

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 10/04/2020.

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

**EFEITO DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM O VÍRUS DA DIARREIA VIRAL  
BOVINA NA GESTAÇÃO E EM NEONATOS SUÍNOS**

**Daniele Araujo Pereira**  
**Médica Veterinária**

**2018**

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

**EFEITO DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM O VÍRUS DA DIARREIA VIRAL  
BOVINA NA GESTAÇÃO E EM NEONATOS SUÍNOS**

**Daniele Araujo Pereira**

**Orientador: Dr. Luís Guilherme de Oliveira**

**Tese apresentada à Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias –  
Unesp, Câmpus de Jaboticabal,  
como parte das exigências para a  
obtenção do título de Doutora em  
Medicina Veterinária (Clínica  
Médica Veterinária)**

**2018**

Pereira, Daniele Araujo  
M499a Efeito da infecção experimental com o vírus da diarreia viral  
bovina na gestação e em neonatos suínos/  
Daniele Araujo Pereira. -- Jaboticabal, 2017  
xvi, 47 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018  
Orientador: Luís Guilherme de Oliveira  
Banca examinadora: Edviges Maristela Pituco, Daniela Gomes da  
Silva, Hélio José Montassier, Hinig Isa Godoy Vicente  
Bibliografia

1. BVDV. 2. Soroconversão. 3. *Pestivirus*. I. Título. II.  
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.728.3:636.92

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

## Certificado de aprovação



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA TESE: EFEITO DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM O VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA NA GESTAÇÃO E EM NEONATOS SUÍNOS

**AUTORA: DANIELE ARAUJO PEREIRA**


**ORIENTADOR: LUIS GUILHERME DE OLIVEIRA**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA VETERINÁRIA, área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. LUIS GUILHERME DE OLIVEIRA  
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Pesquisadora Dra. EDVIGES MARISTELA PITUCO  
Instituto Biológico / Sao Paulo, SP

  
Pós-doutoranda DANIELA GOMES DA SILVA  
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Prof. Dr. HÉLIO JOSÉ MONTASSIER  
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Profa. Dra. HINGÜISA GODOY VICENTE  
Escritório de Defesa Agropecuária / Coordenadoria de Defesa Agropecuária / Jaboticabal

Jaboticabal, 10 de abril de 2018

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Daniele Araujo Pereira, nascida no dia 20 de Novembro de 1985 em Lucélia, São Paulo. Doutoranda pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Jaboticabal de 2014 até o presente. Mestre em Ciência Animal, pela Universidade Estadual de Londrina, Paraná em 2014, durante o mestrado recebeu bolsa Capes. Especialista em Gestão de Sistemas de Produção Animal, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Araçatuba. Formada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Norte do Paraná no ano de 2009. Durante o doutorado recebeu bolsa FAPESP (Processo: 2015/08531-0).

## **EPÍGRAFE**

**“Covarde seria se não enfrentasse meus medos”**

**Leandro Karnal**

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico ao meu pai, minha mãe e meu irmão que sempre apoiaram e confiaram no meu trabalho, e com certeza inspiram seus filhos.**



## AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus por todos os dias me dar forças para lutar pelos meus sonhos e seguir em frente, por me guiar e me permitir a realização profissional, pois pessoalmente sou muito feliz com tudo que tenho.

Quero agradecer meus pais: Maria do Carmo e Cido, meus lindos, que todos os dias quando acordam pensam em seus filhos e vivem para nós, nunca faltou amor e sempre sobrou carinho e incentivo, nosso porto seguro. Meu pai sempre pegando no pé, cuidando da nossa saúde e a mãe sempre disposta querendo ficar juntinha para fazermos tudo.

Quero agradecer meu irmão Rodrigo, meu escudo, meu amigo, que fala a mais pura verdade, na cara, através de metáforas. Ele mostra com os exemplos o que acha certo.

Agradecer o meu orientador Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira, grande incentivador da suinocultura, a oportunidade de fazer meu doutorado pela Unesp de Jaboticabal/SP, nunca conheci ninguém que entenda de suínos igual o senhor. Obrigada pela confiança quando aceitou me orientar, sempre me desafiou a pensar grande e confiar que meu trabalho daria certo. Junto com o doutorado tive a oportunidade de participar do Suinesp, do SIMPORK, do “Coffee and Paper” atividades que realmente acrescentaram muito conhecimento. Agradeço cada conselho e momentos de paciência.

Quero agradecer a Dra Denise, minha amiga que me apresentou a UNESP e Prof. Dr. Luís Guilherme, nos conhecemos em Londrina/PR, na Uel, e serei eternamente grata a ela. Não bastasse, ela também me apresentou duas pessoas que mudaram a minha vida, Dra Renata e Dra Glaucenyra, minhas amigas, essenciais para o meu crescimento pessoal, tive a alegria de poder dividir a “República do Piqui”.

