanhos leiteiros positivos através da análise de amostras coletadas em tanques de leite. O RT-PCR também pode ser utilizado para esta finalidade, já que é sensível o bastante para detectar RNA viral em células somáticas presentes em amostras de leite (OIE 2009).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Em razão da amplitude das manifestações clínicas as suspeitas de infecções associadas ao BVDV precisam ser diferenciadas de outras doenças etiológicamente distintas. A prevalência e epidemiolo-

gia dessas enfermidades devem ser consideradas no momento do diagnóstico.

É recomendável que animais com erosões na cavidade oral sejam testados tanto para aftosa quanto para estomatite vesicular e carcinoma de células escamosas pela similaridade das lesões. Quando as lesões são acompanhadas de linfadenopatia, hematúria, opacidade de córnea e encefalite a maior suspeita recai sobre a febre catarral maligna. Em episódios de diarréia profusa deve-se realizar o diagnóstico diferencial para desenterias de inverno, salmonelose, coccidioses, helmintoses e intoxicações por arsênio e molibdênio – concomitante com uma deficiência por cobre. A sintomatologia respiratória da BVD assemelha-se àquelas apresentadas pela Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina e pela pneumonia por *Pasteurella* spp. (Radostits et al. 2007).

CONTROLE E PREVENÇÃO

Infecções por BVDV causam significativas perdas econômicas, principalmente aquelas relacionadas à esfera reprodutiva decorrentes de abortamentos, diminuição das taxas de fertilidade e morte de neonatos. Dessa forma, torna-se imprescindível o estabelecimento de um programa de controle e monitoramento de propriedades pecuárias baseado na combinação entre medidas de biossegurança e biocontenção da doença além de vacinação, em casos específicos. Segundo Radostits et al. (2007), a adoção de uma série de medidas profiláticas é essencial para o sucesso de programas de controle e prevenção para a BVD.

A identificação e eliminação de animais PI é considerada o ponto principal para o controle e erradicação da enfermidade, a técnica de PCR aplicada em *pools* de amostras de sangue ou soro pode ser utilizada para a realização de monitoramentos sorológicos e periódicos do rebanho, pois é sensível o suficiente para detectar animais PI entre um total de 200 a 250 amostras negativas.

Outro ponto importante é a minimização do risco potencial de nascimentos de animais PI, que pode ser alcançada pela separação de fêmeas prenhes suspeitas ou recém-adquiridas do restante do rebanho até que elas e suas respectivas crias possam ser adequadamente testadas para BVD. Os referidos animais somente retornam ao rebanho após confirmação de sorologia negativa para o vírus. Em fazendas onde se utiliza a inseminação artificial ou a transferência de embriões há risco de infecção das

fêmeas por meio de embriões e sêmen infectados. Segundo Garoussi (2007), embriões que apresentaram integridade da zona pelúcida são resistentes à infecção por BVDV, por isso deve-se avaliar a condição embrionária antes da transferência. Conforme o mesmo autor, o sêmen é um importante veículo de disseminação viral e responsável pela diminuição das taxas de fertilização quando positivo para BVDV, conseqüentemente faz-se necessário o controle do status sanitário deste. Todos os animais soropositivos devem ser separados do restante e eliminados o mais breve possível.

A quarentena de todos os animais recém-adquiridos é primordial para evitar a entrada do antígeno em criações livres da enfermidade. O controle do trânsito animal nas propriedades pecuárias que deve ser realizado de maneira efetiva, de modo que o ingresso de animais nos rebanhos deve estar condicionado à soronegatividade para infecção de BVDV. Outra medida importante é a adoção de práticas adequadas de higiene e desinfecção dos fômites e das instalações, especialmente dos locais de quarentena para evitar a persistência viral no ambiente. O monitoramento das propriedades deve ser realizado periodicamente, utilizando-se de testes laboratoriais que permitam demonstrar a contínua ausência da circulação viral ou detectar precocemente a sua entrada, caso as medidas preventivas não sejam completamente eficazes (Pacheco 2010).

Em regiões onde a BVD é endêmica, a vacinação de rebanhos livres é altamente recomendada, pois diminui a possibilidade de surtos da doença que provocam sérias perdas econômicas para o produtor. De modo geral, preconiza-se a vacinação para rebanhos com sorologia positiva e/ou histórico de doença clínica ou reprodutiva compatível ou que já tenham comprovada circulação viral. Adicionalmente, esta prática também é indicada em criações com alta rotatividade de animais, propriedades onde são reunidos animais de diferentes procedências (confinamento e terminação de novilhos, por exemplo) ou que tenham constante anexação de animais como em rebanhos leiteiros (Flores 2003).

