



## Infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em vacas gestantes abatidas no Estado de São Paulo-Brasil

*[The infection through virus of the bovine viral diarrhea in pregnant cows, slaughtered in the State of Sao Paulo, Brazil]*

### "Artigo Científico/Scientific Article"

MC Oliveira<sup>1</sup>, B Alexandrino<sup>1</sup>, LA Borges<sup>1</sup>, ASR Medeiros<sup>1</sup>, IB Affonso<sup>1</sup>, FC Dias<sup>2</sup>, SI Samara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil.

<sup>2</sup>Secretaria da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Estado de São Paulo-SP, Brasil.

#### Resumo

O Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) é um dos patógenos mais importantes na pecuária bovina em todo mundo, principalmente por desencadear manifestações clínicas relacionadas à esfera reprodutiva. A infecção em fêmeas gestantes pode resultar em abortamentos, reabsorções embrionárias, mumificações fetais, má formações e nascimento de bezerros fracos além do aparecimento de animais persistentemente infectados e imunotolerantes ao vírus, que são a principal fonte de infecção e disseminação da doença nos rebanhos. Atualmente, a complexidade do diagnóstico e consequentemente a patogenicidade, estão relacionados às diferenças genotípicas do agente. Por isso, a presente pesquisa teve como objetivo verificar a ocorrência dos genótipos BVDV-1 (Singer) e BVDV-2 (VS-253) em vacas, e respectivos fetos, abatidas em um frigorífico no Estado de São Paulo pela análise do soro sanguíneo por meio da técnica de virusneutralização. No contexto geral, 52,51% (115/219) das vacas testadas foram reagentes, mas nenhum feto (0/219) reagiu na virusneutralização. Pela análise cruzada conforme a estirpe viral, observou-se que 42% (92/219) das vacas foram reagentes tanto para o genótipo BVDV-1 como para o genótipo do BVDV-2. Por outro lado 4,10% (9/219) reagiram apenas para o genótipo BVDV-1 e 6,39% (14/219) reagiram apenas para o genótipo do BVDV 2. Notou-se portanto que ambas as estirpes estão disseminadas nas regiões estudadas, fato que justifica o emprego de antígenos diferentes para evitar diagnóstico falso-negativo. Por fim nenhum feto apresentou anticorpos ou alterações fetais, mesmo estando já desenvolvidos e podendo ser considerados imunocompetentes, independente de ser filho de mãe reagente.

**Palavras-chave:** vírus da diarreia viral bovina (BVDV), bovinos, virusneutralização.

#### Abstract

The most important pathogens in the bovine livestock nowadays in the virus of the viral diarrhea mainly for triggered clinical manifestations related to the reproductive sphere. The infection in pregnant females, may result in abortions, embryonic resorptions, fetal mummification, birth of weak and malformation of the cattle. Moreover, their birth with persistently infected and immunotolerant virus, which the source of infection and dissemination of their disease. Nowadays, the complexity of the diagnosis and consequently its pathogenesis are tilted in the genotypic differences agent. So, this study aimed to verify the occurrence of the BVDV-1 (SINGER) and BVDV-2 (VS-253) genotypes in cows and their respective fetuses, slaughtered in an abattoir in the State of Sao Paulo. Through blood serum, using virus neutralization technique. All in all, 52,51% (115/219) of the cows which were tested reacted, but no fetus (0/219) reacted, to its virus neutralization. Through this cross-examination we observed that 42% (92/219) of cows reacted for both BVDV-1 and BVDV-2. Furthermore 4,10% (9/219) of them reacted only to the genotype BVDV-1 and 6,39% (14/219) responded only to the genotype 2 of BVDV. Therefore it was noticed that both strains are widespread in the regions studied, which justifies the use of different antigens to avoid false-negative diagnosis. Finally antibodies showed no fetus or fetal abnormalities, it is already developed and can be considered immunocompetent, independent child born to a reagent.

**Key-Words:** bovine viral diarrhea virus (BVDV), bovine, virus neutralization.

(\*):Autor para correspondência/Corresponding author : e-mail vetmonica@yahoo.com.br

Recebido em: 30 de maio de 2012.

Aceito em: 20 de junho de 2012.