Dra. Renata que me ensinou a ter paciência e ser luz no caminho das pessoas que encontramos, agradeço por cada dia ao seu lado, cada incentivo e parceria, convivemos e conhecemos pessoas muito especiais como Vandinha, Inácio, José, Patrice, pessoas maravilhosas, juntas tivemos muitas turmas. Foi inesquecível.

Dra Glaucenyra que amiga parceira, agradeço a oportunidade de morar com você e aprender que não há nada que possa nos impedir de correr atrás do que queremos, sempre liderou o “Lablepbru”, mas sempre humilde para recomeçar quando necessário, saudades demais de você.

Agradeço Gustavo Claudiano e Paulo Marcusso amigos que vieram da mesma casa “Bandeirantes /PR, grandes cientistas, amigos que me ajudaram muito na pesquisa.

Agradecer o carinho de amigos que fizeram meus dias alegres como a Raquel, o Thyago Lira e Luiz Cláudio Mancha.

Quero agradecer meus amigos diários os técnicos do laboratório: o Paulo César da Silva, Cláudia Aparecida da Silva Nogueira e Renata Lemos Nagib Jorge, pessoas predispostas e essenciais para o meu crescimento pessoal e profissional. Paulo “pigão” meu paizão, meu amigo, criamos uma amizade muito sincera, muito obrigada por tudo que fez por mim, cuidou, brincou, ajudou, ensinou, aprendi muito com você.

Agradeço à equipe do laboratório Imunovir; ali eu aprendi muito com o maior cientista que já conheci o Prof. Dr. Hélio José Montassier, conhecedor profundo da área da Imunologia e Virologia, e outras áreas como a Biologia Molecular; quero agradecer a oportunidade de poder trabalhar no seu laboratório. Ali também aprendi muito com suas orientadas Caren, Priscila e Taiane, minhas amigas.

Agradeço ao Bode, Nelson, Thyagão e Gaúcho, meus amigos do dia a dia.

Agradeço minha prima Vanessa que durante os quase quatro anos de doutorado sempre esteve por perto da minha família, foram muitas perdas no ano de 2017, e ela sempre esteve comigo quando precisei; obrigada linda.

Equipe do Laboratório de Pesquisa em Suínos, Igor, Henrique, Karla, Anne, Marina, Gabriel, Felipe, Maria Eugênia, Juliana e a Thaís. Sou muito feliz por ter conhecido cada um deles, aprendi muito com cada um, e pude dividir momentos que jamais serão esquecidos, com certeza essas pessoas terão um futuro brilhante.

Henrique, por quem tenho grande admiração e respeito como pessoa e profissional; obrigada por cada conselho e trabalho junto.

Agradeço à minha amiga Thaís Baraldi, você apareceu na hora certa, eu dividi outros amigos com a Thaís, se tornou uma amiga de confiança, quero levar sua amizade para a vida inteira.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcos Rogério André pelos direcionamentos e oportunidade de aprender com seus orientados Renan e Otávio, sempre dispostos a me atender quando precisei.

Leyde e Elka, minhas amigas de casa, foi bom demais morar com vocês, me sentia em casa junto com vocês, jamais esquecerei tudo que fizeram por mim.

Agradeço aos amigos da fazenda seu Zé e Sr. Wilson, pessoas simples, solícitas e amigas, obrigada por toda ajuda com os animais

Aos animais, às minhas porquinhas e os cachorros Otávio e WS2015 (Wesley), aprendi muito cuidando deles; foi emocionante, quantas noites sem dormir, quanto aprendizado.

Agradeço a equipe do Instituto Biológico de São Paulo, sempre disposta a nos ajudar, Dra Edviges Maristela Pituco e Dra. Líria Okuda.

Agradeço a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), tenho orgulho dessa fundação, todo respeito e reconhecimento pelo incentivo pela pesquisa no Brasil, e o feed back através dos relatórios; a bolsa (2015/08531-0), a reserva técnica e o auxílio que ajudaram a desenvolver o projeto.

Agradeço a empresa Thermo Fisher Scientific, pela rigorosidade com seus materiais de biologia molecular, e curso de PCR em tempo real fornecido para ajudar no projeto.

Quero agradecer a cada um de vocês que estiveram diretamente ou indiretamente envolvidos com o meu projeto de doutorado. Cada qual a sua maneira e dando o seu melhor para que esse trabalho obtivesse sucesso, de forma que ajude a esclarecer para a ciência a importância dos pestivírus na suinocultura, pois para o meu crescimento pessoal foi gratificante, essencial e satisfatório.

