

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE
JABOTICABAL**

**EPIDEMIOLOGIA E PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES
PELO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM
SUÍNOS DE CRIAÇÕES NÃO TECNIFICADAS**

Henrique Meiroz de Souza Almeida

Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE
JABOTICABAL**

**EPIDEMIOLOGIA E PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES
PELO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM
SUÍNOS DE CRIAÇÕES NÃO TECNIFICADAS**

Henrique Meiroz de Souza Almeida
Médico Veterinário

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE
JABOTICABAL**

**EPIDEMIOLOGIA E PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES PELO
VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM SUÍNOS DE
CRIAÇÕES NÃO TECNIFICADAS**

Henrique Meiroz de Souza Almeida

Orientador: Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Samir Issa Samara

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área: Medicina Veterinária Preventiva.

2015

A498e Almeida, Henrique Meiroz de Souza
Epidemiologia e prevalência de infecções pelo Vírus da Diarreia
Viral Bovina (BVDV) em suínos de criações não tecnificadas . --
Jaboticabal, 2015
vii, 43 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientador: Luís Guilherme de Oliveira
Banca examinadora: José Carlos Figueiredo Pantoja, Hélio José
Montassier
Bibliografia

1. *Pestivirus*. 2. Doenças infecciosas. 3. Peste suína clássica. I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.9:636.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EPIDEMIOLOGIA E PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES PELO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM SUÍNOS DE CRIAÇÕES NÃO TECNIFICADAS

AUTOR: HENRIQUE MEIROZ DE SOUZA ALMEIDA

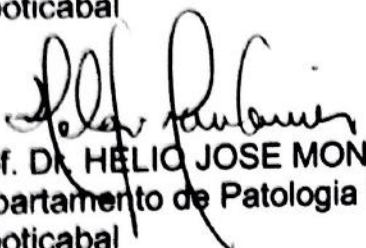
ORIENTADOR: Prof. Dr. LUÍS GUILHERME DE OLIVEIRA

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. SAMIR ISSA SAMARA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: MEDICINA VETERINARIA PREVENTIVA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LUÍS GUILHERME DE OLIVEIRA

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. HELIO JOSE MONTASSIER

Departamento de Patologia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. JOSE CARLOS DE FIGUEIREDO PANTOJA

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu

Data da realização: 02 de outubro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HENRIQUE MEIROZ DE SOUZA ALMEIDA- Nascido em 19 de março de 1990, na cidade de Campinas, Estado de São Paulo, é Médico Veterinário formado pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias- Unesp Câmpus de Jaboticabal em 2012. Durante esse período desenvolveu projeto de iniciação científica no Centro de Pesquisa em Sanidade Animal (CPPAR) do Departamento de Patologia, intitulado: “Diagnóstico da reinfecção experimental por *Toxoplasma gondii* em cabras gestantes pelo bioensaio”, com bolsa da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Realizou estágios de graduação no Sistema de Vigilância agropecuária do aeroporto internacional de Viracopos Campinas –SP, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (344 horas) e no Centro de Diagnósticos de Sanidade Animal (256 horas) da Embrapa suínos e aves em Concórdia –SC. Durante o curso de mestrado, participou da organização de eventos como II Simpósio de Qualidade do Leite e organizou e ministrou palestras no curso de Cultivo celular e técnica de virusneutralização nos anos de 2014 e 2015. Ainda, auxiliou e participou de diversas outras atividades relacionadas à área de Medicina Veterinária Preventiva com enfoque em epidemiologia de enfermidades infecciosas.

“A resposta certa, não importa nada: o essencial é
que as perguntas estejam certas. ”

Mário Quintana

Dedico esta dissertação aos meus pais Jazon Almeida e Rejane Grillo

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Jazon Almeida e Rejane Grillo, simplesmente por tudo. Por todo amor, por toda educação que me deram (ou tentaram), por todo apoio e por tudo que tiveram de deixarem de lado por mim e por meus irmãos! Muito obrigado! Esse trabalho também é uma vitória de vocês.

Aos meus irmãos André, Felipe e Mariana e minha segunda mãe Beta. Vocês fazem parte do que tenho de mais precioso na minha vida. Sempre vou estar ao lado de vocês não importa onde, quando ou como. Estou sempre torcendo por vocês mesmo à distância. Amo vocês.

A todos da minha família pelos votos de boa sorte, pela torcida no dia da defesa e mesmo apesar de muitos estarem longe senti o apoio de vocês bem de perto. Obrigado, cada um de vocês tem influência nessa pessoa que me tornei, afinal caráter vem da família.

Ao Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira, pela orientação, por me aceitar na equipe de braços abertos, por me mostrar o caminho da pesquisa, pelas oportunidades que me ofereceu, pelo tempo dedicado à minha formação, por todo carinho, respeito, pelo cafezinho e pela amizade. Essa dissertação é uma vitória nossa.

Ao Prof. Dr. Samir Issa Samara e a Andrea Medeiros por toda dedicação, paciência, pelos ensinamentos, pelos esclarecimentos, orientações entre outros, tudo que sei sobre laboratório devo a vocês! Espero um dia poder retribuir.

Aos Professores Dr. Luís Antônio Mathias e Dr. Antônio Sérgio Ferraudo por todo auxílio e consultoria neste trabalho. Obrigado, vocês foram fundamentais.

Aos amigos pós-graduandos Igor, Daniele, Karla e Anne pelo apoio, companhia e ajuda nas coletas. Muito obrigado! Sem vocês esse trabalho não teria sido possível.

Aos amigos da pós-graduação Ana Carolina, Ana Paula, Carlos Eduardo, Laryssa, por terem me acolhido, pelas risadas, pela companhia, pelo apoio e

pelos projetos sempre executados com sucesso! Vocês foram fundamentais nessa fase da minha vida!

Um agradecimento especial ao meu amigo Gabriel, por toda ajuda, apoio, pelas conversas, por aguentar minhas preocupações sem sentido, pelas risadas e companheirismo. Espero um dia poder retribuir tudo a você. Muito obrigado de coração.

Aos meus amigos da faculdade Victor (Somongó), Bruno, Felipe (Birolo), David (Sarrafo), Marcos (Zizu), Gabriela (Tipóia), Cássia (Muleta), Ana (Batman), Tatiana (Ipanema), Nathália (Gelada), Júlia (Siri), Catarina (Pornô), Mariana (Dôssim), não dá nem para descrever a falta que vocês fazem diariamente na minha vida, entendo que cada um tem que ter seu rumo na vida, mas espero que os encontros sejam sempre frequentes senão a saudades me mata. Amo vocês!

A minha segunda família campineira Felipe, Luísa, Silvia, Rodrigo, Gabriel, Bruna, Caio, Sarah, Paulo, Lívia, Stephany, Leo, Rafael, Marcelo. Não vou nem tentar agradecer vocês porque isso me tomaria praticamente outra dissertação inteira. Amo demais cada um. Obrigado pelo apoio e por sempre estarem do meu lado torcendo.

A todos os fazendeiros e proprietários que abriram as portas de suas propriedades e gentilmente cederam os animais para que esse trabalho fosse possível. Muito obrigado a todos e desculpe pelo incomodo! Sem a colaboração de vocês esse trabalho nunca seria possível. Espero um dia poder retribuir essa gentileza a todos.

Aos nossos maiores irmãos os animais, que desde cedo despertaram uma paixão incontrolável em mim e que muitas vezes abriram mão de suas vidas e conforto para um bem maior. De todo coração obrigado por tudo e desculpas, me comprometo a retribuir o conhecimento que vocês me possibilitaram para o bem de todos.

A todos professores e servidores do departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução animal, muito obrigado a cada um de vocês teve uma parte fundamental na minha formação e na construção dessa dissertação.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP Jaboticabal, por ter me ensinado essa maravilhosa profissão, por ter me recebido de portas abertas, por sempre acreditar nos seus alunos e ex-alunos, por todo carinho, estrutura e respaldo que foi dado a todos nós. Onde quer que for levo o nome dessa faculdade com muito orgulho.

A Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo voto de confiança e pelos recursos investidos nesse projeto. Muito obrigado.

SUMÁRIO

	Página
Certificado Comissão de Ética para Experimentação Animal	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
CAPÍTULO I – Considerações gerais	1
1.Introdução.....	1
2.Revisão de literatura.....	2
2.1 O gênero <i>Pestivirus</i>	2
2.2. Bases moleculares da semelhança antigênica.....	4
2.2.1.Testes de diagnósticos e reações sorológicas cruzadas.....	5
2.3.Dinâmica da infecção pelo BVDV e da resposta imune do hospedeiro.....	7
2.4. Infecção pelo BVDV em bovinos	9
2.5. Infecções pelo BVDV em suínos.....	10
2.6. Implicações práticas em programas de erradicação de PSC.....	12
3. Referências.....	15
CAPÍTULO II – Epidemiologia e prevalência de infecções pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em suínos de criações não tecnificadas	22
1.Introdução.....	22
2. Materiais e métodos.....	24
2.1. Amostragem e coleta do material.....	24
2.2. Fatores de risco.....	26
2.3. Teste de virusneutralização.....	26
2.4. Análise por geoprocessamento.....	27
2.5. Análise dos dados.....	27
3. Resultados e discussão.....	28
3.1. Prevalência.....	28
3.2. Análise de fator de risco.....	31
3.3. Análise pelo geoprocessamento	32
4. Conclusões.....	35
5. Referências.....	37
Apêndice A	41



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 07998/14 do trabalho de pesquisa intitulado "Estudo epidemiológico de ocorrência e transmissão do vírus da diarreia viral bovina em suínos", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 08 de maio de 2014.

Jaboticabal, 08 de maio de 2014.


Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora - CEUA

EPIDEMIOLOGIA E PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES PELO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM SUÍNOS DE CRIAÇÕES NÃO TECNIFICADAS

RESUMO - Os membros do gênero *Pestivirus* apresentam grande semelhança antigênica entre si. A reação sorológica cruzada entre o Vírus da Peste Suína Clássica (CSFV) e o Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) é de grande importância, e interfere em programas de erradicação da Peste Suína Clássica (PSC). Este trabalho teve como objetivos determinar a prevalência de anticorpos anti-BVDV em suínos de criações não tecnificadas, associar fatores de risco e buscar vínculos epidemiológicos entre rebanhos através do geoprocessamento. Para tal, 360 amostras de soro de suínos provenientes de 56 propriedades rurais da região nordeste do Estado de São Paulo foram submetidas ao teste de virusneutralização (VN) utilizando os genótipos BVDV-1 estirpe Singer e BVDV-2 estirpe VS253. Foram detectados 4,72% (17) de amostras reagentes na VN, e 26,79% (15) rebanhos apresentaram pelo menos um animal reagente. Não foi possível associar fatores de risco. O estimador de intensidade de Kernel indicou áreas de alto risco de ocorrência da enfermidade e, juntamente com a análise de correspondência múltipla apontou associação com a presença de rebanhos de bovinos, quantidade mediana de leitões e rebanho suíno mediano nas propriedades da região. Ressalta-se a importância dos bovinos na ocorrência de infecções pelo BVDV em suínos, assim como a problemática no diagnóstico e levantamento epidemiológico para vigilância de PSC devido a presença de anticorpos anti-BVDV nos animais.

Palavras-chave: *Pestivirus*, Doenças infecciosas, Virusneutralização, Kernel, Peste Suína Clássica

EPIDEMIOLOGY AND PREVALENCE OF BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) INFECTIONS IN SWINES OF NON- TECHNIFIED REARING FARMS

ABSTRACT- The members of the *Pestivirus* gender have great antigenic similarity. The serological cross-reaction between the Classical Swine Fever Virus (CSFV) and the Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) usually interferes with Classical Swine Fever (CSF) eradication programs. This study focused on establishing the prevalence of antibodies for the BVDV in pigs of non-technified rearing farms, associate risk factors and use geospatial analysis tools to correlate positive herds. A set of 360 serum samples from 56 herds located in the northeastern region of the state of São Paulo were analyzed by the virusneutralization test (VN), using the genotypes BVDV-1 strain Singer and BVDV-2 strain VS253. During the sample collection, a questionnaire was applied to the farmers in order to obtain epidemiological information of the herd. 4,72% (17) of the samples were positive in the VN and 26,79% (15) of the herds had at least one positive animal. It was not possible to associate risk factors; however, the variable “use of milk serum in the feed” showed a tendency to be associated with the occurrence of the disease. The Kernel intensity estimator showed three high risk of occurrence areas, which were associated with the presence of bovine herds, medium quantity of piglets in the herd and medium size of total swine herd. The results highlight the importance of bovines in the prevalence of swine BVDV infections and the difficulties in diagnostic tests and CSF surveillance actions due to the serological cross-reaction between BVDV and CSFV antibodies.

Keywords: *Pestivirus*, Infectious Diseases, Virusneutralization, Kernel, Classical Swine Fever

LISTA DE ABREVIATURAS

BDV: Border Disease Vírus (Vírus da Doença das Fronteiras)

BVDV-1: Bovine Viral Diarrhea Virus genótipo 1

BVDV-2: Bovine Viral Diarrhea Virus genótipo 2

BVDV-3: Bovine Viral Diarrhea Virus genótipo 3

Cp: biótipo citopatogênico

CSFV: Classical Swine Fever Virus

Ecp: Efeito citopático

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

GPS: Global Positioning System

IC 95%: Intervalo de confiança 95%

IFD: Reação de Imunofluorescência Direta

MABs: Anticorpos monoclonais

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MDBK: Madine Darby Bovine Kidney

Ncp: biótipo não citopatogênico

OIE: Organização Mundial da Saúde Animal

OR: Odds Ratio (razão das chances)

PI: Persistentemente Infectado

PSC: Peste Suína Clássica

SAD 69: Sistema Geodésico Sul-americano

TCID₅₀: 50% Tissue Culture Infective Dose

VN: Virusneutralização

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Análise univariada dos fatores de risco para a ocorrência de infecção pelo BVDV e respectivos valores apresentados da razão das chances (OR) a 95% de confiança e p obtido pelo Teste Exato de Fisher bicaudal ($p < 0,05$).....	32

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Histograma contendo a frequência, em valor absoluto, dos títulos apresentados pelas 17 amostras positivas na VN com BVDV-1 Singer e BVDV-2 VS253.....	29
Figura 2. Mapa dos municípios com todas propriedades amostradas apresentando a distribuição de casos positivos feita pelo estimador de intensidade de Kernel.....	33
Figura 3. Mapa da região amostrada do estado de São Paulo no ano de 2015, apresentando a distribuição dos rebanhos de leitões de 21 a 40 cabeças, gerado a partir do estimador de intensidade de Kernel.....	34
Figura 1A. Mapa da região amostrada apresentando a distribuição das propriedades com quantidade de bovinos considerada de mediana a alta (mais de 16 cabeças) gerado a partir do estimador de intensidade de Kernel.....	42
Figura 2A. Mapa da região amostrada apresentando a distribuição das propriedades com rebanho suíno total considerado de mediano (entre 25 e 50 cabeças) gerado a partir do estimador de intensidade de Kernel.....	42

CAPÍTULO I - Considerações gerais

1. Introdução

Dentre as enfermidades que acometem os sistemas de produção podem ser citadas as infecções virais causadas por agentes do gênero *Pestivirus*. Este gênero possui quatro espécies: o vírus da peste suína clássica (CSFV), o vírus da diarreia viral bovina (BVDV-1 e BVDV-2) e o vírus da doença da fronteira dos ovinos (BDV). As infecções pelos *Pestivirus* são de grande importância nos animais de produção, causando perdas econômicas e produtivas importantes no mundo todo.