## Introdução

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* é caracterizado como um dos principais patógenos que promovem perdas significativas à bovinocultura de corte e leite em todo o mundo e, por isso, é considerado um dos vírus mais importantes que acomete os bovinos (BOLIN, 1990; BAKER, 1995), e está amplamente difundido no rebanho brasileiro (OLIVEIRA et al., 1996). Conforme foi observado por Gillespie et al., (1960), o BVDV apresenta dois biótipos: um citopatogênico (CP) e o outro não-citopatogênico (NCP). Amostras NCP predominam entre os isolados de campo e estão associadas às diversas manifestações clínicas da infecção, pois esses vírus possuem a capacidade de se replicar em cultivo celular sem danificar as células, isso explica o fato deles atravessarem a placenta e causar a infecção fetal persistente, *in vitro* ele não apresenta mudanças visíveis nas células infectadas, já o CP não ultrapassa 5% das amostras e induz a vacuolização e morte celular (GRUMMER, 2001).

O maior problema da infecção está diretamente ligado a grandes perdas reprodutivas sofridas pelos bovinos, dependendo da fase gestacional e do genótipo viral. Caso as fêmeas entrem em contato com o vírus entre os dias 40 e 120 de gestação, e se infectaram especificamente com amostras de vírus NCP, haverá infecção fetal, pois o vírus possui predileção por células em divisão com o subsequente nascimento de bezerros imunotolerantes ou persistentemente infectados (PI) (BROWNLIE, 1990; MOENNIG e LIESS, 1995). Nesta fase o sistema imunológico do feto atravessa a fase de reconhecimento dos antígenos próprios (DONIS, 1989) resultando em bezerros PI muitas vezes saudáveis e sem anticorpos contra o vírus que os infecta. Os animais PI constituem no ponto central na epidemiologia da infecção pelo BVDV pelos seguintes

motivos: são muitas vezes saudáveis; não são facilmente identificáveis por não serem reagentes, representam fontes contínuas e abundantes de vírus para outros animais, eliminam grandes quantidades de vírus em secreções e excreções e fêmeas PI produzem bezerros PI (DONIS, 1989).

Para o imunodiagnóstico da BVD vários métodos podem ser aplicados, porém os mais utilizados são o ELISA e a virusneutralização (VN) que é o teste padrão mais usado para determinar a ocorrência do BVDV por meio da mensuração dos anticorpos pelo soro dos animais, possui a facilidade de testar um grande número de amostras, porém necessita de um cultivo celular (RADOSTITS et al., 2002). Grande parte dos laboratórios que realizam os testes de VN para o BVDV no Brasil utiliza apenas as estirpes do BVDV-1; por isso, existem poucas informações relacionadas à ocorrência do genótipo do BVDV-2 e da imunidade cruzada entre os genótipos nos rebanhos, o que pode resultar em diagnósticos falsos - negativos (DIAS, 2008). Portanto objetivou-se pesquisar a ocorrência da infecção pelo BVDV em vacas gestantes, e em seus respectivos fetos, por meio da titulação de anticorpos no teste de VN contra os genótipos do BVDV-1 e 2 a partir de soros sanguíneos colhidos em frigorífico, no interior do Estado de São Paulo.

## Material e Métodos

Durante o abate, em um frigorífico localizado no interior do Estado de São Paulo, foram colhidas 219 amostras de sangue de vacas gestantes e dos respectivos fetos cuja idade foi estimada, conforme parâmetros definidos por Rexroad et al. (1974) citados por Diniz et al. (1998), como estando entre 40 a 240 dias de gestação. Os animais eram provenientes da região norte e nordeste do Estado de São Paulo, além de parte do Estado de Minas Gerais (triângulo mineiro), conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Origem dos rebanhos, número de amostras e datas das respectivas colheitas de material sanguíneo de vacas gestantes e respectivos fetos abatidas em matadouro frigorífico do Estado de São Paulo, durante o período de abril a junho de 2008