Aqui eu termino um ciclo, agradeço tudo que aconteceu no decorrer desses longos curtos quatro anos e agradeço a todos. Ficarão em minha memória as pessoas, e a saudade dos sorrisos e momentos compartilhados. Levo comigo cada um em meu coração, e espero ter deixado um pouco de mim em cada um. Fica a certeza que eu fui muito feliz aqui e com certeza levarei meu aprendizado para os meus futuros alunos.

## SUMÁRIO

	Página
Certificado de Comissão de Ética no Uso dos Animais.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xvi
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVO GERAL.....	2
2.1 Objetivos específicos.....	2
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3.1 Histórico e evolução dos <i>Pestivirus</i> .....	3
3.2 Etiologia.....	4
3.3 Epidemiologia.....	5
3.4 Análises clínicas.....	6
3.5 Patogenia do BVDV em bovinos e suínos.....	7
3.6 Imunidade cruzada e diagnósticos laboratoriais.....	9
3.7 Características do genoma do BVDV em suínos.....	10
3.8 prevenção e controle.....	11
4 REFERÊNCIAS.....	12
CAPÍTULO 2 – Inoculação experimental com o vírus da Diarreia Viral Bovina na gestação e em neonatos suínos.....	19
Resumo.....	19
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Material e Métodos.....	23
Delineamento experimental.....	23
Exame Físico e diagnóstico diferencial.....	24
Amostras.....	24
Preparo e administração do inóculo.....	25
Hemograma.....	25
Técnica de virusneutralização.....	26

Extração do RNA viral.....	26
Deteção do genoma BVDV-2 por RT-qPCR e perfil térmico.....	26
Elaboração da curva de calibração.....	27
Histopatologia.....	27
Análise estatística.....	27
Resultados.....	28
Avaliação física.....	28
Hemograma.....	28
Títulos de anticorpos virusneutralizantes.....	29
Geração de Curvas de Calibração na qRT-PCR e Quantificação do BVDV.....	30
Deteção do genoma do BVDV por RT-qPCR em porcas inoculadas experimentalmente e leitões.....	31
Histopatologia.....	32
Discussão.....	32
Conclusão.....	36
Abreviaturas.....	36
Conflitos de interesses.....	36
Contribuições dos autores.....	36
Aprovação do Comitê de Ética.....	37
Agradecimentos.....	37
Financiamentos.....	37
Detalhes dos autores.....	38
Referências.....	38
<b>CAPÍTULO 3 – Considerações finais.....</b>	<b>46</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>47</b>



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



## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 5925/15 do trabalho de pesquisa intitulado "Atuação da infecção do vírus da diarreia viral bovina na gestação e em neonatos suínos", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luis 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 01 de abril de 2015.

Jaboticabal, 01 de abril de 2015.

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

## EFEITO DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM O VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA NA GESTAÇÃO E NEONATOS SUÍNOS

**RESUMO** – O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) está geneticamente e antigenicamente relacionado com outros membros do gênero *Pestivirus*, como o vírus da peste suína clássica, e pode provocar problemas reprodutivos, contudo ainda faltam pesquisas para esclarecer a patogenicidade em diferentes períodos gestacionais de porcas e os efeitos nos neonatos. Para o estudo foram utilizadas 12 porcas divididas em grupos (G) que foram inoculadas experimentalmente com a estirpe BVDV-2 (VS-253) na dose  $10^{6,85}$  TCID<sub>50</sub> pela via oronasal, 30 dias antes da inseminação (G0;n=2) e durante a gestação, no primeiro (G1;n=2), no segundo (G2;n=3) e no terceiro terço (G3;n=3) da gestação e grupo controle (G4;n=2). Amostras de sangue e suabes nasais das porcas foram colhidas, a cada três dias a partir do dia da inoculação até o dia do parto, para o teste de virusneutralização, real time quantitativo PCR (qRT-PCR) e hemograma. No dia do parto, 40% dos neonatos foram eutanasiados para obtenção de amostras de tecidos na necropsia para histopatologia e qRT-PCR. As porcas soroconverteram entre doze e trinta e três dias após a inoculação e o vírus foi detectado no sangue entre três e doze dias, e no suabe nasal entre seis e vinte e quatro dias nas porcas do G0, G1, G2 e G3, após a inoculação, porém não foi possível a detecção de BVDV nos tecidos dos leitões e nenhuma alteração significativa encontrada através da histopatologia. A média e desvio padrão dos valores dos ciclos médios (Cq) das amostras de sangue (Cq =  $34,87 \pm 0,60$ ) e suabe nasal (Cq =  $34,61 \pm 0,87$ ) das porcas, corresponderam entre aproximadamente 107 a 490 TCID<sub>50</sub>/mL, obtendo uma carga viral baixa em suínos e a infecção transplacentária não foi possível.