Recentemente tem-se dado grande atenção às infecções causadas por BVDV-1 e BVDV-2 (*Pestivirus* de ruminante) em suínos, principalmente pelo fato de este tipo de infecção apresentar sinais clínicos semelhantes à peste suína clássica (PSC), doença de notificação obrigatória e com sérias consequências para a suinocultura e para a economia.

A semelhança antigênica entre o BVDV e o CSFV, além da possibilidade de infecção de suínos pelo BVDV, levanta a questão, no sentido de saber se os métodos laboratoriais empregados no controle do CSFV conseguem diferenciar a infecção por cada um dos dois agentes etiológicos. Por outro lado, a reação cruzada entre o BVDV e o CSFV pode ser um entrave para o diagnóstico correto de ambas enfermidades.

As informações sobre a ocorrência ou prevalência da infecção do BVDV em suínos no Brasil são inexistentes, principalmente em rebanhos de baixa tecnificação nos quais os animais são criados em condições precárias de higiene, muitas vezes sem cuidados básicos com a alimentação e a saúde.

Os prejuízos econômicos causados pela infecção de suínos pelo BVDV juntamente com a falta de dados sobre a ocorrência e prevalência da enfermidade no Brasil e a grande importância que as reações cruzadas entre BVDV e o CSFV apresentam, justificam trabalhos como este, visando fornecer maiores informações sobre a situação atual do rebanho suíno brasileiro e a epidemiologia de infecções pelo BVDV para a eventual elaboração de programas de prevenção, controle ou mesmo erradicação.

2. Revisão de literatura

2.1. O gênero *Pestivirus*

O gênero *Pestivirus*, da família *Flaviviridae*, é composto por patógenos virais de grande importância econômica para a produção animal no mundo inteiro (FLORES et al., 1996). Podem ser citados como os principais o CSFV, BDV e o BVDV (VILCEK et al., 1994). Os vírus desse gênero foram nomeados de acordo com a espécie a qual infectam preferencialmente (ASFOR et al., 2014) no entanto, alguns agentes apresentam relativa facilidade para infectar hospedeiros de outras espécies (MOENNIG, 1990).

Ademais, uma linhagem de células MDBK (“Madine Darby Bovine Kidney”) mutante de laboratório chamada de CRIB-I e resistente a infecção pelo BVDV, mostrou-se também resistente a infecção pelo BDV e CSFV, demonstrando que além de provavelmente terem evoluído de um ancestral comum, os mecanismos de infecção a nível celular dos vírus desse gênero em diferentes hospedeiros são os mesmos (FLORES et al, 1996).

Os *Pestivirus* possuem duas proteínas exclusivas a N^{pro} e E^{ms} que os diferenciam dos outros agentes da família *Flaviviridae* (NEILL, 2013). Morfológicamente analisando estes vírus são todos envelopados com diâmetro entre 25-120 nm e apresentam uma fita única de RNA de polaridade positiva com extensão de 12,3 kb e que codifica uma poliproteína com aproximadamente 4.000 aminoácidos (MEYERS; THIEL, 1996; VANNIER; ALBINA, 1999).

Essa poliproteína é clivada, por proteases virais e da célula hospedeira, em 11 ou 12 polipeptídeos, sendo eles denominados: proteína do capsídeo (C), N-terminal autoprotease (N^{pro}), as proteínas do envelope (E^{ms} , E1, E2, P7) e as proteínas não estruturais (NS2-3, NS4a, NS4b, NS5a e NS5b) (MEYERS; THIEL, 1996). A proteína C do capsídeo juntamente com as glicoproteínas do envelope E^{ms} , E1, E2 são consideradas proteínas estruturais dos virions desse gênero (KÜMMERER et al., 2000). A glicoproteína E2 do envelope viral está diretamente relacionada na interação entre o virion e receptores da célula hospedeira, conseqüentemente possui os

principais epítomos reconhecidos pelo sistema imune do hospedeiro e os principais indutores da produção de anticorpos neutralizantes (ASFOR et al., 2014).

Dentre os vírus do gênero *Pestivirus* cada espécie apresenta ainda variações antigênicas. No caso do BVDV, análises filogenéticas baseadas na região 5' UTR e do gene codificador da poliproteína p125 sugerem a existência de dois genótipos o BVDV-1 e BVDV-2. Ainda, foram relatadas diferenças na patogenia e na antigenicidade entre esses genótipos sendo o BVDV-2 mais relacionado à forma mais virulenta e hemorrágica da enfermidade (RIDPATH et al., 1994).

Recentemente novo genótipo foi isolado de soro fetal bovino proveniente do Brasil e atualmente já foi relatado no mundo inteiro sendo nomeado de Hobi-like (BAUERMANN et al, 2013). Sua similaridade genética e antigênica ao BVDV- 1 e BVDV-2 tem feito com que na literatura científica seja sugerido o uso do termo BVDV-3 (SCHIRRMIEIER et al., 2004; BAUERMANN et al, 2013). Quanto ao CSFV, ainda não foi relatado na literatura científica a presença de diferentes genótipos para essa espécie.

Alguns vírus, como o BVDV, possuem dois biótipos conhecidos: os citopáticos (cp) e os não citopáticos (ncp), sendo que a principal diferença entre ambos está na capacidade de causar efeito citopático (ecp) em células de tecidos ou de cultivo celular infectadas (NAGAI et al., 2004).

Os vírus ncp se replicam no interior das células hospedeiras sem causar alterações morfológicas que levem a morte celular, ao contrário dos cp (KÜMMERER et al., 2000). Meyers e Thiel (1996) relataram ter encontrado a proteína NS3 e a NS2-3 nas células infectadas por BVDV cp enquanto que nas infectadas pelo biótipo ncp foi encontrada apenas a proteína NS2-3, indicando que a citopatogenicidade pode estar relacionada a clivagem da proteína NS2-3 e a formação do subproduto NS3.

Os biótipos ncp do BVDV, mais comuns a campo, são capazes de produzir infecção persistente em fetos, quando estes são infectados entre 40 e 120 dias da prenhez (FLORES; RIDPATH, 2007). Já os biótipos cp, são considerados uma mutação do biótipo ncp e por isso são menos comuns na natureza (FLORES; RIDPATH, 2007). Não existem evidências que comprovem haver relação entre a citopatogenicidade e a virulência, uma vez que estirpes ncp do BVDV, em geral, causam a forma mais grave da enfermidade (RIDPATH et al., 2000).

2.2. Bases moleculares da semelhança antigênica

Grande similaridade no genoma, alta homologia e reação cruzada sorológica frente à anticorpos monoclonais (MABs) indicam haver grande semelhança entre os *Pestivirus* (VAN RIJN, 2007) e levam a crer que todos tenham surgido de um mesmo vírus ancestral comum (MOENNIG; LIESS, 1990). Entretanto, a diversificação genética dos vírus do gênero *Pestivirus* é resultante do acúmulo de mutações derivadas de erros no processo de replicação do vírus e da recombinação com outros RNAs homólogos ou heterólogos (NAGAI et al., 2004). A diferença entre os genótipos 1 e 2 do BVDV está relacionada a uma sequência de 268 nucleotídeos na porção 5' UTR do RNA viral (Flores et al., 2000).

A glicoproteína E2 do envelope dos *Pestivirus* é a proteína dominante na geração de resposta imune pelo hospedeiro e os anticorpos produzidos para esse antígeno são essenciais para testes diagnósticos e para imunidade induzida por vacinas (JELSMA et al., 2013). Estudos a nível molecular da glicoproteína E2 auxiliam a desvendar a origem da reação cruzada sorológica entre os vírus desse gênero. Jelsma et al. (2013) mostram que os domínios B/C da glicoproteína E2 do CSFV são análogos à porção N-terminal do domínio A da glicoproteína E2 do BVDV, enquanto a porção molecular Z2 deste último é semelhante a parte do domínio D/A do CSFV, provando que apesar de serem espécies diferentes a estrutura antigênica desses dois exemplares de *Pestivirus* é semelhante.

De acordo com Sandvik (2005), a glicoproteína E2 do envelope é a principal responsável pela similaridade e diferença antigênica entre os *Pestivirus*. Pesquisa realizada por Flores et al. (2000) apontou que a origem das diferenças antigênicas entre as estirpes e subgenótipos do BVDV está relacionada com variações da glicoproteína gp53/E2 do envelope viral. Apesar das informações serem relativamente escassas, acredita-se existir grande semelhança entre os sítios antigênicos do BVDV-1, BVDV-2 e do CSFV (WEILAND et al., 1992).

Estudo baseado em reação cruzada que ocorre em provas de virusneutralização identificou seis diferentes grupos antigenicamente similares de *Pestivirus*, sendo o mais importante o grupo I que abrange quatro estirpes de BVDV isolados de bovinos e duas estirpes de BVDV isolados de suínos (DEKKER et al.,

1995). Ridpath et al. (2000) realizaram provas de virusneutralização utilizando soros hiperimunes produzidos para diferentes espécies de *Pestivirus* (BVDV-1, BVDV-2, BDV e CSFV), e testaram cada um destes soros frente às mesmas espécies, constatando a ocorrência de neutralização entre espécies heterólogas com títulos de até 1024 (soro anti-CSFV frente ao BVDV-1) e 512 (soro anti-CSFV frente ao BVDV-2).

Pesquisa mais recente, e realizada *in vivo*, demonstrou que suínos infectados pelo BVDV apresentaram resistência clínica a infecção por CSFV, não se detectando, também, a transmissão deste último vírus entre os animais do rebanho, devido a ocorrência de reação sorológica cruzada (WIERINGA-JELSMA et. al., 2006). Ainda, Mengeling et al. (1963a) mostraram que células de rim bovino infectadas com o BVDV, em cultivo celular, apresentaram fluorescência quando colocadas em contato com anticorpos anti-CSFV conjugados com fluoresceína, demonstrando mais uma vez a semelhança antigênica entre os vírus desse gênero.

A reação cruzada na sorologia também ocorre dentro de uma mesma espécie, uma vez que há evidências que animais imunizados com vacina para BVDV-1 apresentam anticorpos contra o BVDV-2 e o “Hobi-like”, porém em títulos baixos (RIIDPATH et al., 2000; DECARO et al., 2013). Por outro lado, variações antigênicas podem ocorrer dentro de um mesmo genótipo (BVDV-1), uma vez que quando testados frente a um soro hiperimune de ovino, as taxas de similaridade antigênica (*R*) variaram de 1,1 a 50 entre os subgenótipos do BVDV-1 (ALPAY; YESILBAG, 2015).

2.2.1. Testes de diagnósticos e reações sorológicas cruzadas

Vilcek et al. (1994), colocam os exames laboratoriais como a chave principal para se realizar o diagnóstico das enfermidades causadas pelos *Pestivirus*, bem como a diferenciação entre os agentes etiológicos desse gênero. Técnicas diagnósticas que detectam a presença de anticorpos anti-BVDV no soro são consideradas as mais eficientes, mais rápidas e baratas para se identificar a exposição de animais ao vírus (GONZÁLEZ et al., 2014).

O teste de imunofluorescência direta (IFD) foi apontado como um dos principais testes diagnósticos para a PSC, pois conseguiu identificar com facilidade células de cultivo celular infectadas com CSFV, isolado de amostras de soro e sangue total de suínos infectados (MENGELING et al., 1963b). Entretanto, suínos infectados pelo BVDV podem apresentar resultado falso-positivo na IFD, sendo necessário o uso de provas confirmatórias dispendiosas e demoradas uma vez que casos positivos de PSC implicam no abate de todo o rebanho suíno ressaltando a necessidade de diferenciação entre esses dois tipos de infecção (WENSVOORT et al., 1989).

A reação de VN se baseia na identificação e quantificação, principalmente, de anticorpos produzidos contra a glicoproteína do E2 do envelope (SANDVIK, 2005). (SANDVIK, 2005). Essa técnica é considerada a prova de referência para diagnóstico da diarreia viral bovina (OIE, 2015) devido a uma série de vantagens que oferece como: a capacidade de indicar a presença e de quantificar anticorpos, a possibilidade do uso de soro de diferentes espécies animais e a flexibilidade para o uso de diferentes genótipos/subgenótipos do BVDV no teste aumentando o poder diagnóstico (DUBOVI, 2013).

De acordo com Dubovi (2013), a possibilidade de usar-se soro de qualquer espécie na VN é fundamental pois, como o BVDV infecta diversas espécies animais além da bovina, há a necessidade de um teste que possa ser realizado com diferentes tipos de soro, o que é possível na VN e a faz ser considerada a melhor prova para diagnóstico da diarreia viral bovina. Na reação é essencial que o soro seja testado utilizando os genótipos BVDV-1 e BVDV- 2, uma vez que baixos títulos de anticorpos para BVDV-2 podem não ser detectados ao se realizar a VN com o BVDV-1 e vice-versa (OIE, 2008). Quando realizado de acordo com os protocolos padrões da OIE, a VN é um teste muito sensível e específico (SANDVIK, 2005), apesar de esses valores variarem entre laboratórios.

Os testes de ELISA para o diagnóstico de PSC, foram desenvolvidos utilizando MABs baseados na detecção de anticorpos produzidos para a glicoproteína E2. Em testes realizados nas sete principais marcas comerciais a especificidade variou de 92% a 100% enquanto que a sensibilidade variou de 51% a 100%, ainda apenas três marcas conseguiram diferenciar anticorpos anti-BVDV e anticorpos anti- BDV de anticorpos anti-CSFV nas amostras analisadas (Schroeder et al., 2012).

Relatos práticos de surtos de PSC a campo mostram que, quando usado como principal teste de diagnóstico, o ELISA teste apresentou de resultados falso-positivos principalmente em amostras com baixo título de anticorpos (DE SMIT et al., 1999), em ambos os casos foi necessário utilizar um segundo teste confirmatório aumentando o tempo de ação para contenção do foco.