De acordo com Radostits et al. 2007, uma importante estratégia para o controle da BVD é a vacinação de fêmeas algumas semanas antes do início da estação de monta, dessa maneira haveria tempo hábil para a formação de uma resposta imune consistente com produção de anticorpos.

No Brasil, somente vacinas inativadas com adjuvantes oleosos ou hidróxido de alumínio estão dis-

poníveis para a imunização contra BVDV. A grande vantagem desse tipo de imunógeno é a segurança de administração que ele propicia, principalmente no tocante à vacinação de animais prenhes, por não promoverem a infecção fetal a partir de vírus vacinal e não apresentar reversão de virulência. Algumas desvantagens como indução de resposta imune fraca e de curta duração, proteção fetal ineficiente, necessidade de revacinação periódica – anual ou semestral – além de reforço na primovacinação por interferência de anticorpos maternos, fazem com que o uso desse tipo de vacina seja mais oneroso para o proprietário (Flores 2003). Outro ponto que merece destaque é a formulação das vacinas comercializadas no país, que têm como base cepas virais norte-americanas ou européias de BVDV tipo 1, antigenicamente diferentes das estirpes circulantes no território brasileiro. A tendência atual é que o genótipo 2 seja incluído nas formulações vacinais visando mitigar as falhas e o insucesso de programas de prevenção frequentemente relatados, já que há baixa reatividade sorológica entre amostras de BVDV-1 e BVDV-2 (Vogel et al. 2002).

Vacinas vivas atenuadas ou modificadas são capazes de induzir uma resposta imune satisfatória e duradoura, que persiste, por mais de um ano após a vacinação. Algumas desvantagens como falhas vacinas por estocagem e acondicionamento equivocado do produto biológico, a possibilidade de reversão de virulência e surtos de DM pós-vacinais, transmissão viral via transplacentária e infecção fetal produzindo abortamentos ou teratogenia limitam o uso desse tipo de vacina, principalmente em fêmeas gestantes

Nacionalmente, a comercialização de vacinas vivas não é permitida, porém estudos conduzidos por Brum et al. (2002) utilizaram bovinos e ovinos como modelos experimentais para avaliar a atenuação e a imunogenicidade de isolados CP de BVDV-1 e 2 atenuados por passagens múltiplas em cultivo celular. Os resultados mostraram uma atenuação adequada para bovinos por meio da indução de resposta sorológica de grande magnitude sem a presença de excreção viral e manifestação clínica da doença nos animais imunizados. Em ovinos, a vacinação, com os vírus atenuados, induziu uma resposta imune com capacidade para prevenir infecções fetais em ovelhas prenhes desafiadas, posteriormente, com amostras dos genótipos 1 e 2 de BVDV. Lima et al. (2004), também utilizaram amostras atenuadas de BVDV-1 para a imunização de novilhas

soronegativas e comprovaram a produção de títulos moderados a altos de anticorpos neutralizantes que persistiram até oito meses após a vacinação. Vogel et al. (2002) avaliaram a eficácia de três vacinas comerciais inativadas contra BVDV em bovinos e ovinos, sendo o estudo em bovino concentrado apenas na resposta sorológica frente ao desafio e em ovinos focado na proteção fetal contra isolados dos genótipos 1 e 2 de BVDV. O resultado ratificou a baixa/moderada indução de títulos de anticorpos em bovinos, principalmente no que se refere aos isolados de BVDV-2, além de falhar em proteger os fetos ovinos da infecção viral.

Conforme demonstrado pelos estudos citados anteriormente e segundo diversos autores (Botton et al. 1998, Flores et al. 2005; Flores 2007), os resultados das análises antigênicas dos isolados brasileiros de BVDV e os testes realizados com as vacinas comerciais demonstram a necessidade de reformulação destas para se adequarem à realidade brasileira, proporcionando, então, uma imunidade eficaz e duradoura aos animais vacinados.