**Palavras-chave:** BVDV, soroconversão, viremia, qRT-PCR, *Pestivirus*.

## EFFECT OF EXPERIMENTAL INFECTION WITH BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS IN GESTATION AND NEWBORN PIGLETS

**ABSTRACT-** BVDV belongs to the genus *Pestivirus*, and can cause reproductive problems, however, there is still a lack of research to clarify the pathogenicity in different gestational periods of gilts and the effects in the neonates. For the study, 12 gilts divided into groups (G) were experimentally inoculated with the strain BVDV-2 (VS-253) at the dose  $10^{6.85}$ TCID<sub>50</sub> by the oronasal route, one group with 30 days before insemination (G0; n=2) and three groups during gestation, first (G1;n=2), second (G2;n=3), last third (G3;n=3) and the fifth control group (G4;n=2). Samples of blood and nasal swabs from the gilts were collected every three days from the day of inoculation until the day of delivery for virusneutralization test, quantitative PCR (qRT-PCR), blood count. On the day of delivery, 40% of the neonates were euthanized to obtain tissue samples at necropsy for histopathology and qRT-PCR. The sows were seroconverted between 12 and 33 days after inoculation and the virus was detected in the blood between 3 and 12 days, and in the nasal swab between 6 and 24 days in the G0, G1, G2 and G3 sows after inoculation, but it was not possible to detect BVDV in piglet tissues and no significant alterations were found through histopathology. The mean and standard deviation of the mean cycles (Cq) of the blood samples ( $Cq = 34.87 \pm 0.60$ ) and nasal swab ( $Cq = 34.61 \pm 0.87$ ) of the sows corresponded between approximately 107 to 490 TCID<sub>50</sub>/mL, obtaining a low viral load in swines, and transplacental infection was't possible.

**Keywords:** BVDV, seroconversion, viremia, qRT-PCR, *Pestivirus*.



## LISTA DE ABREVIATURAS

**BDV:** Border Disease Virus

**BVDV:** Bovine Viral Diarrhea Virus

**CP:** Citopático

**NCP:** Não citopático

**Ct:** Cycle threshold

**CSF:** Classical Swine Fever

**EDTA:** ácido etilenodiamino tetra acético

**ELISA:** Ensaio Imunoenzimático

**G:** Grupo

**FAPESP:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

**FCAV:** Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

**IV:** Isolamento viral

**ICTV:** International Committee on Taxonomy of Virus

**MDBK:** Madin Darby Bovine Kidney

**MEM:** Minimum Essential Medium

**OIE:** World Organisation for Animal Health

**ORF:** Open Reading Frame

**PI:** Persistentemente infectado

**PSC:** Peste Suína Clássica

**qRT-PCR:** PCR quantitativa por transcriptase reversa

**RNA:** Ácido ribonucleico

## Capítulo 1 – Considerações gerais

### 1 INTRODUÇÃO

A biologia das espécies de *Pestivirus* caracteriza-se por particularidades únicas e cruciais que os tornam agentes patogênicos de sucesso, sendo desafiante do ponto de vista científico. Com os anos, a elucidação das características sobre os pestivírus teve uma grande evolução. As análises revelaram significantes semelhanças na replicação e interação do vírus com os hospedeiros, esclarecendo a base molecular de uma infecção persistente e estratégias do vírus para infectar diversas espécies de hospedeiros (TAUTZ; TEWS; MEYERS, 2015).

Este gênero é composto por quatro espécies reconhecidas, vírus da diarreia viral bovina biotipo 1 (BVDV-1), vírus da diarreia viral bovina biotipo 2 (BVDV-2), vírus da doença da fronteira (BDV) e o vírus da peste suína clássica (VPSC) e quatro espécies “atípicas” que têm sido descritas no mundo como o *Giraffe virus* isolado de girafa no Quênia (BECHER et al., 2003), *Pronghorn virus* isolado de antílope nos EUA (VILCEK et al., 2005), *Bungowannah virus* isolado em suíno na Austrália (KIRKLAND et al., 2007; PETERHANS et al., 2010) e o *Hobi-like virus*, identificado em várias partes do mundo e também no Brasil (SCHIRMEIER et al., 2004; CORTEZ et al., 2006) e todos podem causar perdas econômicas para a agroindústrias no mundo.

No entanto, somente em 2012, a BVD foi classificado como uma doença listada pela OIE (*World Organization of Animal Health*). O BVDV tem um potencial de infecção extenso que inclui uma gama de hospedeiros como bovinos, ovinos, suínos, caprinos e outros animais selvagens (RIDPATH, 2010) e não possui específica restrição de hospedeiro, pois pode infectar mais de 50 espécies de mamíferos da ordem *Artiodactyla* (PASSLER; WALZ, 2010).