O uso de MABs tem se apresentado como uma possível solução para evitar reações cruzadas em testes sorológicos. Ao se testar soros policlonais anti-CSFV frente a 31 estirpes de BVDV e BDV, e 94 estirpes de CSFV todas foram reativas, enquanto ao se usar MABs anti-CSFV não houve reação com as estirpes de BVDV e BDV (WENSVOORT et al., 1989). Por outro lado, trabalho da mesma época afirma que MABS anti-BVDV foram reativos a 40% das estirpes de CSFV testadas, porém MABS anti-CSFV não apresentaram reação a nenhuma outra espécie de *Pestivirus*, indicando uma possível solução para o diagnóstico da PSC apesar de mais estudos serem necessários (CAY et al., 1989; EDWARDS et al., 1991).

2.3. Dinâmica da infecção e resposta imune humoral do hospedeiro frente ao BVDV

A presença de anticorpos anti-BVDV, em bovinos, indica que houve exposição prévia do animal aos antígenos do BVDV podendo este encontro ser resultante de vacinação ou infecção natural (FLORES; RIDPATH, 2007). A infecção por BVDV ocorre nos bovinos de duas formas: persistente e transiente, sendo a primeira caracterizada pela imunotolerância à estirpe viral infectante, enquanto na segunda há a indução normal da resposta imune específica pelo hospedeiro (PETERHANS et al., 2003).

Na infecção transiente, não há imunotolerância e ocorre indução de dois tipos de resposta imune: a humoral (anticorpos) e a celular (células T), gerando imunidade protetora, porém não muito duradoura (PETERHANS et al., 2003; FULTON, 2013). Tanto a resposta imune celular quanto a resposta imune humoral, geradas pelos hospedeiros em casos de exposição ao BVDV são protetoras, sendo que a resposta humoral é mais facilmente medida por testes diagnósticos (RIDPATH, 2013).

A resposta imune protetora se baseia no reconhecimento de dois principais antígenos do BVDV. A glicoproteína E^{ms} do envelope viral induz a produção de anticorpos com atividade neutralizante limitada enquanto que a glicoproteína E2 também do envelope, é o principal antígeno indutor da produção de anticorpos específicos e de alta capacidade neutralizante (DONIS, 1995).

Em animais inoculados com a glicoproteína E2 ocorreu a indução de grandes concentrações de anticorpos neutralizantes. Esse antígeno, por consequência, é utilizado em larga escala na produção de vacinas (AGUIRREBURUALDE et al., 2013). A proteína não estrutural NS2/3, clivada durante a replicação viral, é altamente imunogênica em células infectadas levando a produção de anticorpos que causam reações cruzadas com outros *Pestivirus* (DEREGT et al., 1998; VILCEK, 2001). Devido a proteínas não estruturais como a NS2/3 serem encontradas apenas em situações em que há replicação viral no organismo hospedeiro, imunidade para esta proteína é encontrada, em grande parte dos casos, em infecções naturais ou em vacinações com vacinas de vírus vivo (GONZALÉZ et al., 2014).

Em fêmeas bovinas não prenhes e não imunes ocorre viremia transiente que se inicia ao terceiro dia pós infecção (PEDRERA et al., 2011). Todavia, a soroconversão em bovinos ocorre apenas entre duas e três semanas pós-infecção sendo que a concentração de anticorpos tende a aumentar gradualmente até a 12^a semana pós infecção (HOWARD et al., 1992; RIDPATH, 2013). Anticorpos induzidos por vacinas contra o BVDV, em geral atingem concentrações máximas menores do que quando induzidos por infecção natural, porém apresentam dinâmica de produção e meia vida semelhantes sendo detectados no soro por até 18 meses pós vacinação (CORTESE et al., 1998).

Em suínos, a infecção experimental de leitões de oitos semanas de idade levou a soroconversão de todos animais entre 21 e 28 dias pós infecção (WIERINGA-JELSMA et al., 2006). Em estudo de prevalência na Holanda utilizando a VN detectaram-se títulos de anticorpos neutralizante de até 10.000, mostrando que infecções pelo BVDV em suínos podem gerar concentrações altas de anticorpos (LOEFFEN et al., 2009). No entanto informações sobre a dinâmica da infecção e a cinética viral do BVDV em suínos ainda são bastante escassas na literatura científica.

2.4. Infecção pelo BVDV em bovinos

O primeiro relato de uma infecção por *Pestivirus* em bovinos foi realizado por pesquisadores da Universidade de Cornell (EUA) em 1946 (OLAFSON et al., 1946). Atualmente as infecções por BVDV em bovinos encontram-se distribuídas pelo mundo todo, sendo a prevalência mundial estimada a nível animal é de 50% a 90% (KRAMPS et al., 1999). Na América do Norte a prevalência de anticorpos anti-BVDV encontrada foi de 70% a 80% dos bovinos (FLORES et al., 2005). Estudos no Brasil indicam que a prevalência da infecção em determinadas regiões é alta: no sul do Estado de Minas Gerais de 57,56%, no nordeste do Estado de São Paulo foi de 56,49% (SAMARA et al., 2004), 54,11% em rebanhos bovinos no Estado de Goiás (GUIMARÃES et al., 2000), 66,32% dos animais no Estado do Rio Grande do Sul (QUINCOZES et al., 2007) e 61,3% na região do município de Sanharó, interior de Pernambuco (ALMEIDA et al., 2000).

Em bovinos, a manifestação clínica da infecção pode variar de acordo com diversos fatores, tais como a cepa viral, o estado imune do hospedeiro e o estado reprodutivo (RIDPATH, 2010). Em rebanhos onde a doença é endêmica os principais sinais clínicos, e muitas vezes os únicos observados, são as falhas reprodutivas, visto que a enfermidade ocorre frequentemente na forma subclínica em animais adultos (FLORES et al., 2005).

Os sinais clínicos mais comuns em animais não prenhes são: febre por volta do sexto dia pós-infecção, inapetência e lesões nas mucosas (LINDBERG, 2003). Já em animais prenhes foram relatadas perdas reprodutivas, abortos, mumificação fetal, malformações, natimortos, nascimento de bezerros fracos e inviáveis além do aumento das taxas de absorção embrionária (BAKER, 1995). Em animais infectados o vírus é eliminado no ambiente por secreções orais, nasais, sêmen, leite e fetos abortados (FLORES; RIDPATH, 2007).

Bezerros nascidos de fêmeas infectadas durante a prenhez são chamados persistentemente infectados (PI), pois albergam o BVDV em seu organismo sem apresentar sinais da doença, esses animais podem manifestar uma forma fatal da enfermidade chamada doença das mucosas (DM), que cursa com anorexia, lesões erosivas no trato gastrointestinal, diarreia profusa e alta mortalidade (OIE, 2015).

Pesquisa realizada no estado de Michigan, EUA, encontrou prevalência de 0,13% de animais PI e 15% de rebanhos de leite com pelo menos um animal PI (HOUE et al., 1995). Já no Brasil, foi identificada uma prevalência de 1,2% de animais PI em rebanhos bovinos que apresentaram problemas reprodutivos (OLIVEIRA, 1996), embora a prevalência desse tipo de infecção ser baixa, é suficiente para manter o vírus circulando nos rebanhos bovinos (BAKER, 1995).

2.5. Infecções pelo BVDV em suínos

Apesar da infecção por *Pestivirus* de ruminantes não se apresentar tão problemática quanto a infecção por CSFV, distinguir essas duas enfermidades pode ser muito difícil clinicamente (PATON; DONE, 1994). Dessa forma, recentemente tem-se dado grande atenção às infecções causadas por *Pestivirus* de ruminantes (BVDV) em suínos, principalmente pelo fato de tais infecções apresentarem sinais clínicos muito semelhantes à PSC nos animais acometidos (MOENNIG; LIESS, 1990). O primeiro relato do isolamento de *Pestivirus* de ruminantes em suínos naturalmente infectados ocorreu no ano de 1973 (FERNELIUS, et. al., 1973).

As infecções por BVDV em suínos são, geralmente, assintomáticas, apesar de em alguns casos terem sido relatados em animais adultos, problemas reprodutivos, nascimento de leitões fracos, aborto, mumificação fetal, hipertermia e cólicas intestinais (VANNIER; ALBINA, 1999; TAO et al., 2013). Em porcas prenhes, há a infecção transplacentária que pode causar abortos, natimortos, nascimento de leitegadas debilitadas, má formações e até o nascimento de leitões persistentemente infectados (PATON; DONE, 1994; BECHER et. al., 2003).

Casos onde a infecção pelo BVDV induziu grande quantidade de lesões em suínos adultos são causados por cepas virais com longo histórico de passagem e infecções nesta espécie (TERPSTRA; WENSVOORT, 1988). Em leitões, a infecção por BVDV apresenta como principais sinais clínicos anemia, retardo no desenvolvimento, pelagem áspera, poliartrite, tremores congênitos, petéquias na pele, diarreia, conjuntivite e cianose de extremidades (TERPSTRA; WENSVOORT, 1988). Ainda assim, a infecção pós-natal de suínos por BVDV é considerada praticamente

inofensiva, ao contrário das infecções pelo CSFV que acomete os rebanhos com alta mortalidade (MOENNIG, 1990).

Na Inglaterra relatou-se um surto de morte súbita em leitões com sinais clínicos semelhantes à PSC, porém ao isolar-se o agente etiológico dos suínos percebeu-se que se tratava de uma infecção pelo BVDV, sendo que em seguida o mesmo agente foi isolado de bovinos da mesma propriedade. O vírus isolado mostrou-se igualmente suscetível a neutralização por anticorpos dos suínos e dos bovinos da mesma propriedade (PATON et al., 1992).

A prevalência da infecção de suínos por BVDV varia de acordo com as regiões. Em 11 províncias da China, país possuidor do maior rebanho mundial de suínos, a prevalência de animais positivos, dentre aqueles que apresentaram alguma desordem reprodutiva, em testes sorológicos fica entre 20-30%, sendo o BVDV-1 o genótipo mais prevalente (DENG et al., 2012).

Na Holanda, a prevalência de casos positivos estimada foi em 0,42% nos suínos de terminação, 2,5% nas porcas em idade reprodutivas e 11% dos rebanhos (LOEFFEN et al., 2009). Dados mais antigos afirmam que em países declarados livres de PSC, a prevalência de suínos infectados por BVDV variava de 1,6% a 43,5% (HOLM-JENSEN, 1985). Já estudo realizado com rebanho sentinela de suínos no estado de Ontario, Canadá, não foi identificado nenhum animal positivo para BVDV (O'SULLIVAN et al., 2011). Não foram encontrados dados de prevalência nem de ocorrência da infecção por BVDV em suínos no Brasil.

Estudos epidemiológicos colocam os bovinos como hospedeiros preferenciais para o BVDV e a principal fonte de infecção para os suínos e outros ruminantes selvagens (VANNIER; ALBINA, 1999; RIDPATH, 2010). O contato direto com gado em uma mesma propriedade é considerado o principal meio de transmissão do BVDV para suínos (VANNIER; ALBINA, 1999; MOENNIG; LIESS, 1990).

A transmissão também pode ocorrer devido ao uso de leite de bovinos infectados e outros derivados lácteos na alimentação de suínos, o uso de vacinas contra PSC contaminadas e através de fômites (CARBREY et. al., 1976; TERPSTRA; WENSVOORT, 1988). Ao contrário do que se acreditava anteriormente, a transmissão também ocorre de suíno para suíno, porém de forma limitada (WIERINGA-JELSMA et. al., 2006).

Entretanto, Deng et al. (2012) afirmam que a prevalência do BVDV em rebanhos suínos está intimamente ligada com a prevalência da enfermidade em rebanhos bovinos. Corroborando assim, as conclusões de Loeffen et al., (2009) e O'Sullivan et. al., (2011), que atribuem a baixa prevalência de BVDV em rebanhos suínos, nas suas respectivas regiões, a alta especialização da agropecuária que ocasionou a diminuição de propriedades produtoras com mais de uma espécie animal, reduzindo assim o contato entre bovinos e suínos.

2.6. Implicações práticas em programas de erradicação de PSC

A PSC é uma enfermidade de notificação obrigatória segundo a OIE, uma vez que sua ocorrência leva a graves consequências ao bem-estar animal, a suinocultura e a exportação desses animais e seus produtos (BRASIL, 2004a). Trata-se de uma doença de alta mortalidade e morbidade cuja gravidade muitas vezes se estende além das fronteiras nacionais trazendo prejuízos socioeconômicos e/ou sanitários que dificultam ou impossibilitam o comércio internacional de suínos e seus subprodutos (BRASIL, 2004a).

No Brasil a PSC é uma enfermidade passível da aplicação de medidas de defesa sanitária animal, sendo que os animais infectados têm obrigatoriamente que ser sacrificados (BRASIL, 1934). A Instrução Normativa Nº 27 de 20 de abril de 2004, aprova o plano de contingência da PSC a ser aplicado em todo território nacional, estabelecendo todas as ações a serem adotadas para vigilância e contenção de focos (BRASIL, 2004a).

São considerados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) como áreas livres de PSC os estados brasileiros: Acre, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Rondônia, Santa Catarina, São Paulo, Sergipe, Tocantins e os Municípios de Guajará, Boca do Acre, sul do município de Canutama e sudoeste do município de Lábrea, pertencentes ao Estado do Amazonas (BRASIL, 2013). No ano de 1998 ocorreu campanha de vacinação em massa de suínos no Estado de São Paulo, e desde então não foi identificado mais nenhum foco dessa

enfermidade no estado, por consequência não há mais vacinação nos rebanhos desde esse ano (BERSANO et al., 2005).

Ainda dentro do Programa de Sanidade Suídea (PNSS), para a certificação de Granjas de Reprodutores Suídeos Certificada (GRSC) o rebanho precisa ser livre de PSC, para isso é necessário realizar provas sorológicas a cada seis meses de todos animais ou amostragem em caso de rebanho grandes (BRASIL, 2002). A vacinação para PSC é proibida em todo território nacional, sendo permitida apenas em casos específicos em que há grande risco de disseminação das doenças, sendo necessária autorização do de autoridade sanitária (BRASIL, 2004b).

Devido à grande similaridade na estrutura antigênica entre os agentes etiológicos da PSC e da BVD, há possibilidade de ocorrer reações cruzadas em testes sorológicos. Sendo assim, a presença de anticorpos anti-BVDV no soro de suínos pode levar a resultados falso positivos em exames sorológicos para o diagnóstico de PSC, o que em termos práticos causa problemas em programas de erradicação de PSC ou mesmo em levantamentos epidemiológicos dessa enfermidade (LOEFFEN et al., 2009; TAO et al., 2013).