Data da coleta	Município	número de amostras
1º Coleta	São João Boa Vista (SP), Vargem Grande do Sul (SP), Patrocínio Paulista (SP) e Prata (MG)	55
11/04/2008		
2º Coleta	Conchas (SP), Monte Aprazível (SP), Areias (SP), Pompéia (SP)	52
25/04/2008		
3º Coleta	Tanabi (SP), Paulo de Faria (SP) e Frutal (MG)	51
21/05/2008		
4º Coleta	Tarabai (SP), Pedra Bela (SP), Joanópolis (SP) e Ribeirão Preto (SP)	61
13/06/2008		

As amostras de sangue foram colhidas de vacas gestantes e respectivos fetos, abatidas no matadouro frigorífico. Durante o procedimento do abate, as vacas gestantes foram devidamente numeradas para identificação, de forma a identificar seus respectivos fetos. As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas para em seguida serem transportadas ao setor de Vírus da Reprodução do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP- Câmpus de Jaboticabal/SP. No laboratório, o sangue foi centrifugado, separando-se duas alíquotas de 1,5 mL de soro em microtubos tipo “ependorf”, que foram identificadas, armazenadas e congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso. A separação do soro sanguíneo em duas alíquotas foi para que uma amostra fosse testada contra o genótipo do BVDV-1 e outra para o genótipo do BVDV-2, de modo que todas as amostras tivessem condições idênticas de manipulação antes do teste sorológico.

As amostras foram submetidas ao teste de VN conforme preconizado pelo (OIE, 2008). Os soros foram inativados a  $56^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos. Foram utilizadas células epiteliais de rim bovino da linhagem

Madin Darby bovine kidney (MDBK), a VN foi feita em placas de poliestireno com 96 cavidades onde foi colocado o meio Eagle-MEM (Minimal Essential Medium) Gibco® acrescidos de 10% de soro fetal bovino SFB e 1% de antibiótico composto por penicilina (10.000 UI/mL) e estreptomicina (10.000  $\mu\text{g/mL}$ ) Gibco<sup>R</sup>, as diluições das amostras testadas foram de 1:10 até 1:5.120. Depois de adicionada a suspensão viral contendo 100TCID<sub>50</sub>, as placas foram então incubadas por uma hora em estufa com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> a  $37^{\circ}\text{C}$ . Decorrido esse tempo foram adicionadas as células MDBK contendo 300.000 células/mL. Procedeu-se a leitura após 96 horas, considerando reagentes as amostras que apresentaram neutralização total de 100 TCID<sub>50</sub> do BVDV a partir da diluição 1:10.

Os títulos de anticorpos foram expressos como a recíproca da maior diluição em que foi verificada a neutralização viral, e o título final foi resultante da média geométrica dos títulos encontrados nas duplicatas. Para o estudo com análise da significância dos resultados foi utilizado o teste exato de Fisher, ZAR (1999) para detectar associações ( $p < 0,05$ ) entre as colheitas e os genótipos.

## Resultados e Discussão

Conforme pode ser visto na tabela 2, das 219 amostras de soro sanguíneo provenientes dos animais adultos que foram submetidas ao imunodiagnóstico pelo teste de virusneutralização, 46,12% (101/219) foram reagentes para o genótipo do BVDV-1 e 48,40% (106/219) para o genótipo do BVDV-2. Também se observou que 6,39% (14/219) das amostras foram reagentes somente para o genótipo do BVDV-2 e não para o genótipo do BVDV-1; 4,10% (9/219) foram reagentes para o genótipo do BVDV-1 e não para o BVDV-2. Por outro lado, 47,49% (104/219) das amostras foram negativas para ambos os genótipos. Descontando os negativos (104) do total de amostras (219) sobraram os positivos (115). Do total de positivos, já foi apresentado os reagentes exclusivos para o genótipo do BVDV-1 (9 amostras) e para o genótipo do BVDV-2 (14 amostras) restando as (92 amostras) com reação para ambos os genótipos; dessas amostras positivas em 7,76% (17/219) os títulos foram iguais para ambos os genótipos; em 16,89% (37/219) prevaleceu maior título para o genótipo do BVDV-1 e em 17,35% (38/219) o maior título foi para o genótipo do BVDV-2.