Oportunamente, o BVDV quando infecta o suíno pode causar sinais clínicos semelhantes aos do VPSC, dificultando a diferenciação e problemas com a prevenção e controle destas doenças (PASSLER; WALZ, 2010). A infecção intrauterina pelo BVDV pode levar a falhas reprodutivas semelhantes às produzidas por amostras de PSCV com baixa e/ou média patogenicidade (PATON; DONE,

1994). Com isso, as medidas de controle devem basear-se no conhecimento completo da epidemiologia do BVDV, incluindo o reconhecimento de outras fontes potenciais do vírus, como os suínos. Os efeitos da infecção do BVDV em estágios gestacionais das porcas ainda não foram bem esclarecidos, entretanto, abortamentos e nascimentos de animais fracos ou inviáveis em bovinos já foram relatados. Transmissões verticais e suas diversas manifestações reprodutivas em bovinos já foram extensivamente documentadas, mas faltam estudos com os suínos.

O trabalho incluiu a avaliação das ferramentas diagnósticas sensíveis como o real time para monitorização do BVDV em porcas prenhes infectadas experimentalmente com o BVDV-2, bem como testes para detecção de anticorpos e esclarecer os efeitos deste vírus na espécie suína e seu papel dentro da cadeia epidemiológica da doença.

#### 4 REFERÊNCIAS

ALMEIDA L. L.; MIRANDA, I. C.; HEIN, H. E.; NETO, W. S.; COSTA, E. F.; MARKS, F.S.; RODENBUSCH, C. R.; CANAL, C. W.; CORBELLINI, L. G. Herd-level risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds from Southern Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 95, n. 3, p. 901-907, 2013.

ALMEIDA, H. M. S.; GATTO, I. R. H.; SANTOS, A. C. R.; FERRAUDO, A. S.; SAMARA, S. I. ; OLIVEIRA, L.G. A Cross-Sectional and Exploratory Geospatial Study of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Infections in Swines in the São Paulo State, Brazil. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 37, p. 470-474, 2017.

BAUERMANN, F. V.; RIDPATH, J. F.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. HoBi-like viruses: an emerging group of pestiviruses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 25, n. 1, p. 6-15. 2013.

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

BAKER, J. A.; L. COGGINS, D.; ROBSON, B. E.; SHEFFY, B. E.; VOLENEC, F. J. A possibility of decreasing the cost of hog cholera eradication with use of a heterotypic BVD vaccine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.155, p.1866-1873. 1969.

BECHER, P.; RAMIREZ, R. A.; ORLICH, M.; ROSALES, S. C.; KONIG, 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.

BITSCH, V.; RØNSHOLT, L. Control of bovine viral diarrhoea virus infection without vaccines. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.11, p.627-640. 1995.

BROCK, K. V.; DENG, R.; RIBLET, S. M. Nucleotide sequencing of 5' and 3' termini of bovine viral diarrhoea virus by RNA ligation and PCR. **Journal of Virological Methods**, v. 38, n. 1, p. 39-46, 1992.

BLANCHARD, P. C.; RIDPATH, J. F.; WALKER, J. B.; HIETALA, S. K. An outbreak of late-term abortions, premature births, and congenital deformities associated with a bovine viral diarrhoea virus 1 subtype b that induces thrombocytopenia. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, p.128–131, 2010.

BROWNLIE, J.; HOOPER, L. B.; THOMPSON, I.; COLLINS, M. E. Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) - the bovine pestivirus. **Clinical and Diagnostic Virology**, v. 10, p. 141-150, 1998.

COLLETT, M. S.; MOENNING, V.; HORZINEK, M. Recent advances in pestivirus research. **Journal of General Virology**, v.70, p.253-266, 1989.

CORAPI, W. V.; FRENCH, T. W.; DUBOVI, E. J. Severe thrombocytopenia in young calves experimentally infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus. **Journal of Virology**, v. 63, n. 9, p. 3934-3943, 1989.

CORRÊA, W. V.; NETO, L. Z.; BARROS, H. M. Nota clínico-patológica de uma enfermidade das mucosas em São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 35, n. 4, p.141-151, 1968.

CORTEZ, A.; HEINEMANN, M. B.; DE CASTRO, A. M. M. G.; SOARES, R. M.; PINTO, A. M. V.; ALFIERI, A. A.; FLORES, E. F.; LEITE, R. C.; RICHTZENHAIN, L. J. Genetic characterization of Brazilian bovine viral diarrhea virus isolate by partial nucleotide sequencing of the 5'UTR region. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.26,p.211- 216, 2006.

CHASE, C. C. L. The impact of BVDV infection on adaptive immunity. **Biologicals**, v. 41, p. 52–60, 2013.

DARBYSHIRE, J. H. A serological relationship between swine fever and mucosal disease of cattle. **Veterinary Record**, v. 72, p. 331, 1960.