Apesar de proibida no Brasil (BRASIL, 2004b), a vacinação é uma estratégia muito utilizada em programas de controle e erradicação de PSC, porém estudo mostra que a presença de anticorpos anti-BVDV nos rebanhos devido a infecção prévia dos animais reduziria a eficácia da vacina de PSC (VAN RIJN ,2007), reduzindo a efetividade dos programas de controle e erradicação.

Os focos de PSC em território nacional devem ser considerados como emergência sanitária. Esta última se define como o conjunto de ações sanitárias com o objetivo de impedir a disseminação da enfermidade para outros rebanhos e erradicá-lo com em menor tempo e menor custo possível (BRASIL, 2004a). Segundo De Smitt et al. (1999), em programas de erradicação muitas vezes a dificuldade em se obter um diagnóstico exato pode levar a demora na tomada de decisões o que leva a maior disseminação da doença e maior perda econômica, o que dificulta o cumprimento dos requisitos de emergência sanitária.

A presença de anticorpos anti-BVDV nos rebanhos suínos da Holanda dificultou o controle e diagnóstico de animais positivos durante um surto de PSC nos anos 1990 devido a ocorrência de falso-positivo (DE SMITT et al., 1999). Como a principal

medida frente a casos positivos de PSC é o abate dos animais implicando em prejuízos ao produtor, um diagnóstico correto é de extrema importância nas atividades de controle e erradicação (WENSVOORT et al., 1989).

3. REFERÊNCIAS

AGUIRREBURUALDE, M. S. P.; GÓMEZ, M. C.; OSTACHUK, A.; WOLMAN, F.; ALBANESI, G.; PECORA, A.; ODEON, A.; ARDILA, F.; ESCRIBANO, J. M.; SANTOS, M. J. D.; WIGDOROVITZ, A. Efficacy of a BVDV subunit vaccine produced in alfafa transgenic plants. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 151, n. 3-4, p.315-324, 2013.

ALMEIDA, H. J. O.; MOTA, R. A.; NASCIMENTO, S. A.; HARROP, M. H. V.; CASTRO, R. S.; CUNHA, E. J. G. Prevalência de bovinos sororreagentes para *Brucella abortus*, *Leptospira interrogans* e Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em bovinos do Município de Sanharó - PE. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. v. 3, nº2, p. 93-111, 2000.

ALPAY, G.; YESILBAG, K. Sertological relationships among subgroups in Bovine Vira Dirrhoea Virus genotype 1 (BVDV-1). **Veterinary Microbiology**. v.175, n. 1, p. 1-6, 2015.

ASFOR, A. S.; WAKELEY, P. R.; DREW, T. W.; PATON, D. J.; Recombinant Pestivirus E2 glycoproteins prevent viral attachment to permissive and non-permissive cells with different efficiency. **Vírus Research**. v. 189, p. 147-157, 2014.

BAKER, J.C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infections. **Veterinary Clinics of North America**. v.11, p.427-444, 1995.

BAUERMAN, F. V.; RIDPATH, J. F.; WEINBLIN, R.; FLORES, E. F. Hobi-like víruses: and emerging group of Pestiviruses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 25, n. 1, p. 6- 15, 2013.

BECHER, P.; RAMIREZ, R. A.; ORLICH, M.; ROSALES, S. C.; KÖNIG, M.; SCHWEIZER, M.; STALDER, H.; SCHIRRMIEIER, H.; THIEL, H. J. Genetic and antigenic characterization of novel Pestivirus genotypes: implications for classification. **Virology**. v. 311, p. 96-104, 2003.

BERSANO, J. G.; VILLALOBOS, E. M. C.; OGATA, R. A.; KYOTA, S.; BILYNSKYJ, M. C. V.; PORTUGAL, M. A. C. A erradicação da Peste Suína Clássica no Estado de São Paulo: contribuição de duas décadas de pesquisa no Instituto Biológico. **Biológico**. v.67, n. 1, p. 31-37, 2005.

BRASIL. Gabinete do presidente, Decreto nº 24.548 de 3 de julho de 1934, Aprova o regulamento do serviço de defesa sanitária animal, **Diário Oficial da União**, Rio de Janeiro, 14/07/1934.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; Gabinete do Ministro, Instrução Normativa nº 52 de 11 de outubro de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14/10/2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Defesa Agropecuária, Instrução Normativa nº 19 de 15 de fevereiro de 2002, Aprova as normas a serem cumpridas para a Certificação de Granjas de Reprodutores de Suídeos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01/03/2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Defesa Agropecuária, Instrução Normativa nº 27 de 20 de abril de 2004, Aprova o plano de contingência para Peste Suína Clássica, a ser observado em todo território nacional, na forma de anexo à presente Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, 27/04/2004-a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Defesa Agropecuária, Instrução Normativa nº 6 de 9 de março de 2004, Aprova as normas para a erradicação da Peste Suína Clássica (PSC), a serem observadas em todo território nacional, na forma de anexo à presente Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10/03/2004-b.

CARBREY, E. A.; STEWART, W. C.; KRESSE, J. I.; SNYDER, M. L.; Natural infection of pigs with bovine viral diarrhoea virus and its differential diagnosis from hog cholera. **Journal of American Veterinary Association**. v. 169, p. 1217-1219, 1976.

CAY, B.; CHAPPUIS, G.; COULIBALY, C.; DINTER, Z.; EDWARDS, S.; GREISER-WILKER, I.; GUNN, M.; HAVE, P.; HESS, G.; JUNTTI, N.; LIESS, B.; MATEO, A.; McHUGH, P.; MOENNIG, V.; NETTLETON, P.; WENSVOORT, G. Comparative analysis of monoclonal antibodies against Pestiviruses: report of an international workshop. **Veterinary Microbiology**. v.20, p.123-129, 1989.

COLIJN, E. O.; BLOEMRAAD, M.; WENSVOORT, G. An improved ELISA for the detection of serum antibodies directed against classical swine fever virus. **Veterinary Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 15-25, 1997.

CORTESE, V.S.; WHITTAKER, R.; ELLIS, J.; RIDPATH, J F.; BOLIN, S. R. Specificity and duration of neutralizing induced antibodies in healthy cattle after administration of a modified live vaccine against bovine viral diarrhoea. **American Journal of Veterinary Research**. v. 58, n. 7, p. 848-850, 1998.

DE SMIT, A. J.; EBLÉ, P. L.; KLUIJVER, E. P.; BLOEMRAD, M.; BOUMA, A. Laboratory decision making during the classical swine fever epidemic of 1997-1998 in the Netherlands. **Preventive Veterinary Medicine**. v.42, p. 185-199, 1999.

DECARO, N.; MARI, V.; SCIARRETTA, R.; LUCENTE, M. S.; CAMERO, M.; LOSURDO, M.; LARROCA, V.; COLAO, V.; CAVALIERE, N.; LOVERO, A.; LORUSSO, E.; BUONAVOGLIA, C. Comparison of cross-antibody response induced in sheep by inactivated bovine viral diarrhoea virus 1 and Hobi-like Pestivirus. **Research in Veterinary Science**. v. 94, p. 806- 808, 2013.

DEKKER, A.; WENSVOORT, G.; TERPSTRA, C. Six antigenic groups within the genus Pestivirus as identified by cross neutralization assay. **Veterinary Microbiology**. v.47, n. 3-4, p. 317-329, 1995.

DENG, Y.; SUN, C. Q.; CAO, S. J.; LIN, T.; YUAN, S. S.; ZHANG, H. B.; ZHAI, S. L.; HUANG, L.; SHAN, T. L.; ZHENG, H.; WEN, X. T.; TONG, G. Z.; High prevalence of bovine viral diarrhoea virus 1 in Chinese swine herds. **Veterinary Microbiology**. v. 159, p. 490-493, 2012.

DEREGT, D.; VAN RIJN, P. A.; WIENS, T. Y.; VAN DE HURK, J. Monoclonal antibodies to the E2 protein of new genotype (type 2) of bovine viral diarrhoea virus define three antigenic domains involved in neutralization. **Virus Research**. v. 57, p. 171-181, 1998.

DONIS, R. O.; Molecular biology of the Bovine Viral Diarrhoea Virus and its interactions with the host. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**. v. 11, n. 3, p. 393-423, 1995.

DUBOVI, E. J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. **Biologicals**. v. 41, p. 8-13, 2013.

EDWARDS, S.; MOENNIG, V.; WENSWOORT, G. Development of an international reference panel of monoclonal antibodies for the differentiation of hog cholera virus from other Pestiviruses. **Veterinary Microbiology**. v. 29, n. 2, p. 101-108, 1991.

FERNELIUS, A. L.; AMTOWER, W. C.; LAMBERT, G.; MCLURKIN, A. W.; MATTHEWS, P. J.; Bovine viral diarrhoea virus in swine: characteristics of virus recovered from naturally and experimentally infected swine. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. v. 37, p. 13-20, 1973.

FLORES, E. F.; KREUTZ, L. C.; DONIS, R. O. Swine and ruminant Pestiviruses require the same cellular factor to enter bovine cells. **Journal of General Virology**. v. 77, p. 1295-1303, 1996.

FLORES, E. F.; GIL, L. H. G. V.; BOTTON, S. A.; WEIBLEIN, R.; RIDPATH, J. F.; KREUTZ, L. C.; PILATI, C.; DRIEMEYER, D.; MOONJEN, V.; WENDELSTEIN, A. C. Clinical, pathological and antigenical aspects of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. **Veterinary Microbiology**. v. 77, n. 1-2, p. 175-183, 2000.

FLORES, E. F.; RIDPATH, J. Flaviviridae. In: Flores, E. F.; **Virologia Veterinária**, 2007, 1ª edição, Editoraufsm, Santa Maria, p. 565-590.

FLORES, E. F.; WEIBLEIN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P. M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. Infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no Brasil – histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 25, p. 125-134, 2005.

FULTON, R. W. Host response to bovine viral diarrhoea virus and interactions with infectious agents in the feedlot and breeding herd. **Biologicals**. v. 41, p. 31-38, 2013.

GONZÁLEZ, A. M.; ARNAIZ, I.; YUS, E.; EIRAS, C.; SANJUÁN, M.; DIÉGUEZ, F. J. Evaluation of long term antibody response to two inactivated bovine viral diarrhoea virus (BVDV) vaccines. **The Veterinary Journal**. v. 199, p. 424-428, 2014.

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 jul/dez, p. 137-142, 2000.

HOUE, H.; BAKER, J. C.; MAES, R. K.; WURYASTUTI, H.; WASITO, R.; RUEGG, P. L.; LLOYD, K. W. Prevalence of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea 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. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 7, p. 321-326, 1995.

HOLM JENSEN, M. Screening for neutralizing antibodies against Hog cholera vírus and/or bovine viral diarrhoea virus in Danish pigs. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v.22, p. 72-80, 1985.

HOWARD, C. J.; CLARKE, M. C.; SOPP, P.; BROWLIE, J. Immunity to bovine viral diarrhoea virus in calves: the role of different T-cell subpopulations analysed by specific depletion in vivo with monoclonal antibodies. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.32, p. 303-314, 1992.

JELSMA, H.; LOEFFEN, W. L. A.; VAN BEUNINGEN, A., VAN RIJN, P. A. Preliminary mapping of non-conserved epitopes on envelope glycoprotein E2 of Bovine Viral Diarrhoea virus types 1 and 2. **Veterinary Microbiology**. v. 166, p. 195-199, 2013.

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

KÜMMERER, B. M.; TAUTZ, N.; BECHER, P.; THIEL, H. J.; MEYERS, G. The genetic basis for cytopathogenicity of Pestiviruses. **Veterinary Microbiology**. v. 77, p. 117-128, 2000.

LINDBERG, A. L. E. Bovine Viral Diarrhoea Virus infections and its control. A review. **Veterinary Quarterly**. v. 25, p.1-16, 2003.

LOEFFEN, W. L. A.; VAN BEUNINGEN, A.; QUAK, S.; ELBERS, A. R. W.; Seroprevalence and risk factors for the presence of ruminant Pestiviruses in the Dutch swine population. **Veterinary Microbiology**. v. 136, p. 240-245, 2009.

MENGELING, W. L.; GUTEKUNST, D. E.; FERNELIUS, A. L.; PIRTLE, E. C. Demonstration of an antigenic relationship between Hog Cholera and Bovine Viral Diarrhoea víruses by immunofluorescence. **Canadian Journal of Compared Medicine and Veterinary Science**. v. 27, n. 7, p. 162-164, 1963a.

MENGELING, W. L.; PIRTLE, E. C.; TORREY, J. P. Identification of Hog Cholera viral antigen by immunofluorescence. Application as a diagnostic and assay method. **Canadian Journal of Compared Medicine and Veterinary Science**. v. 27, p. 249-252, 1963b.

MEYERS, G.; THIEL, H.J. Molecular characterization of Pestiviruses. **Advanced Virus Research**. v. 47, p.53–118, 1996.

MOENNIG, V.; LIESS, B.; Ruminant Pestivirus infection in pig. **Rev. sci. tech. Off. int. Epiz - OIE**. v. 9, n.1, p. 151-161, 1990.

MOENNIG, V.; Pestiviruses: a review. **Veterinary Microbiology**. v.23, p.35-54, 1990.

NAGAI, M.; HAYASHI, M.; SUGITA, S.; SAKODA, Y.; MORI, M.; MURAKAMI, T.; OZAWA, T.; YAMADA, N.; AKASHI, H. Phylogenetic analysis of bovine viral diarrhea viruses using five different genetic regions. **Virus Research**, v.99, n. 2, p. 103-113, 2004.

NEILL, J. D., Molecular biology of bovine viral diarrhea virus. **Biologicals**. v. 41, p. 2-7, 2013.

OLIVEIRA, E.A.S. Caracterização antigênica de amostras de vírus da diarréia vírica bovina com anticorpos monoclonais. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre. 65p. 1996.

O'SULLIVAN, T.; FRIENDSHIP, R.; CARMAN, S.; PEARL, D. L.; McEWEN, B.; DEWEY, C.; Seroprevalence of bovine vira diarrhea virus neutralizing antibodies in finisher hogs in Ontario swine herds and targeted diagnostic testing of 2 suspect herds. **Canadian Veterinary Journal**. v. 52, p. 1342-1344, 2011.

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

Organização Internacional de Saúde Animal – OIE- **Terrestrial animal health code**. 2015. Visto em: <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/> Acesso em 04/06/2015.

Organização Internacional de Saúde Animal- OIE – **Terrestrial Animal Health Code**. Capt. 2.4.8, 2008, p. 698- 710.