Antes de coletar o sangue dos 219 fetos teve-se o cuidado na linha de inspeção do frigorífico, em observar possíveis anomalias no fruto da gestação, pois toda a epidemiologia da doença está voltada para a

infecção transplacentária que pode resultar em morte, mumificação fetal, deformidades congênitas, hipotricose, alopecia, deformidades dos membros entre outras. Uma vez no laboratório as amostras de soro foram analisadas por virusneutralização, mas nenhum soro foi reagente ao genótipo do BVDV-1 ou ao genótipo do BVDV-2, independente de ser o feto proveniente de animais reagentes ou não e independente do período gestacional. Pelo exame anatomopatológico não foi observado morte ou alterações fetais e dos seus anexos, ou seja, todos esses materiais tinham aparência que denotavam normalidade.

A organização dos resultados dos testes que caracterizaram os genótipos do BVDV-1 e, ou genótipo do BVDV-2, estão apresentados no gráfico 1 conforme o período de colheita e a origem dos animais testados. Quando estes resultados foram analisados, pelo teste exato de Fisher, verificou-se que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação aos genótipos do BVDV-1 e do BVDV-2 conforme o período da colheita, pois as positivities da primeira colheita (11/04/2008) foram superiores a segunda (25/04/2008), a terceira (21/05/2008) e a quarta colheita (13/06/2008) e exibiram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) tanto para o genótipo do BVDV-1 quanto para o genótipo do BVDV-2.

Tabela 2. Detecção de anticorpos virusneutralizantes para os genótipos do BVDV-1 e do BVDV-2 em soro de vacas gestantes abatidas em frigorífico do Estado de São Paulo

		BVDV-1		
		Reagente	Não reagente	Total
BVDV-2	Reagente	92	14	106
	Não reagente	09	104	113
	Total	101	118	219

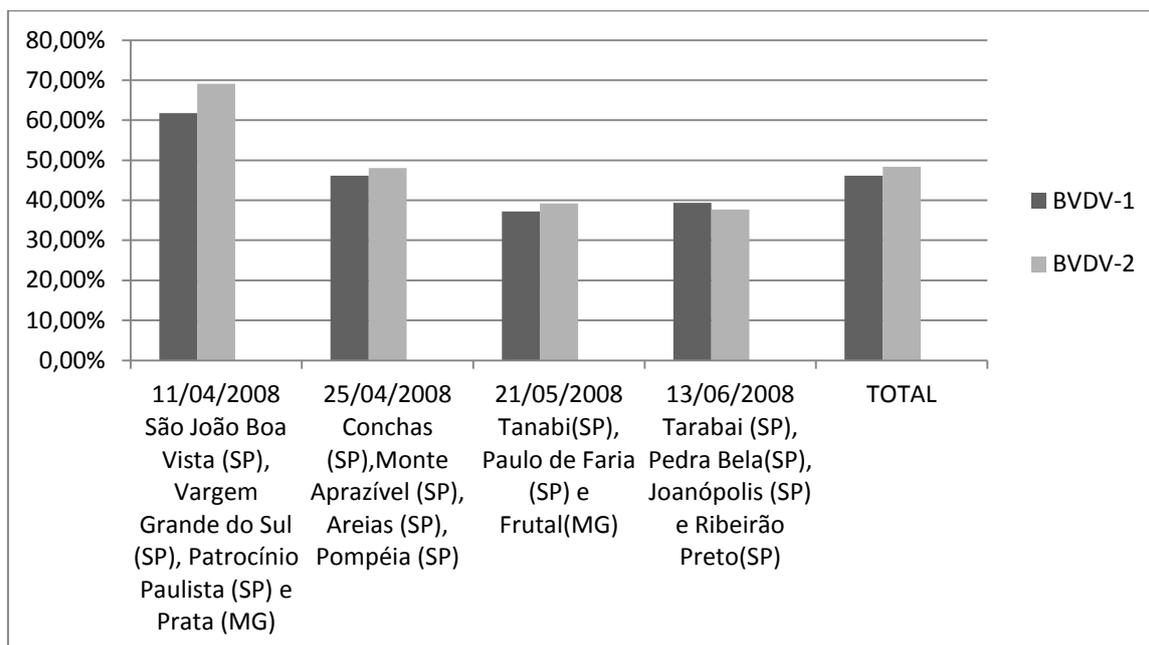


Gráfico 1. Animais positivos de acordo com as colheitas, no teste de virusneutralização para os genótipos do BVDV- 1 e BVDV-2 realizado após abate em frigorífico do Estado de São Paulo.