Agradecimentos. Ao CNPq e a CAPES/PRO-CAD-NF 2007 pelo financiamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baker J.C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, 11:425-445, 1995.
- Bielefeldt-Ohmann H. The pathologies of bovine viral diarrhoea virus infection: A window on the pathogenesis. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, 11:447-476, 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.*, 18(2):83-90, 1998.
- Brito W.M.E.D., Alfaia B.T., Caixeta S.P.M.B., Ribeiro A.C.C., Miranda T.M.T., Barbosa A.C.V.C., Barthasson D.L., Linhares D.C. & Faria B.O. Serological study on bovine viral diarrhoea in non vaccinated dairy herds with reproductive disorders from Goiás. *Virus Res.*, 7(1):144, 2002.
- Brownlie J. Bovine virus diarrhoea virus: pathogenesis and control. *Proc. XXII World Buiat. Cong.*, Hannover, 2002. p.24-30
- Brum M.C.S., Weiblen R., Flores E.F., Tobias F.L., Pituco E.M. & Winkelmann E.R. Proteção fetal frente a desafio com o vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em ovelhas prenhes imunizadas com duas amostras de vírus atenuadas experimentalmente. *Pesq. Vet. Bras.*, 22:64-72, 2002.
- Canário R., Simões J., Monteiro M.H. & Mira J.C. Diarréia Viral Bovina: uma afecção multifacetada. *Veterinária. com.pt*, v.1, n. 2, 2009. Disponível em: <http://veterinaria.com.pt/media/DIR_27001/VPC-I-2-e6.pdf>. Acesso em: 23 Jan 2011.
- Castro R.S., Silva F.A.G., Frutuoso E.M. & Nascimento S.A. Anticorpos contra pestivírus e herpesvírus em caprinos leiteiros no Estado de Pernambuco. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 46:577-578, 1994.
- Chaves N.P., Bezerra D.C., Sousa V.E., Santos H.P. & Pereira H.M. Frequência de anticorpos e fatores de risco para a infecção pelo vírus da diarréia viral bovina em fêmeas bovinas leiteiras não vacinadas na região amazônica maranhense, *Brasil. Cienc. Rur.*, 40:1448-1451, 2010.
- Correa W.M., Netto Z.C. & Barros H.M. Nota clínico-patológica de uma enfermidade das mucosas em São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, 35:141-151, 1968.
- Dubovi E.J. Bovine viral diarrhoea virus. In: *Anais. Simp. Int. Herpesvirus Bovino Vírus Diarréia Viral Bovina*. Santa Maria, UFSM, 1998. 20 p.
- Donis R.O. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. *Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.*, 11:393-423, 1995.
- Figueiredo H.C.P., Vieira P.R., Lage A.P. & Leite R.C. Prevalência de anticorpos contra o vírus da Diarréia Viral Bovina a vírus em Minas Gerais, Brasil. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 121:11-15, 1997.
- 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. Zootec.*, 52:11-17, 2000.
- Flores E.F., Ridpath J.F., Weiblen R., Vogel F.S.F. & Gil L.H.V.G. Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhoea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2. *Virus Res.*, 87:51-60, 2002.
- Flores E.F. Vírus da diarréia viral bovina (BVDV). *Arq. Inst. Biol.*, 65: 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.*, 25:125-134, 2005.
- Flores E.F. *Virologia Veterinária*. Ed. UFMS, Santa Maria, p.435-462, 2007.
- Frederiksen B., Sandvik T., Loken T. & Odegaard S.A. Detection of viral antigen in placenta and fetus of cattle acutely infected with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Pathol.*, 36:267-275, 1999.
- Garoussi M.T. The Effects of Cytopathic and Noncytopathic Bovine Viral Diarrhoea Virus with Sperm Cells on In Vitro Fertilization of Bovine Oocytes. *Vet. Res. Comm.*, 31:365-370, 2007.
- Gil L.H.V.G. *Sequenciamento, análise filogenética e caracterização de polipeptídeos não-estruturais de amostras do vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV)*. Dissertação de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1998. 69f. (Disponível em: <<http://br.monografias.com/trabalhos/identificacao-virus-diarreia-identificacao-virus-diarreia2.shtml>>)
- Goens D. The evolution of Bovine Viral Diarrhoea: a review. *Can. Vet. J.*, 43:946-954, 2002.
- Grooms D.L. Reproductive consequences of infection with

- bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.*, 20:5-19, 2004.
- Guarino H, Núñez A, Repiso M.V., Gil A. & Dargatz D.A. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine viral diarrhoea virus in beef cattle in Uruguay. *Prev. Vet. Med.*, 85:34-40, 2008.
- Guimarães P.L.S.N. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréa viral bovina em bovinos em regime de criação semi-extensivo. *Cienc. Anim. Bras.*, 2:35-40, 2001.
- Houe H. Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals*, 31:137-143, 2003.
- IBGE. Censo Agropecuário, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home>>. Acesso em: 4 Mai 2011.
- Lazzari F.C., Bartholomei L. & Piccinin A. Diarréa Viral Bovina. *Rev. Cient. Eletr. Med. Vet.*, 6:10,2008. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria10/revisao/educ-vi-n10-RL32.pdf>>. Acesso em: 5 Jul 2011.
- Lima M.L., Flores E.F., Weiblen R., Vogel F.S.F. & Arenhart S. Caracterização de amostras atenuadas do vírus da Diarréa Viral Bovina (BVDV) tipos 1 e 2 para uso em vacinas. *Pesq. Vet. Bras.*, 24:35-42, 2004.
- Melo C.B., Oliveira A.M., Figueiredo H.C.P., Leite R.C. & Lobato Z.I.P. Prevalência de anticorpos contra Herpesvírus bovino-1, vírus da Diarréa Bovina a Vírus e Vírus da Leucose Enzoótica Bovina em bovinos do Estado de Sergipe, Brasil. *Rev Bras. Repr. Anim.*, 21:160-161, 1997.
- Odeón A.C., Spath E.J.A., Paloma E.J., Leunda M.R., Fernández Sainz I.J., Pérez S.E., Kaiser G.G., Draghi M.G., Cetrás B.M. & Cano A. Seroprevalencia de la Diarrea Viral Bovina, Herpesvirus Bovino y Virus Sincicial Respiratório en Argentina. *Rev Med. Vet.*, 82:216-220, 2001.
- Oie. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 2009. Organização Mundial de Saúde Animal. (Disponível em:<<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>>). Acesso em: 05 mai 2011.
- Olafson P., MacCallum A.D. & Fox A. An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet.*, 36:205-213, 1946.
- Pacheco J.M.C. *Caracterização do perfil de risco e avaliação de práticas de biossegurança em explorações produtoras de leite*. Dissertação em Medicina Veterinária, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto, 2010. (Disponível em: < http://sigarra.up.pt/icbas/teses_posgrad.tese?P_SIGLA=MIMV&P_ALU_NUMERO=021003047&P_LANG=00>)
- Pituco E.M. & Del Fava C. Situação do HVB-1 na América do Sul. *Anais Simp. Int. herpesvírus bovino e diarréa viral bovina*, 1998. p.49-57.
- Potgieter L.N.D. Bovine viral diarrhoea and mucosal disease, p.946-969. In: Coetzer J.A.W., Thomsom N.G.R. & Tustin R.C. (Eds), *Infectious diseases of livestock*. 2nd ed., Oxford University Press, Cape Town, 2004.
- Quincozes C.G., Fischer G., Hubner S.O., Vargas G.D.A., Vidor T. & Brod C.S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarréa viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. *Semina: Cienc. Agrar.*, 28:269-276, 2007.
- Radostits O.M., Gay C.C. & Hinchcliff K.W. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed., Saunders-Elsevier, Edinburgh, 2007. 2156 p.
- Reinhardt G., Riedemann S., Ernst S., Aguilar M., Enriquez R. & Gallardo J. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea / mucosal disease in southern Chile. *Prev. Vet. Med.* 10:73-78, 1990.
- Ridpath J. F. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. *Biologicals*, 31:127-131, 2003.
- Roehe P.M., Oliveira E.A.S., Oliveira L.G. & Munoz J.C.P.A. *A situação do vírus da Diarréa Viral Bovina no País. Anais do Simpósio Internacional sobre Herpesvírus Bovino (tipo 1 e 5) e Vírus da Diarréa Viral Bovina (BVDV)*. Santa Maria, Laboratório de Virologia, UFSM, 1998. p.30-48.
- Saliki J.T. & Dubovi E.J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.*, p.69-83, 2004.
- Samara S.I., Dias F.C. & Moreira S.P.G. Ocorrência da diarréa viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sc.*, 41:369-403, 2004.
- Scherer C.F.C., Flores E.F., Weiblen R., Kreutz L.C., Durr J.W., Brum L.P., Quadros V.L. & Lima M. Técnica rápida de neutralização viral para a detecção de anticorpos contra o vírus da Diarréa Viral Bovina (BVDV) no leite. *Pesq. Vet. Bras.*, 22:45-50, 2002.
- Strauss E.G., Strauss J.H. & Levine A.J. Virus evolution, p.141-159. In: Fields N.B., Knipe D.M. & Howley P.M. (Eds), *Fundamental Virology*. Raven Publ., Philadelphia, 1996.
- Thompson J.A., Gonçalves V.S.P., Leite R.C., Bandeira D.A. & Miranda R.H.L. Spatial hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. *Prev. Vet. Med.*, 76:290-301, 2006.
- Vidor T. Isolamento e identificação do vírus da doença das mucosas no Rio Grande do Sul. *Bol. Inst. Pesq. Vet. Des. Finamor*, 5:51-58, 1974.
- Vogel F.S.F., Flores E.F. & Weiblen R. Magnitude, duração e especificidade da resposta sorológica em bovinos vacinados contra o vírus da Diarréa Viral Bovina (BVDV). *Cienc. Rur.*, 32:83-89, 2002.