PATON, D. J., DONE, S. H.; Congenital infection of pigs with ruminant-type Pestiviruses. **Journal of Compared Pathology**. v. 111, p. 151-163, 1994.

PATON, D. J., SIMPSON, V., DONE, S. H.; Infection of pigs and cattle with Bovine Viral Diarrhoea Virus on a farm in England. **Veterinary Record**. v. 131, p. 185-188, 1992.

PEDRERA, M.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; MOLINA, V.; RISALDE, M. A.; RODRIGUEZ-SANCHEZ, B.; SANCHEZ-CORDON, P. J. Quantification and

determination of spread mechanisms of bovine viral diarrhoea virus in blood and tissues from colostrum deprived calves during an experimental acute infection induced by a non-cytopathic genotype 1 strain. **Transboundary and Emerging Diseases**. v. 59, p.377-384, 2011.

PETERHANS, E.; JUNGI, T. W.; SCHWEIZER, M. BVD and innate immunity. **Biologicals**. v. 13, p.107-111, 2003.

QUINCOZES, C. G., FISCHER, G., HÜBNER, S. O., VARGAS, G. D., VIDOR, T., BROD, C., S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina Ciências Agrárias**. v. 28, n. 2, p. 269-276, 2007.

RIDPATH, J. F. Bovine Viral Diarrhea Virus: global status. **Veterinary Clinics and Food Animal Practice**. v. 26., p.105-121, 2010.

RIDPATH, J. F. Immunology of BVDV vaccines. **Biologicals**. v.41, p. 14-19, 2013.

RIDPATH, J. F.; BOLIN, S. R.; DUBOVI, E. J. Segregation of Bovine Viral Diarrhea Virus into genotypes. **Virology**. v. 205, p. 66-74, 1994.

RIDPATH, J. F.; NEILL, J. D.; FREY, M.; LANDGRAF, J. G. Phylogenetic, antigenic and clinical characterization of type 2 BVDV from North America. **Veterinary Microbiology**. v. 77, p. 145-155, 2000.

SAMARA, S. I.; DIAS, F. C.; MOREIRA, S. P. G.; Ocorrência da diarreia viral bovina nas regiões sul do Estado de Minas Gerais e nordeste do Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 41, p. 396-403, 2004.

SANDVIK, T. Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes. **Preventive Veterinary Medicine**. v.72, p. 3-16, 2005.

SCHIRRMIEIER, H.; STREBELOW, G.; DEPNER, K.; HOFFMAN, B.; BEER, M. Genetic and antigenic characterization of an atypical Pestivirus isolate, a putative member of a novel Pestivirus species. **Journal of General Virology**. v. 85, p. 3647-3652, 2004.

TAO, J.; LIAO, J.; WANG, Y.; ZHANG, X.; WANG, J.; ZHOU, G. Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) infection in pigs. **Veterinary Microbiology**. 2013.

TERPSTRA, C., WENSVOORT, G. Natural infections of pigs with bovine viral diarrhoea virus associated with signs resembling swine fever. **Research in Veterinary Science**. v.45, p. 137-142. 1988.

VAN RIJN, P. A. A common neutralizing epitope on envelope glycoprotein E2 of different Pestiviruses: Implications for improvement of vaccines and diagnostics for classical swine fever (CSF)? **Veterinary Microbiology**. v.125. n. 1-2. p.150-156. 2007.

VANNIER, P., ALBINA, E. Bovine viral diarrhea and border disease. In: STRAW, B.d E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J.; **Diseases of Swine**, 8ª edição, Editora Blackwell Science, Ames, 1999.

VILCEK, S.; HERRING, A. J.; NETTLETON, P. F.; LOWINGS, J. P.; PATON, D. J.; Pestiviruses isolated from pigs, cattle, and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. **Archives of Virology**, v.136, p. 309-323. 1994.

VILCEK, S. Identification of Pestiviruses contaminating cell lines and fetal calf sera. **Acta Virological**. n. 45. p. 81-86. 2001.

WEILAND, E.; AHL, R.; STARK, R.; WEILAND, F.; THIEL, H. J. A second envelope glycoprotein mediates neutralization of a pestivirus, hog cholera virus. **Journal of Virology**, v. 66, n. 6, p. 3677-3682, 1992.

WENSVOORT, G.; TERPSTRA, C.; KLUIJVER, E. P.; KRAGTEN, C.; WARNAAR, J. C. Antigenic differentiation of Pestivirus strain with monoclonal antibodies against hog cholera vírus. **Veterinary Microbiology**. v. 21. p. 9-20. 1989.

WIERINGA-JELSMA, T.; QUAK, S.; LOEFFEN W. L. A. Limited BVDV transmission and full protection against CSFV transmission in pigs experimentally infected with BVDV type 1b, **Veterinary Microbiology**, v. 118, p. 26-36, 2006.

CAPÍTULO II - Epidemiologia e prevalência de infecções pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em suínos de criações não tecnificadas na região nordeste do Estado de São Paulo.

1. Introdução

O gênero *Pestivirus* da família *Flaviviridae*, é composto por patógenos virais de grande importância econômica para a produção animal no mundo inteiro (Flores et al., 1996), são considerados de maior importância o vírus da Peste Suína Clássica (CSFV), o vírus da Border Disease (BDV) e o vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) (Vilcek et al., 1994). Os integrantes desse gênero foram nomeados de acordo com a espécie que preferencialmente infectam (Asfor et al., 2014), apesar de relatos de infecções cruzadas serem comuns (Liess e Moennig, 1990).

Similaridade genômica, alta homologia e reação cruzada sorológica na presença de anticorpos monoclonais indicam a existência de grande semelhança entre os *Pestivirus* (Van Rijn, 2007) e levam a crer em uma origem comum para todas as espécies desse gênero (Liess e Moennig, 1990). A diversificação genética dos integrantes do gênero *Pestivirus* é resultante de mutações derivadas de erros na replicação e da recombinação com material genético de outros vírus (Nagai et al., 2008).

A glicoproteína E2 do envelope dos *Pestivirus* é responsável pela interação do vírion com os receptores da célula hospedeira, sendo o principal antígeno indutor da produção de anticorpos em uma infecção (Asfor et al., 2014). Jelsma et al. (2013) mostram que os domínios B/C da glicoproteína E2 do CSFV são análogos à porção N-terminal do domínio A da E2 do BVDV, enquanto a porção molecular Z2 deste último é semelhante a parte do domínio D/A do CSFV, logo, apesar de serem espécies diferentes, a estrutura antigênica desses agentes é semelhante. Em estudo realizado *in vivo*, suínos infectados pelo BVDV apresentaram imunidade protetora suficiente para impedir a infecção pelo CSFV nestes animais (Wieringa-Jelsma et al., 2006).

Há na literatura relato de variações antigênicas dentro das espécies desse gênero (Becher et al., 2003). Para o BVDV, análises filogenéticas apontam a existência de dois genótipos (BVDV-1 e BVDV-2), com diferenças na patogenia e

antigenicidade (Ridpath et al., 1994). Um novo genótipo do BVDV, isolado primeiramente no Brasil, já foi relatado no mundo inteiro, sendo nomeado de Hobi-like (Bauermann et al., 2013) e não oficialmente de BVDV-3.

A reação cruzada na sorologia também ocorre dentro dos genótipos, pois animais imunizados com vacina utilizando BVDV-1 apresentaram anticorpos reagentes ao BVDV-2 e o *Hobi-like* (Ridpath et al., 2010; Decaro et al., 2013). Entretanto, variações na estrutura antigênica dentro de um mesmo genótipo são relatadas, estirpes de BVDV-1 quando testados frente a um soro hiperimune de ovino, as taxas de similaridade antigênica variaram de 1,1 a 50 entre os subgenótipos do BVDV-1 (Alpay e Yesilbag, 2015).

Anticorpos anti-BVDV no soro de suínos levam a resultados falso-positivos em exames sorológicos para o diagnóstico de PSC dificultando programas de erradicação ou levantamentos epidemiológicos (Loeffen et al., 2009; Tao et al., 2013). A ocorrência desses resultados cria a necessidade da realização de provas complementares para se confirmar o diagnóstico, implicando em uma demora maior na tomada de decisões frente ao possível foco, bem como aumenta os custos financeira inerentes aos programas de vigilância (De Smitt et al., 1999).

Como a principal medida frente a casos positivos de PSC é o abate dos animais implicando prejuízos ao produtor, um diagnóstico correto é de extrema importância nas atividades de controle e erradicação (Wensvoort et al., 1989).

No Brasil, a PSC é uma enfermidade passível da aplicação de medidas de defesa sanitária animal, e os animais infectados são obrigatoriamente sacrificados (Brasil, 1934). O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) considera como área livre da doença 14 estados brasileiros e o DF, abrangendo a maior parte do território nacional (Brasil, 2013). A última campanha de vacinação em massa de suínos no Estado de São Paulo foi em 1998 e desde então não foi identificado mais nenhum foco de PSC no estado não havendo mais vacinação nos rebanhos paulistas desde então (Bersano et al., 2005).

A virusneutralização (VN) é a prova de referência para diagnóstico da diarreia viral bovina (BVD) (OIE, 2015). A possibilidade do uso de soro de qualquer espécie animal na VN é de grande valia pois, como o BVDV infecta outras espécies, além da bovina, há a necessidade de utilizar um teste que possa ser realizado com diferentes

tipos de soro o que é possível na VN (Dubovi, 2013). Para realizar o diagnóstico o soro deve ser testado frente aos genótipos BVDV-1 e BVDV- 2, uma vez que baixos títulos de anticorpos para BVDV-2 podem não ser detectados na VN com o BVDV-1, e vice-versa (OIE, 2015).

Na Holanda, a prevalência de animais infectados foi de 0,42% nos suínos de terminação, 2,5% nas porcas em idade reprodutiva e 11% dos rebanhos (Loeffen et al., 2009). Países livres de PSC, a prevalência de suínos infectados por BVDV pode variar de 1,6% a 43,5% (Holm-Jensen, 1985). Já em estudo realizado com rebanho sentinela de suínos no estado de Ontario, Canadá, não foi identificado nenhum animal positivo para BVDV (O'Sullivan et al., 2011). Não foram encontrados dados de prevalência nem de ocorrência da infecção por BVDV em suínos no Brasil.

Estudos epidemiológicos colocam os bovinos como os principais hospedeiros do BVDV e a principal fonte de infecção para os suínos (Vannier e Albina, 1999; Ridpath, 2010). O contato direto com gado é considerado a principal via de transmissão do BVDV para suínos (Liess e Moennig, 1990; Vannier e Albina, 1999). Deng et al. (2012) afirmam que a prevalência de infecções pelo BVDV em rebanhos suínos está intimamente ligada com a prevalência da enfermidade em rebanhos bovinos.

Devido aos prejuízos causados pela infecção de suínos pelo BVDV juntamente com a falta de dados sobre a ocorrência e prevalência da enfermidade no Brasil e a importância das reações cruzadas entre o BVDV e o CSFV nos testes diagnósticos, este estudo teve como objetivo determinar a prevalência de anticorpos anti-BVDV e fatores de risco à infecção por BVDV-1 e BVDV-2 em criações de suínos, bem como identificar por geoprocessamento áreas de alto risco de ocorrência da enfermidade.

2. Materiais e métodos

2.1. Amostragem e coleta do material

Amostras de sangue de 360 suínos, provenientes de 56 rebanhos em propriedades diferentes, foram coletadas durante os anos de 2014 e 2015, em 11 municípios da região nordeste do Estado de São Paulo. A amostragem não foi

probabilística, sendo que a inclusão das propriedades no estudo ocorreu por adesão voluntária dos proprietários. O único critério para a participação no estudo foi a baixa tecnificação da criação.

Em rebanhos com até cinco animais eram coletadas amostras de todos animais, já em rebanhos maiores colhiam-se amostras de 10% dos animais, que nesse caso, eram selecionados de forma aleatória e abrangendo todas as idades presentes no rebanho. O sangue era coletado por punção na veia jugular e transportado resfriado dentro de caixas térmicas com gelo reciclável até o local de análise.

Para que a prevalência nas amostras fosse representativa da população foi estimado um tamanho de amostra de 346 animais usando a fórmula:

$$n = \frac{z^2 \cdot p \cdot q}{d^2}$$

(Thrusfield, 2010)

Em que: n = tamanho da amostra, Z = o desvio padrão normal, p = prevalência esperada da enfermidade, q = 1 – p; e d = erro máximo admitido. Foi considerada prevalência esperada da doença de 6%, com base no valor de 5,34% encontrado por Gatto (2015), e admitindo um erro máximo de 2,5%. O valor obtido (n) foi corrigido (nc) para o tamanho da população (N), por meio da fórmula abaixo:

$$nc = \frac{n \times N}{n + N}$$

(Thrusfield, 2010)

O valor da população suína considerado para o cálculo foi de 4100 animais (São Paulo, 2008). Foram coletadas aproximadamente 5% a mais de amostras caso fosse necessário o descarte devido à ocorrência de reação citotóxica do soro.

2.2. Fatores de risco

Para a análise de fator de risco foram utilizados dados epidemiológicos relativos aos 56 rebanhos amostrados, uma vez que as variáveis investigadas estavam relacionadas ao manejo do rebanho inteiro e não dos animais individualmente.

As informações epidemiológicas de cada rebanho eram obtidas através de entrevista com o proprietário no momento da coleta. O questionário abordava variáveis que poderiam estar envolvidas na ocorrência da infecção, como:

- A presença de ruminantes na propriedade ou nas proximidades
- A ocorrência de problemas reprodutivos em bovinos, caprinos, ovinos e suínos da propriedade ou em propriedades próximas
- O uso de soro de leite de ruminantes ou derivados na alimentação dos suínos
- Compra de bovinos, suínos, caprinos ou ovinos nos últimos 6 meses
- Uso de vacinas em suínos
- Vacinação dos bovinos para BVD
- O mesmo funcionário faz o trato dos ruminantes e dos suínos

As informações foram tabuladas para posterior análise estatística visando associação com ocorrência da infecção pelo BVDV em suínos.

2.3. Teste de virusneutralização

A detecção de anticorpos anti-BVDV no soro foi realizada utilizando-se a técnica de VN. A realização da técnica, bem como a interpretação dos resultados, foi feita de acordo com o *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (OIE, 2015), utilizando células da linhagem MDBK (*Madine Darby Bovine Kidney*). As amostras foram testadas, separadamente, frente a duas estirpes citopatogênicas: a Singer (BVDV-1) e a VS253 (BVDV-2), em uma concentração de 100 TCID₅₀ (“50% Tissue culture infective dose”). Cada soro foi testado em quatro repetições com diluições seriadas entre 1:10 e 1:5120. Foram consideradas positivas as amostras em que houve neutralização total das 100 TCID₅₀ em diluição maior que 1/10 e o títulos de anticorpos considerados foram a recíproca da maior diluição em que ocorreu

neutralização total da dose viral. O título final considerado era obtido pela média geométrica dos títulos observados nas quatro repetições de uma mesma amostra.