A frequência de anticorpos anti-BVDV encontrada nos soros das fêmeas, analisadas provenientes de diversas regiões mostrou que existe uma disseminação da doença em mais da metade dos animais examinados. Este índice desperta uma preocupação epidemiológica principalmente pela possível presença de animais PI nesses rebanhos. Tanto que os dados obtidos se mostram próximos aos 57,18 % em que Dias et al. (2003) encontraram na região sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo utilizando o teste Elisa em amostra de leite e aos 52,17% GUIMARÃES et al. (2001) no Estado de Goiás usando a VN. No entanto, são inferiores aos achados de Quincozes et al. (2007) que detectaram 66,32% da infecção em animais em regiões do Rio Grande do Sul, e aos de Figueiredo et al. (1997) que detectaram soropositividade entre 61,47% e 75,13% em 287 soros de bovinos de diversas regiões de Minas Gerais, colhidos em matadouro. Por outro lado são superiores aos achados na pesquisa realizada por Dias (2008) em animais de rebanho do

Estado de São Paulo e Minas Gerais na qual foi demonstrada a prevalência de 39,2% (102/260).

Os dados desse experimento são também superiores aos de Langoni et al. (1995) que foram de 39,5% no Estado de São Paulo e também relatados por Pellegrin et al. (1996), onde verificaram positividade em 43,6% no Pantanal. Na pesquisa de Richtzeinhain (1997) por meio da virusneutralização foi encontrada a prevalência de 65% no Estado de Minas Gerais e 78% no estado São Paulo, sendo que em todas as propriedades havia pelo menos um animal soropositivo. Mas todos estes trabalhos são passíveis de um problema no diagnóstico. Tudo isso porque a diversidade antigênica do BVDV, em especial a baixa reatividade sorológica cruzada entre os genótipos do BVDV-1 e do genótipo do BVDV-2, pode interferir na pesquisa sorológica (EDWARDS e PATON, 1995, BROCK, 1995). Particularmente, os testes de neutralização viral têm alteração da

especificidade na diversidade antigênica do BVDV. Tanto assim que, esse fato foi observado no presente estudo, pois houve variações relativamente grandes de títulos de anticorpos de uma mesma amostra quando utilizadas estirpes diferentes. Em relação aos animais reagentes para o genótipo do BVDV-1, a pesquisa em apreço encontrou 46,11% (101/219), índice maior do que os 33,8% (88/260) determinados por Dias (2008) no Estado de São Paulo e Minas Gerais, e acima dos 18,2% encontrado por Rush et al. (2001) nos Estados Unidos.

Em relação aos animais reagentes para o genótipo do BVDV-2 o trabalho encontrou 48,40% (106/219), índices maiores em relação aos de Dias (2008) que foram de 36,5% (95/260) e próximos aos 50% encontrados nos Estados Unidos por Rush et al. (2001). A maior resposta para o genótipo do BVDV-2 foi encontrada em estudos feitos na Alemanha onde esse genótipo é considerado um tipo de variante emergente (WOLFMEYER et al., 1997; TAJIMA et al., 2001).

Tendo em vista que a maioria dos laboratórios utiliza somente o genótipo do BVDV-1 nos exames de imunodiagnóstico, ficou então evidente que provavelmente está ocorrendo laudos falsos-negativos, porque nos resultados da presente pesquisa, apareceram 6,39% de amostras positivas (14/219) somente para o genótipo do BVDV-2.

Só esse fato mostra que resultados obtidos de provas laboratoriais, principalmente a virusneutralização, utilizando apenas uma estirpe viral do BVDV, em regiões onde circulam mais de um genótipo, certamente falhariam em detectar um número expressivo de animais positivos, como já foi alertado por Flores et al. (2000). Por isto, ou se deve incluir os dois genótipos no imunodiagnóstico, ou então é necessário que seja utilizada a estirpe de acordo com um levantamento sorológico anterior na região. Sabendo-se que a maioria dos laboratórios utiliza estirpes para o BVDV-1 e nessa região não existe um

levantamento das estirpes predominantes essas amostras resultariam em 6,39% (14/219) de falso-negativo.