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 diarrhea virus 1 in Chinese swine herds. **Veterinary Microbiology**, v.159 p.490–493. 2012.

DONIS, R. O. Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interactions with the host. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 11, p. 393-423, 1995.

FERNELIUS, A. L.; AMTOW, W. C.; LAMBERT, G.; MCCLURKIN, A. W.; MATTHEWS, P. J. Bovine viral diarrhea 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.; WEIBEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P. M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. A. Infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, p.125-134, 2005.

FULTON, R. W.; BURGE, L. J. Bovine viral diarrhea types 1 and 2 antibody response in calves receiving modified live virus or inactivated vaccines. **Vaccine**, v. 19, p. 264-274, 2000.

GAMLEN, T.; RICHARDS, K. H.; MANKOURI, J.; HUDSON, L.; MCCAULEY, J.; HARRIS, M.; MACDONALD, A. Expression of the NS3 protease of cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus results in the induction of apoptosis but does not block activation of the beta interferon promoter. **Journal of General Virology**, v. 91, p.133– 144, 2010.

GATTO, I. R. H.; LINHARES, LIMA D. C; SOUZA H. A. M; MATHIAS, L. A.; MEDEIROS, A. S. R; POLJAK, Z ; SAMARA, S. I ; OLIVEIRA, L.G . Description of risk factors associated with the detection of BVDV antibodies in Brazilian pig herds. **Tropical Animal Health and Production**, v. 1, p. 1-6, 2016.

GROOMS, D. L. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 20, p. 5-19, 2004.

HORZINEK, M. C. Comparative aspects of togaviruses. **Journal of General Virology**, v. 20, p. 87-103, 1973.

HOWARD, C. J. Immunological responses to bovine virus diarrhoea virus infections. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 9, p. 95– 103. 1990.

KIRKLAND, P.D.; FROST, M.J.; FINLAISON, D.S.; KING, K.R.; RIDPATH, J.F.; GU, X. Identification of a novel virus in pigs - Bungowannah virus: A possible new species of pestivirus. **Virus Research**, v. 129, p. 26–34, 2007.

KULCSÁR, G. P.; SOÓS, L.; KUCSERA. R.; GLÁVITS, V.; PÁLF,I. Pathogenicity of a bovine viral diarrhoea virus strain in pregnant sows: short communication. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 49, p. 117–120, 2001.

LAMBOT, M., DOUART, A., JORIS, E., LETESSON, J. J.; PASTORET, P. P. Characterization of the immune response of cattle against non-cytopathic and cytopathic biotypes of bovine viral diarrhoea virus. **Journal of General Virology**, v. 78, p. 1041–1047, 1997.

LE POTIER, M.; MESPLEDE, A.; VANNER, P. Classical swine fever other pestiviruses. In: STRAW, B., ZIMMERMAN, H., D'ALLAIRE, S., TAYLOR, D. (Eds.), *Diseases of Swine*. 9th ed. Blackwell Publ., Ames, Iowa, p.309–311, 2006.

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

WALZ, P. H.; BAKER, J. C.; MULLANEY, T. P.; MAES, R. K. Experimental inoculation of pregnant swine with type 1 bovine viral diarrhoea Virus. **Journal of Veterinary Medicine series B** 51, p. 191–19, 2004.

MCGOWAN, M. R.; KIRKLAND, P. D.; RODWELL, B. J.; KERR, D. R.; CARROLL, C. L. A field investigation of the effects of bovine viral diarrhoea virus infection around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. **Theriogenology**, v. 39, p. 443-449, 1993.

MEYLING, A.; HOUE, H.; JENSEN, A. M. Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus. **Revue Scientifique et Technique**, v. 9, p. 75– 93, 1990.

MOENNIG, V.; LIESS, B. Ruminant pestivirus infection in pig. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v.9, n.1, p.151-161, 1990.

MOENNING, V.; LIESS, B. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 11, p. 477-487. 1995.

MULLER-DOBLIES, D.; ARQUINT, A.; SCHALLER, P.; PETER M. H.; HEEGAARD, P. M. H.; HILBE, M.; ALBINI, S.; ABRIL, C.; TOBLER, K.; EHRENSPERGER, F.; PETERHANS, E.; MATHIAS ACKERMANN, M.; METZLER A. Innate Immune Responses of Calves during Transient Infection with a Noncytopathic Strain of Bovine Viral Diarrhoea Virus, **Clinical and Diagnostic laboratory Immunology**, p. 302–312, 2004.

OGUZOGLU, T. C.; FLOEGEL-NIESMANN, G.; FREY, H. R.; MOENNIG, V. Differential diagnosis of classical swine fever and border disease: seroepidemiological investigation of a pestivirus infection on a mixed sheep and swine farm. **Deutsche tierärztliche Wochenschrift**, v. 108, p. 210–213. 2001.