2.4. Análise por geoprocessamento

As coordenadas geográficas dos rebanhos foram aferidas por aparelho tipo GPS, modelo GPSMAP® 60Cx, marca Garmin no Sistema Geodésico Sul-Americano (SAD 69). A latitude e longitude eram anotadas, no formato hh°mm'ss.s" e convertidas quando necessário para o formato UTM. As coordenadas, de rebanhos com pelo menos um animal positivo, foram submetidas à análise pelo estimador de intensidade Kernel, utilizando o Software Terraview® versão 4.2.2. O estimador de Intensidade Kernel $\hat{\lambda}_\tau(s)$ é utilizado para efeitos de primeira ordem e é calculado pela fórmula:

$$\hat{\lambda}_\tau(s) = \sum_{h_i \leq \tau} \frac{3}{\pi\tau^2} \left(1 - \frac{h_i^2}{\tau^2}\right)^2$$

(Bailey e Gatrell, 1995)

Na qual s representa uma localização em uma região R e h_i representa cada distância entre uma localização s e as localizações vizinhas s_i . O conjunto de todos os pontos que contribuem no cálculo do estimador de Kernel é um círculo de raio τ com centro em s . Para se interpretar o mapa gerado, as informações relativas ao tamanho dos rebanhos (suínos e de outras espécies), das propriedades foram utilizadas para a análise de correspondência múltipla, método de análise estatística exploratória multivariada.

2.5. Análise dos dados

O intervalo de confiança (95%) foi calculado para os valores de prevalência obtidos, de acordo com a metodologia de Thrusfield (2010). Para o estudo da associação entre a presença de infeções e os possíveis fatores de risco a unidade considerada foi rebanho (56), sendo que foi considerado positivo os rebanhos onde havia pelo menos um animal infectado. Para se detectar associações significativas

entre as variáveis e a presença da infecção pelo BVDV utilizou-se o teste exato de Fisher a 95% de significância e foi feito o cálculo da razão das chances (OR) com o respectivo intervalo a 95% de confiança.

As variáveis contínuas: tamanho do rebanho bovino, tamanho do rebanho suíno total, quantidade de matrizes, quantidade de leitões total, quantidade de cachos, tamanho do rebanho caprino e tamanho do rebanho ovino das propriedades foram categorizadas em rebanho pequeno, rebanho médio e rebanho grande com base nas respectivas médias de cabeças por rebanho de cada espécie. Em seguida essas variáveis foram submetidas à análise de correspondência múltipla para se identificar associações ou similaridades entre as categorias analisadas, para tal foi utilizado o software Statistica® versão 7. As associações foram detectadas através da análise dos valores de resíduos obtidos.

4. Resultados e Discussão

3.1. Prevalência

Das 360 amostras de soro suínos, 17 (4,72%, IC 95%: 2,97%-7,43%) foram reagentes ao BVDV na VN, sendo sete (1,94%, IC95%: 0,95%-3,96%) reagentes ao BVDV-1 e 11 (3,06%, IC 95%: 1,71%-5,39%) reagentes ao BVDV-2. Em relação aos rebanhos 15 (26,79%, IC 95%: 15,19%-38,38%) apresentaram pelo menos um animal positivo a qualquer um dos genótipos. As frequências dos títulos obtidos na VN pelas amostras positivas são apresentadas na figura 1.

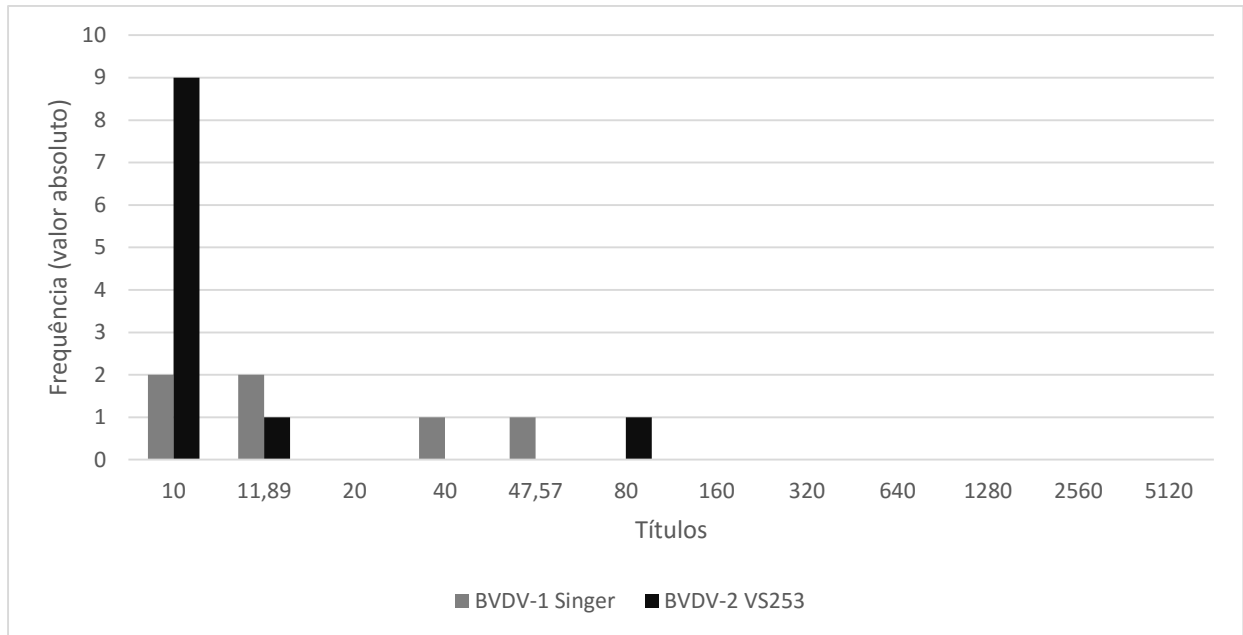


Figura 1. Histograma contendo a frequência, em valor absoluto, dos títulos apresentados pelas 17 amostras positivas na VN com BVDV-1 Singer e BVDV-2 VS253.

Uma amostra foi reativa frente a ambos genótipos, obtendo títulos de 640 frente ao BVDV-1 e 80 para o BVDV-2 devido a reação cruzada. Nesse sentido, a grande semelhança antigênica e genética entre os *Pestivirus* é reconhecida como a explicação para a reatividade sorológica cruzada, entre os membros desse gênero, relatada por diversos autores na literatura científica (Wensvoort et al., 1989; Van Rijn, 2007; Jelsma et al., 2013).

A prevalência encontrada neste estudo difere de Loeffen et al. (2009), que em pesquisa realizada na Holanda encontrou prevalência de 2,5% para porcas e 0,42% para animais de terminação. Com relação a prevalência por rebanhos, 11% das propriedades apresentaram positividade nas porcas contra 3,2% que apresentaram positividade nos leitões de terminação.

A Holanda possui desde 1997 programa de controle oficial de BVD em rebanhos bovinos com base na certificação voluntária (Mars e Maanen, 2005). Após 15 anos do início, os níveis de prevalência da enfermidade eram de 13% em gado de leite e 21% em gado de corte (Duijn et al., 2013). A principal fonte de infecção de BVDV para suínos são os ruminantes (Vannier e Albina, 1999; Ridpath, 2010) por consequência, a prevalência em rebanhos bovinos está intimamente relacionada com

a presença de infecções e influencia na prevalência da enfermidade em suínos (Loeffen et al., 2009; O'Sullivan et al., 2011; Deng et al., 2012).

No Brasil, a prevalência de BVD em rebanhos bovinos na mesma região deste presente estudo, foi de 56,49% (Samara et al., 2004), o que pode ter acarretado nos maiores valores de prevalência da enfermidade em suínos da região quando comparados com os encontrados por Loeffen et al. (2009) na Holanda, onde a prevalência da doença em bovinos é menor.

Pesquisa realizada no Canadá, não identificou nenhum suíno positivo para BVDV apesar da enfermidade ocorrer normalmente em rebanhos bovinos (Taylor et al., 1995; OIE, 2015), pois a região de coleta das amostras apresenta fazendas de criação animal especializada com ampla adoção de procedimentos de biossegurança, indicando que a ocorrência de infecções pelo BVDV em suínos pode estar diretamente relacionada a ausência dessas práticas (O'Sullivan et al., 2011).

Todas as propriedades visitadas no presente estudo possuíam baixo nível de tecnificação, produção pouco especializada e ausência de práticas de biossegurança. Em muitas delas era possível observar criação conjunta de suínos com bovinos, prática de manejo considerada predisponente para a ocorrência de infecções pelo BVDV em suínos (Vannier e Albina, 1999; Liess e Moennig, 1990) podendo explicar os maiores valores de prevalência encontrados por este estudo.

A maior prevalência de anticorpos anti-BVDV-2 nos suínos, pode estar relacionada com a prevalência dos genótipos nos rebanhos bovinos. Apesar de o BVDV-1 já ter sido isolado com maior frequência, indicando ser mais prevalente no rebanho bovino brasileiro (Flores et al., 2000; Flores et al., 2005), estudo realizado no Estado do Rio Grande do Sul (RS) apresenta prevalência ligeiramente maior para o BVDV-2 (13,2%) do que para o BVDV-1 (10%) (Flores et al., 2000), demonstrando essa tendência pode se inverter em algumas regiões.

Sendo assim na região abordada por este estudo é possível que a prevalência de infecções pelo BVDV-2 seja maior, refletindo em um maior valor de prevalência de anticorpos anti-BVDV-2 (3,06%) encontrado nos suínos deste estudo, uma vez que estes últimos infectam principalmente pelo contato com o gado infectado (Liess e Moennig, 1990; Vannier e Albina, 1999; Ridpath, 2010).

A presença de anticorpos anti-BVDV no soro de suínos pode levar a resultados falso positivos em exames sorológicos para o diagnóstico de PSC, o que em termos práticos causa problemas em programas de erradicação de PSC ou mesmo em levantamentos epidemiológicos dessa enfermidade (De Smitt et al., 1999; Loeffen et al., 2009; Tao et al., 2013).

3.2. Análise de Fator de Risco

Não houve associação significativa de nenhuma das variáveis investigadas com a presença da infecção pelo BVDV. Este resultado é atribuído a diversos fatores. Primeiramente por este estudo utilizar como critério de pré-seleção propriedades com baixo nível de tecnificação, muitas delas apresentavam características semelhantes, que juntamente com uma prevalência baixa da enfermidade podem ter impedido a associação de fatores de risco. Os resultados são apresentados na tabela 1.

Ainda, o número de rebanhos amostrados (56) juntamente com a baixa prevalência da enfermidade (4,72%) pode também ter dificultado a análise. Uma amostra maior de rebanhos seria necessária na busca pela associação de fatores de risco a ocorrência de infecções pelo BVDV.

Outra possibilidade que sempre é necessário considerar é que nenhuma das variáveis investigadas esteja predispondo os animais expostos à infecção. Porém, estudo semelhante chegou a resultados mais conclusivos apontando alguns fatores de risco como a presença de rebanhos bovinos e de pequenos ruminantes a um raio de 3 km do rebanho suíno (Loeffen et al., 2009).

A variável “uso de soro de leite na alimentação dos animais” apresentou baixo valor p (0,1334). Apesar de não ser possível afirmar que há associação significativa entre esta prática de manejo e a presença de infecção nos suínos, pode ser que exista uma propensão desta variável se confirmar como um fator de risco.

O fornecimento do soro de leite de bovinos para suínos como é comumente apontado como um dos principais meios de transmissão do BVDV entre as espécies (Stewart et al., 1971; Terpstra e Wensvoort, 1988), uma vez que há a eliminação de alta quantidade de partículas virais no leite de bovinos infectados a ponto de a detecção de antígenos virais em amostras de leite ser amplamente utilizada para

diagnóstico da enfermidade em ruminantes, por programas de controle da enfermidade em outros países (Lindberg, 2003; Mars e Maanen, 2005; Fulton, 2013).

Tabela 1. Análise univariada dos fatores de risco para a ocorrência de infecção pelo BVDV e respectivos valores apresentados da razão das chances (OR) a 95% de confiança e p obtido pelo Teste Exato de Fisher bicaudal ($p < 0,05$).

Variáveis investigadas	Rebanhos expostos à variável (%)	Rebanhos expostos à variável e com casos positivos	OR (IC 95%)	Valor de P (Fisher bicaudal)
Presença ruminantes na propriedade	44 (78,57%)	12	1,125 (0,26-4,87)	1,00
Criação de bovinos leiteiros	23 (41,07%)	5	0,64 (0,19-2,20)	0,5510
Compra bovinos nos últimos 6 meses	13 (23,21%)	3	0,775 (0,18-3,31)	1,00
Compra caprinos e ovinos nos últimos 6 meses	5 (8,93%)	1	0,66 (0,07-6,43)	1,00
Compra suínos nos últimos 6 meses	22 (39,29%)	6	1,04 (0,31-3,49)	1,00
Presença de ruminantes de bovinos em propriedades vizinhas	47 (83,93%)	14	3,39 (0,39-29,75)	0,4184
Presença de caprinos ou/e ovinos em propriedades vizinhas	29 (51,79%)	7	0,76 (0,23-2,47)	0,7655
Ocorrência de problemas reprodutivos em suínos	15 (26,78%)	2	0,33 (0,07 - 1,69)	0,3064
Ocorrência de problemas reprodutivos em ruminantes	8 (14,28%)	1	0,35 (0,04-3,09)	0,4276
Ocorrência de problemas reprodutivos em animais de propriedades vizinhas	4 (7,14%)	1	0,90 (0,09-9,44)	1,00
Uso de soro de leite na ração	27 (48,21%)	10	2,82 (0,82-9,76)	0,1334
Mesmo funcionário tratando ruminantes e suínos	44 (78,57%)	13	2,10 (0,40-10,92)	0,4809
Aplicação de vacina para BVD nos bovinos	5 (8,93%)	0	0,00	0,3093
Aplicação de vacina em suínos	6 (10,71%)	0	0,00	0,1769

3.3. Análise pelo geoprocessamento (estimador de intensidade de Kernel)

Por meio da avaliação visual do mapa gerado pelo estimador de intensidade de Kernel (figura 2), nota-se a existência de três regiões com risco diferenciado de ocorrência da infecção pelo BVDV em suínos.

Área 1 – Na parte superior direita do mapa contendo parte dos municípios de Taiúva, Taiacu, Jaboticabal, Monte Alto e Taquaritinga.