Na pesquisa aplicada aos fetos, não foi detectada a presença de anticorpos contra ambos os genótipos do BVDV, assim como nos resultados de Nogueira (2003). Resultado diferente foi de Botton et al., (1998) que detectaram anticorpos neutralizantes em 1,36% (19/1396) das amostras dos fetos colhidos em frigorífico, já Camargo (2007) relatou a presença de 1,35% (7/518) de anticorpos detectados pelo ELISA em amostras de fetos da região de Presidente Prudente.

Por meio dos exames anatomopatológicos fetais realizados, não foram constatadas más formação congênita, que sinalizasse a infecção fetal como, por exemplo, hipoplasia cerebelar, microencefalopatia, hidrocefalia, hipotricose, alopecia e deformidades dos membros, patologias que segundo Grooms (2004) estão associadas à infecção pelo BVDV. Entretanto, considerando a literatura consultada, e as normas interpretativas da OIE (2008) que considera títulos acima de 10 como positivos, pode-se supor então que a positividade vale para ambos os genótipos quando o título interpretativo é atingido, independente de ser maior ou menor conforme o antígeno. Pelo exposto então, achou-se plausível fazer uma análise dos parâmetros da reatividade regional, determinados nos teste de VN independente de cada genótipo, como etiologia distinta. Então, nota-se que a positividade do BVDV no Estado de São Paulo e parte de Minas Gerais (triângulo mineiro) tiveram comportamento distinto, pois nem todos os animais reagentes a um genótipo do BVDV também foram reagentes ao outro genótipo. Com isto, apesar das origens diferentes dos animais, só na quarta colheita houve mais positivos para o genótipo do BVDV-1, enquanto que em todas as outras, a predominância da positividade foi para o genótipo do BVDV-2.

### Conclusão

Os resultados demonstram que a utilização do genótipo do BVDV-1 e do BVDV-2 no teste de virusneutralização resultou na detecção de variações que justifica a necessidade do uso de ambos os antígenos para concluir o imunodiagnóstico, quando utilizado apenas um genótipo do BVDV no teste de virusneutralização podem ocorrer resultados falsos – negativos. Os animais mais afetados com o genótipo do BVDV-1 se encontram nas regiões dos municípios de Tarabi (SP), Pedra Bela (SP), Joanópolis (SP), e Ribeirão Preto (SP) enquanto que para o genótipo do BVDV-2 se encontram nos municípios de São João da Boa Vista (SP), Patrocínio Paulista (SP), Prata (MG), Vargem Grande do Sul (SP), Conchas (SP), Monte Aprazível (SP), Areias (SP), Pompéia (SP), Tanabi (SP), Frutal (MG), Patrocínio Paulista (SP). Nenhum feto apresentou anticorpos ou alterações morfológicas, mesmo estando já desenvolvidos e podendo ser considerados imunocompetentes, independente de ser filho de mãe reagente.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Eduardo Furtado Flores, da Universidade Federal de Santa Maria, que gentilmente cedeu as estirpes citopatogênicas do BVDV-1 (Singer) e do BVDV-2 (VS-253), para a realização das reações, e a Capes pelo apoio financeiro.

### Referências

BAKER, J. C. The clinical manifestations of Bovine Viral Diarrhea infection. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 425-445, 1995.  
BOLIN, S. R. Control of bovine viral diarrhea infection by use of vaccination. **Veterinary Clinics of North America**, v.11, p.615-625, 1995.  
BOLIN S. R. The current understanding about the pathogenesis and clinical forms of