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.

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

PASSLER, T.; WALZ, P. H. Bovine viral diarrhoea virus infections in heterologous species, **Animal health Research Reviews**, v. 11, n. 2, p. 191-205, 2010.

PETERHANS, E.; BACHOFEN, C.; STALDER, H.; SCHWEIZER, M. Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction. **Veterinary Research**, v. 41, n. 44, p. 1-14, 2010.

PEDRERA, M.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J.C.; RISALDE, M. A.; MOLINA, V.; SANCHEZ-CORDON, P. J. Characterisation of apoptosis pathways (intrinsic and extrinsic) in lymphoid tissues of calves inoculated with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus genotype 1. **Journal of Comparative Pathology**, v. 146, p. 30–39, 2012.

PITUCO, E. M.; DEL FAVA, C. Situação do BVDV na América do Sul. In: Simpósio internacional herpesvírus bovino e diarreia viral bovina, 1998, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, 1998. p. 49-57.

PLANT, J. W.; LITTLEJOHNS, I. R.; GARDINER, A. C.; VANTSIS, J. T.; HUCK, R. A. Immunological relationship between border disease, mucosal disease and swine fever. **Veterinary Record**. v. 92, p. 455, 1973.

RAMSEY, F. K.; CHIVERS, W. H. Mucosal disease of cattle. **North American Veterinarian**, v. 34, p. 629–634. 1953.

RIDPATH, J. F. Bovine viral diarrhoea virus: global status. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.26, p.105–121. 2010.

RIDPATH, J. F.; BAUERMANN, F. V.; FLORES, E. F. *Flaviviridae*. In: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**. 3. Ed. Santa Maria: UFSM, 2017. cap. 23. p. 675-708.

RIDPATH, J. F.; BOLIN, S. R. Differentiation of types 1a, 1b and 2 bovine viral diarrhoea virus (BVDV) by PCR. **Molecular and Cellular Probes**, v. 12, n. 2, p. 101-106, 1998.

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

RIDPATH, J. F.; NEILL, J. D.; PETERHANS, E. Impact of variation in acute virulence of BVDV1 strains on design of better vaccine efficacy challenge models. **Vaccine**, v. 25, p. 8058–8066, 2007.

RÜFENACHT, J.; SCHALLER, P.; AUDIGÉ, L.; KNUTTI, B.; KÜPFER, U.; PETERHANS, E. The effect of infection with bovine viral diarrhoea virus on the fertility of swiss dairy cattle. **Theriogenology**, v. 56, v. 199–210, 2001.

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 Medical and Biological Research**, v. 41, p. 396-340, 2004.

SCHIRMEIER, H.; STREBELOW. G.; DEPNER, K.; HOFFMANN, 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.

SMITH, D. B.; MEYERS, G.; BUKH, J.; GOULD, E. A.; MONATH, T.; MUERHOFF, A. SCOTT.; PLETNEV, A.; RICO-HESSE, R.; STAPLETON, J. T.; SIMMONDS, P.; BECHER, P. Proposed revision to the taxonomy of the genus *Pestivirus*, family *Flaviviridae*, **Journal of General virology**, v. 98, p. 2106-2112, 2017.

STEWART, W. C.; CARBREY, E. A.; JENNEY, E. W. Bovine viral diarrhoea infections in pigs. **JAVMA**, v. 159, p. 1556–1563, 1971.



STEWART, W. C.; MILLER, L. D.; KRESSE, J. I.; SNYDER, M. L. Bovine viral diarrhoea infection in pregnant swine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, p. 459–462, 1980.

TAO, J.; WANG, Y.; WANG, J.; WANG, J.; ZHU, G. Identification and genetic characterization of new bovine viral diarrhoea virus genotype 2 strains in pigs isolated in China, **Virus Genes**, v. 46, p. 81–87, 2013.

TAUTZ, N.; TEWS, B. A.; MEYERS, G. The Molecular Biology of Pestiviruses. **Advances in Virus Research**, v. 93. p. 147-160, 2015.

TERPSTRA C; WENSVOORT G. Bovine viral diarrhoea virus infections in swine. *Tijdschr Diergeneeskd.* v. 116, p. 943- 948, 1991.

VAN CAMPEN, H.; RIDPATH, J.; WILLIAMS, E.; CAVENDER, J.; EDWARDS, J.; SMITH, S.; SAWYER, H. Isolation of bovine viral diarrhoea virus from a free-ranging mule deer in Wyoming. **Journal of Wild life Diseases**, v. 37, p. 306–311, 2001.