Área 2 - Parte inferior direita abrangendo os municípios de Motuca, Guariba e Pradópolis.

Área 3 – Parte inferior esquerda com os municípios de Ibitinga, Borborema e Itápolis.

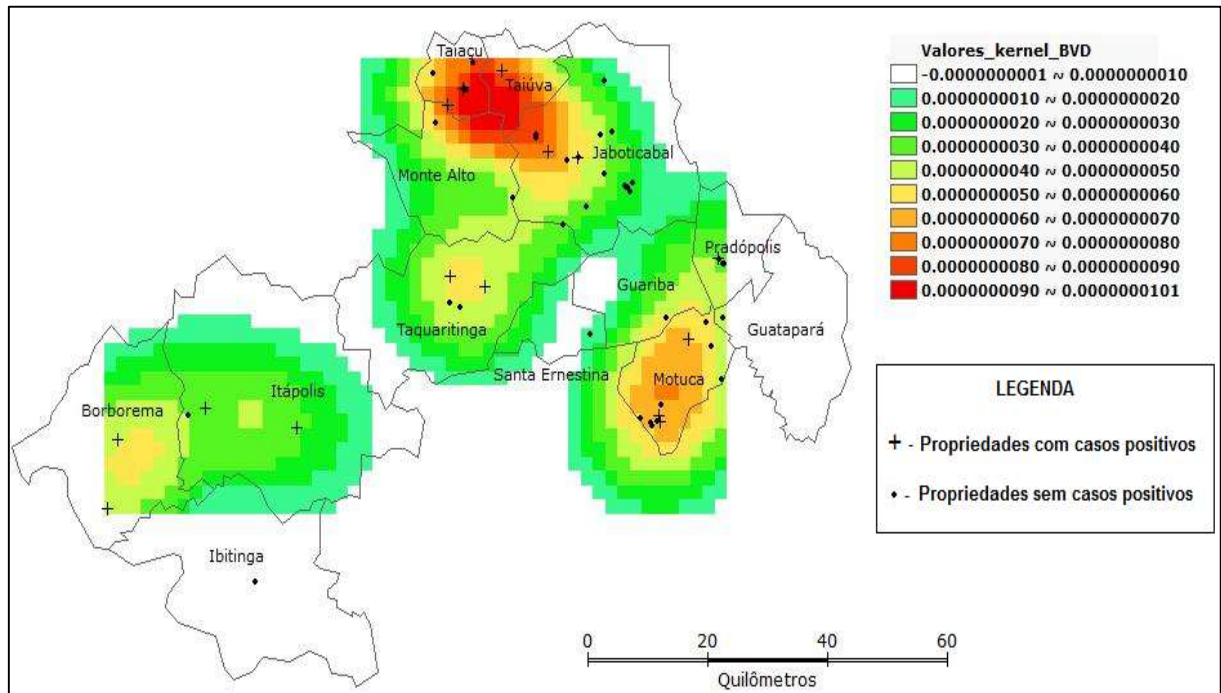


Figura 2. Mapa dos municípios com todas propriedades amostradas apresentando a distribuição de casos positivos feita pelo estimador de intensidade de Kernel.

A análise de correspondência múltipla apresentou valor do qui-quadrado geral do teste de 1463,57 ($p < 0,0001$) indicando a existência de associações entre as categorias analisadas. Pela análise dos resíduos obtidos para cada associação entre variáveis, foram identificadas associações fortes ($p < 0,05$) entre a ocorrência de infecção pelo BVDV-2 em suínos e a presença de rebanhos bovinos grandes (com mais de 16 cabeças) na propriedade (valor do resíduo: 2,00), associação moderada ($p < 0,15$) entre a ocorrência de infecções pelo BVDV-1 e a presença de rebanho de leitões medianos (de 21 a 40 cabeças; valor do resíduo: 1,86310) e associação forte ($p < 0,05$) entre rebanhos com quantidade mediana de leitões e rebanho suíno total mediano (de 26 a 50 cabeças; valor de resíduo = 3,78037).

Como os rebanhos com quantidade mediana de leitões apresentaram associação moderada ($p < 0,15$) com a ocorrência da infecção pelo BVDV-1, pode-se

sugerir que rebanhos suínos totais medianos também influenciem na ocorrência deste tipo de infecção.

Mapas de distribuição das propriedades que possuíam quantidade mediana de leitões (Figura 3), rebanhos bovinos grandes e rebanhos com total de suínos mediano foram gerados e analisados pelo estimador de intensidade de Kernel.

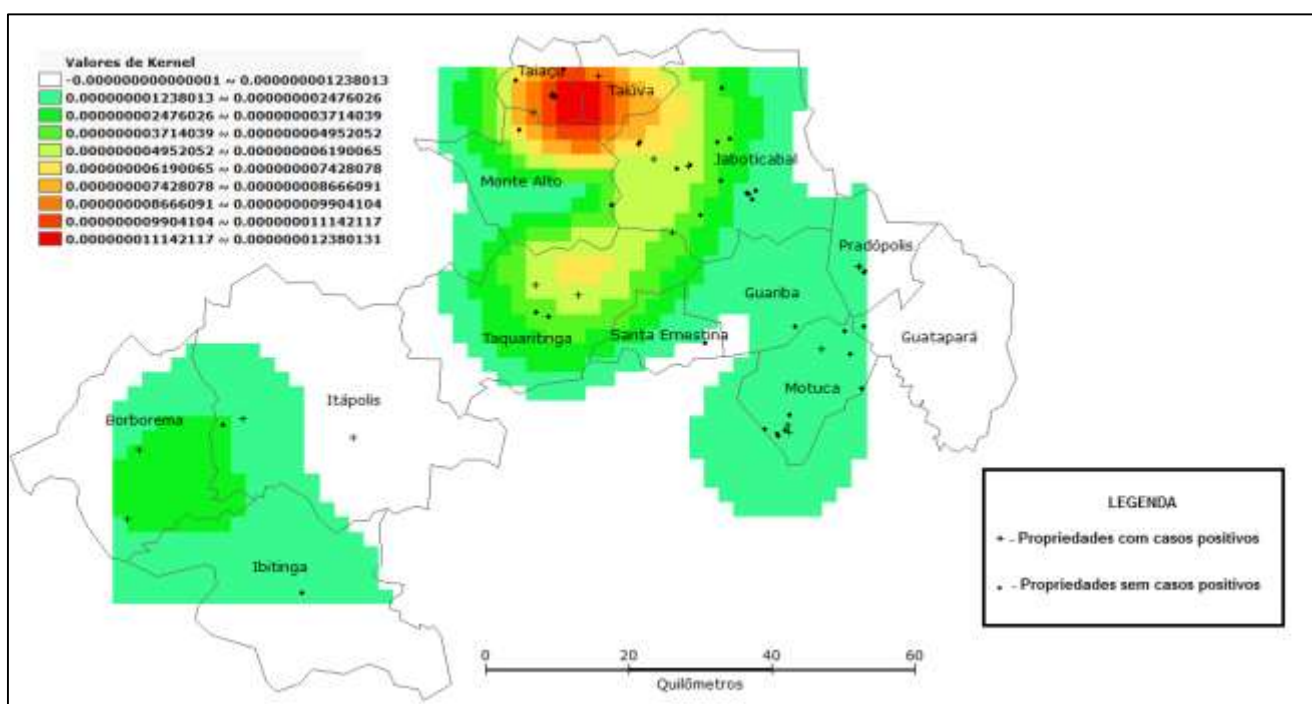


Figura 3. Mapa da região amostrada do estado de São Paulo no ano de 2015, apresentando a distribuição dos rebanhos de leitões de 21 a 40 cabeças, gerado a partir do estimador de intensidade de Kernel.

Por comparação visual notou-se coincidência entre as áreas de alta frequência de rebanhos bovinos grandes e as áreas 1 e 3 de alto risco de ocorrência da enfermidade da figura 2, bem como semelhança entre área de alta frequência de rebanhos de leitões medianos (Figura 3) e de rebanhos suíno total mediano com a área 1 de alto risco de ocorrência de infecções pelo BVDV nos suínos.

Bovinos são apontados como os principais hospedeiros do BVDV (Vannier e Albina, 1999; Ridpath, 2010; Tao et al., 2013) e a principal fonte de infecção para os suínos, sendo o contato entre estes animais o meio de transmissão mais comum da enfermidade (Terpstra e Wensvoort, 1988; Liess e Moennig, 1990; Vannier e Albina, 1999; Wieringa-Jelsma et al., 2006), ainda a região estudada apresenta alta prevalência de BVD nos rebanhos bovinos (Samara et al., 2004; Dias et al., 2011),

fator determinante da prevalência de infecções por BVDV em suínos (Deng et al., 2012).

A alta frequência dos rebanhos bovinos grandes (com mais de 16 cabeças) podem estar influenciando o risco de ocorrência de infecção pelo BVDV em suínos nas áreas 1 e 3 da figura 1. Já o rebanho de leitões mediano e o rebanho suíno total mediano também estão envolvidos pois garantem a presença do suíno em densidade grande o suficiente para que haja contato com bovinos e outros ruminantes infectados, já que rebanho grandes geralmente estão em propriedades que adotam práticas de manejo com mais biossegurança evitando o contato e a ocorrência de infecções pelo BVDV nesses rebanhos.

A área 2 (figura 2) é apontada como área de risco moderado de ocorrência de infecções pelo BVDV em suínos. Esta área é caracterizada pela presença de propriedades pequenas, próximas fisicamente uma das outras existindo pouca ou nenhuma separação física entre elas.

Nesse contexto, a transmissão do BVDV para os suínos pode ter sido influenciada pela proximidade física com rebanhos bovinos infectados. A transmissão do BVDV pelo ar, apesar de ser improvável, já foi relatada entre animais mantidos fisicamente próximos, principalmente na presença de bezerros persistentemente infectados (PI) pelo BVDV (Lindberg e Alenius, 1999; Niskanen e Lindberg, 2003). Sendo assim, a ocorrência da enfermidade nessa região pode estar relacionada a proximidade física entre os suínos e os rebanhos bovinos com animais PI.

5. Conclusões

Anticorpos anti-BVDV foram detectados em rebanhos de suínos de criações não tecnificadas, a presença de infecções nesses animais está relacionada com a alta prevalência de BVD nos rebanhos bovinos da região e poderia dificultar o diagnóstico e levantamentos sorológicos em programas de erradicação de PSC.

Não foi possível associar nenhum fator e risco a ocorrência de infecções pelo BVDV em suínos devido ao número de rebanhos amostrados, a baixa prevalência de infecções e a semelhança entre as propriedades incluídas no estudo.

As áreas apontadas como de alto risco de ocorrência da enfermidade estão relacionadas a presença de rebanhos suíno medianos e rebanhos bovinos, destacando os bovinos como principal fonte de infecção do BVDV para suínos e a influência do tamanho do rebanho suíno na epidemiologia dessa enfermidade.

5. Referências

- Alpay, G., Yesilbag, K., 2015. Serological relationships among subgroups in Bovine Viral Diarrhoea Virus genotype 1 (BVDV-1). *Vet Microbiol.* 175 (1), 1-6.
- Asfor, A. S., Wakeley, P. R., Drew, T. W.; Paton, D. J., 2014. Recombinant Pestivirus E2 glycoproteins prevent viral attachment to permissive and non-permissive cells with different efficiency. *Virus Res.* 189, 147-157.
- Bailey, T. E. A., Gatrell, A. C., 1995. *Interactive Spatial Data Analysis.* Essex, Inglaterra. Longman Scientific and Technical, 413 p.
- Bauermann, F. V., Ridpath, J. F., Weinblen, R., Flores, E. F., 2003. Hobi-like víruses: and emerging group of Pestiviruses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 25 (1), 6- 15.
- Becher, P., Ramirez, R. A., Orlich, M.; Rosales, S. C., König, M., Schweizer, M., Stalder, H., Schirrmeyer, H., Thiel, H. J., 2003. Genetic and antigenic characterization of novel Pestivirus genotypes: implications for classification. *Virology.* 311, 96-104.
- Bersano, J. G., Villalobos, E. M. C., Ogata, R. A., Kyota, S., Bilynskyj, M. C. V., Portugal, M. A. C., 2005. A erradicação da Peste Suína Clássica no Estado de São Paulo: contribuição de duas décadas de pesquisa no Instituto Biológico. *Arq Inst Biol.* 67 (1), 31-37.
- Brasil, 1934. Gabinete do presidente, Decreto nº 24.548 de 3 de julho de 1934. Aprova o regulamento do serviço de defesa sanitária animal, *Diário Oficial da União*, Rio de Janeiro, 14/07/1934.
- Brasil, 2013. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento; Gabinete do Ministro, Instrução Normativa nº 52 de 11 de outubro de 2013. *Diário Oficial da União*, Brasília, 14/10/2013.
- Decaro, N., Marl, V., Sciarretta, R., Lucente, M. S., Camero, M., Losurdo, M.; Larroca, V., Colao, V., Cavaliere, N., Lovero, A., Lorusso, E., Buonavoglia, C., 2013. Comparison of cross-antibody response induced in sheep by inactivated bovine viral diarrhoea virus 1 and Hobi-like *Pestivirus*. *Res. Vet. Sci.* 94, 806- 808.
- De Smit, A. J., Eblé, P. L., Kluijver, E. P., Bloemraad, M., Bouma, A., 1999. Laboratory decision making during the classical swine fever epidemic of 1997-1998 in the Netherlands. *Prev Vet Med.* 42, 185-199.
- Deng, Y., Sun, C. Q., Cao, S. J., Lin, T., Yuan, S. S., Zhang, H. B., Zhai, S. L., Huang, L., Shan, T. L., Zheng, H., Wen, X. T., Tong, G. Z., 2012. High prevalence of bovine viral diarrhoea virus 1 in chinese swine herds. *Vet Microbiol.* 159, 490-493.
- Dias, F. C., Alexandrino, B., Medeiros, A. S. R., Dias, E. C., Buzinaro, M. G., Samara, S. I., 2011. Occurrence of neutralizing antibodies against BVDV-1 and BVDV-2 in cattle herds from Minas Gerais and São Paulo states, Brazil. *Ars Vet.* 27 (8), 161-167.