BVD. **Veterinary Medicine**, Prague, v. 85, n. 10, p. 1123-1132, 1990.  
BOTTON, S.A., SILVA, A.M., BRUM, M.C.S., et al. Antigenic characterization of brazilian isolates of bovine viral diarrhea virus (BVDV) with monoclonal antibodies and by cross-neutralization. **Braz J Med Biol Res**, v.31, p.1429-1438,1998.  
BROWNLIE J. The pathogenesis of bovine viral diarrhea virus infections. **Rev. Sci. Tech.**, OIE, n. 9, p. 43-59, 1990.  
BROCK, K. V. Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. In: BAKER, J. C., HOUE, H. Bovine viral diarrhea virus. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 549-562, 1985.  
CAMARGO, C. N. **Infecção transplacentária pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVD) em fetos bovinos oriundos de abatedouro da região de Presidente Prudente**. 2007. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Microbiologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo.  
CHILDS, T. X Disease of cattle - Saskatchewan. **Canadian Journal Comparative Medicine**, Quebec, v. 10, p. 316-319, 1946.  
DIAS, F. C. **Diarréia Viral Bovina (Bvd): Aspectos Epidemiológicos da Infecção Persistente, Avaliação Sorológica da Resposta Imune e Caracterização Molecular do Vírus**. 2008. 157f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva- Medicina Veterinária) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.  
DIAS, F. C.; SAMARA, S. I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** São Paulo, v.40, p.161-168, 2003.  
DINIZ, E. G. et al. Desenvolvimento morfológico dos ovários em embriões e fetos bovinos da raça Nelore. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Belo Horizonte, v.57, n.1, p.70-76, 1998.  
DONIS R. Bovine viral diarrhea: the unraveling of a complex of clinical presentations. **Bovine Proceedings**, v. 20, p. 16-22, 1989.  
DUBOVI E. J. Genetic diversity and BVD virus. **Comp. immunol. microbiol. infect. dis**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 155-162, 1992.

- EDWARDS, S.;PATON, D. Antigenic differences among pestiviruses. **Vet. clin. north am. food anim. pract**, Philadelphia, v. 11, n.3, p. 563-577, 1995.
- FIGUEIREDO, H.C.P. et al. Prevalência de anticorpos contra o vírus da diarreia bovina a vírus em Minas Gerais. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v.21, n.4, p.11-15, 1997.
- FLORES, E.F. et al. Diversidade antigênica de amostras do vírus da diarreia viral bovina isoladas no Brasil: implicações para o diagnóstico e estratégias de imunização. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, Belo Horizonte, v. 52, n.1, p. 7-11, 2000.
- GILLESPIE, J. H. et al. A cytopathogenic strain of virus diarrhea virus. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 50, p.73-79, 1960.
- HOUE, H. Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia, v.11, n. 3, p. 521-548, 1995.
- LANGONI, H. et al. Prevalence of BVD, IBR and PI3 in bovine by ELISA test. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 1995, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Virologia, 1995.
- MOENNIG V.; LIESS, B. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 477-487, 1995.
- NOGUEIRA, F. S. **Diagnóstico da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em propriedades da microrregião de Viçosa**. 2003. 51f. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa.
- OIE. Office International des Epizooties. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. Disponível em: ([http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A\\_00132.htm](http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_00132.htm)). Acesso em: 14 jun. 2008.
- OLAFSON, P. et al. An apparently new transmissible disease of cattle. **Cornell Veterinary**, Ithaca, v. 36, p. 205-213, 1946.
- PELLERIN, C. et al.. Identification of a new pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhea virus (BVDV) group of bovine viral diarrhea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities. **Virology**, Duluth, v. 203, p.260-267, 1994.
- QUINCOZES, C. G. et al. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região sul do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.
- RAMSEY, F. K. et al. Mucosal disease of cattle. **North American Veterinarian**, Santa Barbara, CA, v. 34, p. 629-633, 1956.
- REXROAD, C. E. et al. Crow-rum length of fetuses in purebred holstein-friesian cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 57, n. 3, p. 346-347, 1974.
- RUSH, D. M. et al. Descriptive epidemiology of postnatal bovine viral diarrhea virus infection in intensively managed dairy heifers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 219, n.10, p.1426-1431, 2001.
- TAJIMA, M. et al. Prevalence of genotypes 1 and 2 of bovine viral diarrhea virus in Lower Saxony, Germany. **Virus Research**, Amsterdam, v. 76, n. 1, p. 31-42, 2001.
- VAN OIRSCHOT, J. T. et al. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 64, n. 2-3, p.169-183, 1999.
- VIDOR, T. Isolamento e identificação do vírus da doença das mucosas no Estado do Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, Porto Alegre, p. 51-58, 1974.
- WOLFMAYER, A. et al. Genomic (5'UTR) and serological differences among German BVDV field isolates. **Archives Virology**, Vienna, v. 142, p. 2049-2057, 1997.