VANNIER, P.; ALBINA, E. Bovine viral diarrhoea and border disease. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J.; **Diseases of Swine**, 8<sup>a</sup> ed., Ames: Blackwell Science, 1999.

VILCEK, S.; RIDPATH, J. F.; VAN CAMPEN, H.; CAVENDER, J. L.; WARG, J. Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope. **Virus Research**, v. 108, p.187-193, 2005.

VILCEK, S.; STROJNY, L.; DURKOVIC, B.; ROSSMANITH, W.; PATON, D. Storage of bovine viral diarrhoea virus samples on filter paper and detection of viral RNA by a RTPCR method. **Journal of Virological Methods**, v. 92, p. 19–22, 2001.

WALZ, P. H.; GROOMS D. L.; PASSLER, T.; RIDPATH, J. F.; TREMBLAY, R.; STEP, D. L.; CALLAN, R. J.; GIVENS M.D. Control of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Ruminants. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 476-486, 2010.

WALZ, P. H.; BAKER, J. C.; MULLANEY, T. P.; MAES, R. K. Experimental Inoculation of Pregnant Swine with Type 1 Bovine Viral Diarrhoea Virus, 51, **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v. 51, p. 191–193, 2004.

WENSVOORT, G.; TERPSTRA, C. Bovine viral diarrhoea virus infections in piglets born to sows vaccinated against swine fever with a contaminated vaccines. **Research in Veterinary Science**, n. 45, p. 143–148, 1988.

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

WILHELMSSEN, C. L.; BOLIN, S. R.; RIDPATH, J. F.; CHEVILLE, N. F.; KLUGE, J. P. Experimental primary postnatal bovine viral diarrhoea viral infections in six month-old calves. **Veterinary Pathology**, v. 27, p. 235–243, 1990.

WIZIGMANN G.; VIDOR T.; RICCI Z. M. T. Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus PI-3, IBR e diarréia a vírus enfermidade das mucosas no Estado do Rio Grande do Sul. **Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, v. 1, p. 52-58, 1971.

XU, X.; ZHANG, Q.; YU, X.; LIANG, L.; XIAO, H.; TU, C. Sequencing and comparative analysis of a pig bovine viral diarrhea virus genome. **Virus Research**, v. 122, p. 164–170, 2006.

ZHANG, X. J.; HAN, Q. Y.; SUN, Y.; ZHANG, X.; QIU, H. J. Development of triplex TaqMan real-time RT-PCR assay for differential detection of wild-type and HCLV vaccine strains of classical swine fever virus and bovine viral diarrhea virus 1. **Research in Veterinary Science**, v. 92, p. 512–518, 2012.

### Capítulo 3 - Considerações finais

Os pestivírus são patógenos altamente interessantes e economicamente importantes de serem analisados e estudados, possuem uma característica ligada ao genoma por ser um RNA e de fácil mutação. Nos últimos anos, com a evolução dos testes moleculares, muitos trabalhos relacionados na área elucidaram características surpreendentes do vírus e noção de interação com diferentes hospedeiros. Apesar de toda evolução da biologia molecular e investigação detalhada de muitos aspectos relacionados aos pestivírus, muitos aspectos da biologia ainda são obscuros, sendo uma área ampla para ser pesquisada, principalmente com relação às estruturas das proteínas pestivirais e seus hospedeiros.

Neste trabalho, uma análise ampla sobre a atuação e o impacto do BVDV-2 em diferentes fases da gestação suína foi investigada. As respostas imunes inatas e adaptativas à infecção pelo BVDV podem ser avaliadas pela idade fetal, estágio de desenvolvimento imune que determina o resultado das infecções do feto, porém a infecção transplacentária na espécie suína com a estirpe VS-253 CP não foi possível, pois a quantidade de carga viral detectada nas amostras de sangue e suabe foram baixas quando comparadas com a carga viral inicialmente inoculada em cada animal de  $10^{6,85}$  TCID<sub>50</sub>.

Apesar da variedade de apresentações clínicas em bovinos, é sugerido que as maiores perdas econômicas em decorrência da infecção pelo BVDV são oriundas dos problemas reprodutivos. Apesar de analisarmos diferentes terços da fase de gestação das porcas, independente do momento da inoculação experimental, a estirpe viral não conseguiu atravessar a placenta que serviu como uma barreira de proteção. Contudo após a inoculação experimental, o BVDV-2 conseguiu se replicar nas porcas que foram capazes de excretar o vírus, porém fica evidente que o BVDV-2 em suínos não foi capaz de provocar uma infecção exacerbada.

Por fim, foi esclarecida através do uso de técnicas mais sensíveis, a replicação do BVDV nas porcas, sendo constatada a soroconversão nos animais e o maior título alcançado, fase de viremia, excreção viral e não transmissão do vírus pela via transplacentária, com isso a não infecção dos leitões