- Dubovi, E. J., 2013. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. *Biologicals*. 41, 8-13.
- Duijn, L. V., Mars, J., Santman, I., Franken, P., 2013. 15 years of BVDV control in the Netherlands. Disponível em: <http://bvd-day2013.eu/wp-content/uploads/2013/09/8-En-VanDuijn-BVDDayNantes2013translation.pdf>. Acesso em: 22/06/2015.
- Flores, E. F., Kreutz, L. C., Donis, R. O., 1996. Swine and ruminant Pestiviruses require the same cellular factor to enter bovine cells. *J. Gen. Virol.* 77, 1295-1303.
- Flores, E. F., Weiblen, R., Gil, L. H. V. G., Tobias, F. L., Lima, M., Garcez, D. C.; Botton, S. A., 2000. 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 e Zoot.* 52 (1).
- Flores, E. F., Weiblen, R., Vogel, F. S. F., Roehle, P. M., Alfieri, A. A., Pituco, E. M., 2005. Infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) no Brasil – histórico, situação atual e perspectivas. *Pesq Vet Bras.* 25, 125-134.
- Fulton, R. W., 2013. Host response to bovine viral diarrhoea virus and interactions with infectious agents in the feedlot and breeding herd. *Biologicals*. 41, 31-38.
- Gatto, I. R. H., 2015. Prevalência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina em suínos. 76 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.
- Holm-Jensen, M., 1985. Screening for neutralizing antibodies against Hog cholera virus and/or bovine viral diarrhoea virus in Danish pigs. *Acta Vet Scand.* 22, 72-80.
- Jelsma, H., Loeffen, W. L. A., Van Beuningen, A., Van Rijn, P. A., 2013. Preliminary mapping of non-conserved epitopes on envelope glycoprotein E2 of Bovine Viral Diarrhoea virus types 1 and 2. *Vet. Microbiol.* 166, p. 195-199.
- Lindberg, A. L. E., Alenius, S., 1999. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet Microbiol.* 64, 197-222.
- Lindberg, A. L. E., 2003. Bovine Viral Diarrhoea Virus infections and its control. A review. *Vet Quat.* 25, 1-16.
- Liess, B., Moennig, V., 1990. Ruminant Pestivirus infection in pig. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz - OIE.* 9 (1), 151-161.
- Loeffen, W. L. A., Van Beuningen, A., Quak, S., Elbers, A. R. W., 2009. Seroprevalence and risk factors for the presence of ruminant Pestiviruses in the Dutch swine population. *Vet. Microbiol.* 136, 240-245.
- Mars, M. H., Maanen, C. V., 2005. Diagnostic assays applied in BVDV control in The Netherlands. *Prev Vet Med.* 72, 43-48.

- Martin, S. W., Shoukri, M., Thornburn, M. A., 1992. Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. *Prev Vet Med.* 14, 33-43.
- Nagai, M., Hayashi, M. Itou, M., Fukutomi, T., Kashi, H., Kida, H., Sakoda, Y., 2008. Identification of new genetic subtypes of bovine viral diarrhoea virus genotype 1 isolated in Japan. *Virus Genes.* 36, 135-139.
- Niskanen, R., Linberg, A., 2003. Transmission of Bovine Viral Diarrhoea Virus by Vet J. 165, 125-130.
- Noordhuizen, J. P. T. M., Frankena, K., Van der Hoof, C. M., Graat, E., 1997. Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology. Wageningen Pers Publ, Wageningen, The Netherlands, 50p.
- OIE - Organização Internacional de Saúde Animal, 2015. Bovine Viral Diarrhoea. In: Manual of Diagnostics Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 698- 710.
- O'Sullivan, T., Friendship, R., Carman, S., Pearl, D. L., McEwen, B., Dewey, C., 2011. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea virus neutralizing antibodies in finisher hogs in Ontario swine herds and targeted diagnostic testing of 2 suspect herds. *Can Vet Journal.* 52, 1342-1344.
- Ridpath, J. F., Bolin, S. R., Dubovi, E. J., 1994. Segregation of Bovine Viral Diarrhoea Virus into genotypes. *Virology.* 205, 66-74.
- Ridpath, J. F., 2010. Bovine Viral Diarrhoea Virus: global status. *Vet Clin Food Ani. Pract.* 26, 05-121.
- Samara, S. I., Dias, F. C., Moreira, S. P. G., 2004. 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.* 41, 396-403.
- São Paulo - Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 2008. Levantamento censitário das unidades de produção agropecuária do Estado de São Paulo. Coordenadoria Assistência Técnica Integral. Jaboticabal.
- Schroeder, S., Von Rosen, T., Blome, S., Loeffen, W., Haegeman, A., Koennen, F., Uttenthal, Å. 2012. Evaluation of Classical Swine Fever Virus antibodies assays with an emphasis on the differentiation of infected from vaccinated animals. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 31 (3), 997-1010.
- Stewart, W. C., Carbrey, E. A., Jenney, E. W., Brown, C. L., Kresse, J. I., 1971. Bovine viral diarrhoea infection in pigs. *J Amer Vet Med Associ,* 159 (11), 1556-1563.
- Tao, J., Liao, J., Wang, Y., Zhang, X., Wang, J., Zhou, G., 2013. Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) infection in pigs. *Vet Microbiol.* 165 (3-4), 185-189.

- Taylor, L. F.; Van Donkersgoed, J.; Dubovi, E. J.; Harland, R. J.; Van Der Hurk, J. D.; Ribble, C. S.; Janzen, E. D. 1995. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus infection in a population of feedlot calves in western Canadá. *Can J Vet Res.* 59 (2) 87-93.
- Terpstra, C., Wensvoort, G., 1988. Natural infections of pigs with bovine viral diarrhoea virus associated with signs resembling swine fever. *Res Vet Sci*, 45, 137-142.
- Thrusfield, M. V., 2010. *Epidemiologia veterinária*. 3. ed. São Paulo: Roca, 556 p.
- Vannier, P., Albina, E., 1999. Bovine viral diarrhoea and border disease. In: Straw, B. D. E., D'Allaire, S., Mengeling, W. L., Taylor, D. J., *Diseases of Swine*, 8ª edição, Ed. Blackwell Science, Ames, 1999.
- Van Rijn, P. A., 2007. A common neutralizing epitope on envelope glycoprotein E2 of different Pestiviruses: Implications for improvement of vaccines and diagnostics for classical swine fever (CSF). *Vet. Microbiol.* 125 (1-2), 150-156.
- Vilcek, S., Herring, A. J., Nettleton, P. F., Lowings, J. P., Paton, D. J., 1994. Pestiviruses isolated from pigs, cattle, and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Arch. Virol.* 136, 309-323.
- Wensvoort, G., Terpstra, C., Kluijver, E. P., Kragten, C., Warnaar, J. C., 1989. Antigenic differentiation of *Pestivirus* strain with monoclonal antibodies against hog cholera virus. *Vet Microbiol.* 21, 9-20.
- Wieringa-Jelsma, T., Quak, S., Loeffen W. L. A., 2006. Limited BVDV transmission and full protection against CSFV transmission in pigs experimentally infected with BVDV type 1b. *Vet. Microbiol.* 118, 26-36.

APÊNDICE A

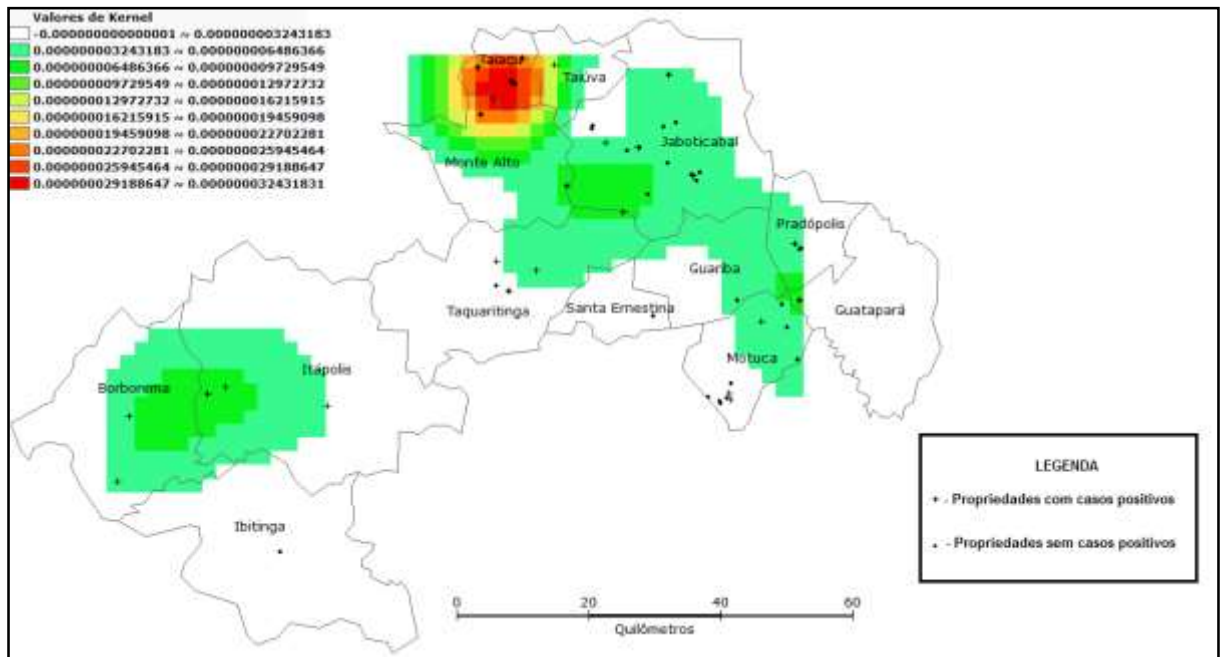


Figura 1A. Mapa da região amostrada apresentando a distribuição das propriedades com quantidade de bovinos considerada de mediana a alta (mais de 16 cabeças) gerado a partir do estimador de intensidade de Kernel.

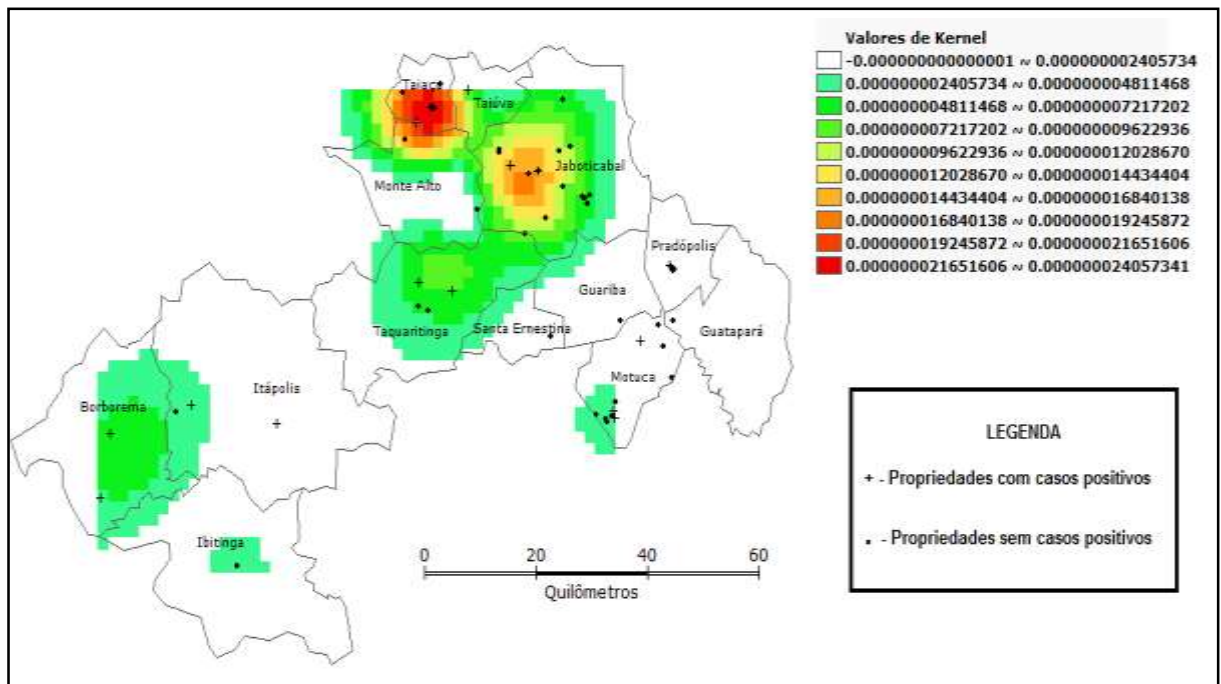


Figura 2A. Mapa da região amostrada apresentando a distribuição das propriedades com rebanho suíno total considerado de mediano (entre 25 e 50 cabeças) gerado a partir do estimador de intensidade de Kernel.

3.A. Questionário epidemiológico

1. INFORMAÇÕES DA PROPRIEDADE

Nome da propriedade:			Código da propriedade no estudo:														
Nome do proprietário:			Telefone(s) de contato (DDD + número)														
Endereço:			Município/UF														
1.8 Coordenadas geográficas			Altitude:		Data da colheita das amostras												
<table border="1"> <tr> <td>Grau</td> <td>Minuto</td> <td>Segundos</td> <td>Grau</td> <td>Minuto</td> <td>Segundos</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Latitude (S)</td> <td colspan="3">Longitude (W)</td> </tr> </table>			Grau	Minuto	Segundos	Grau	Minuto	Segundos	Latitude (S)			Longitude (W)					____ / ____ / ____
Grau	Minuto	Segundos	Grau	Minuto	Segundos												
Latitude (S)			Longitude (W)														

2. COMPOSIÇÃO DO REBANHO DE SUÍNOS

SUÍNOS:

Matrizes Cachaços Leitões maternidade Leitões cheche Leitões terminação Total:

3. INFORMAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS

Possui RUMINANTE (bovino, caprino ou ovino) na propriedade: () NÃO () SIM –

Discriminar a quantidade:

Bovinos Ovinos Caprinos

Questionamentos	NÃO	SIM
Possui criação de bovinos leiteiros?		
Fez aquisição de bovinos nos últimos 6 meses ?		
Fez aquisição de caprinos ou ovinos nos últimos 6 meses ?		
Fez aquisição de suínos nos últimos 6 meses ?		
Existem bovinos em propriedades vizinhas (até 3km de raio)?		
Existem caprinos e ovinos em propriedades vizinhas (até 3km de raio)?		
Ocorreram problemas reprodutivos nos suínos nos últimos 6 meses?		
Ocorreram problemas reprodutivos em bovinos, caprinos ou ovinos nos últimos 6 meses?		
Sabe se ocorreram problemas reprodutivos em suínos e/ou em bovinos, caprinos e ovinos nas propriedades vizinhas?		
Utiliza-se leite cru ou algum derivado de leite na alimentação dos suínos?		
A pessoa que trata dos suínos também faz o trato de outros animais (ruminantes)?		
Os bovinos são vacinados contra Diarreia Viral Bovina (BVD) ?		
Os suínos são vacinados ? Quais vacinas:		