

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA EM SUÍNOS

Elaborado por Ana Cristina Sbaraini Mósena
Acadêmica em Medicina Veterinária

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA EM SUÍNOS

Autora: Ana Cristina Sbaraini Mósena

**Trabalho apresentado como
requisito parcial para graduação
em Medicina Veterinária**

Orientador: Cláudio Wageck Canal

Co-orientador: Matheus Nunes Weber

Porto Alegre

2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, por todo amor, dedicação e apoio, não só neste momento, mas durante toda a minha vida. Sem eles, esta caminhada não seria possível, e sei que não teria chegado onde estou.

À minha irmã, minha cúmplice, pela ajuda e companheirismo nos momentos complicados, e nos felizes também.

Ao Gustavo, pelo carinho, pela mão estendida, por estar sempre à disposição quando precisei, ou quando quis compartilhar minhas conquistas.

À minha amiga Cibele, que sempre esteve presente, tanto no dia-a-dia, quanto nos momentos decisivos, e que compartilhou sua simpatia e seu conhecimento.

Ao Laboratório de Virologia da FaVet, por ter aberto as portas, disponibilizado oportunidades, e ter me concedido grandes mestres, colegas, e acima de tudo amigos, que levarei sempre comigo. Em especial, ao grande professor, Cláudio Canal.

Aos amigos da FaVet, pela presença ao longo destes anos.

À todos os que encontrei durante esta caminhada, e que de alguma forma, a fizeram melhor. Obrigada a todos vocês!

RESUMO

Os suínos são suscetíveis a infecções por diversas espécies de pestivírus que podem causar perdas na produtividade e confundir o diagnóstico. O vírus da peste suína clássica (CSFV) é um agente de notificação obrigatória para a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE); contudo, a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em suínos pode cursar com quadro semelhante em algumas situações e causar confusão no diagnóstico dependendo do método empregado. O conhecimento do histórico, epidemiologia, sintomatologia clínica e métodos de diagnóstico que permitam a diferenciação são necessários para uma perspectiva do impacto de uma possível infecção pelo BVDV em suínos. Com isso, o objetivo do presente trabalho é abordar as características das infecções por pestivírus em suínos, salientando as principais diferenças entre o CSFV e o BVDV.

Palavras-chave: pestivírus, suínos, BVDV, CSFV, diagnóstico.

ABSTRACT

Pigs are susceptible to infection by several species of pestivirus that can cause productivity losses and confusion in diagnosis. The classical swine fever virus (CSFV) is a notifiable agent to the World Organisation for Animal Health (OIE); however, infection with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in swine can display similar manifestations in some situations and confuse the diagnosis depending on the method used. Knowledge of the history, epidemiology, clinical symptoms and diagnostic methods that allow differentiation are required for a perspective on the possible impact of BVDV infection in pigs. Thus, the objective of the present work is to present the characteristics of pestivirus infections in swine, emphasizing the main differences between CSFV and BVDV.

Keywords: pestiviruses, swine, BVDV, CSFV, diagnosis

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Descrição esquemática da estrutura de um vírion do gênero *Pestivirus*..... 9
- Figura 2** - Esquema de organização do genoma de um pestivírus..... 10

LISTA DE ABREVIATURAS

%	porcentagem
°C	graus <i>Celcius</i>
5'-UTR	5' não traduzida
BDV	vírus da doença da fronteira
BD	doença da fronteira
BVDV	vírus da diarreia viral bovina
BVD	diarreia viral bovina
C	proteína do capsídeo
CP	citopática
CSFV	vírus da peste suína clássica
CSF	peste suína clássica
DM	doença das mucosas
E	glicoproteína do envelope
ELISA	Ensaio imunoenzimático
Kb	Kilobase
NCP	não citopática
N ^{pro}	Autoprotease
NS	Não estrutural
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
ORF	fase aberta de leitura
p7	proteína 7
PI	persistentemente infectado
RNA	ácido ribonucleico
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase- Polimerase Chain Reaction</i>
SFB	soro fetal bovino
VNT	vírus neutralização

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1	Estrutura viral	9
2.1.2	Genoma.....	10
2.1.3	Proteínas estruturais.....	11
2.1.4	Proteínas não-estruturais.....	11
2.2	Ciclo replicativo	12
2.3	Pestivírus em suínos	13
2.3.1	Peste suína clássica (CSF).....	13
2.3.2	BVDV em suínos.....	15
2.4	Outros pestivírus	22
2.4.1	Doença da Fronteira (BD).....	22
2.4.2	Diarréia viral bovina.....	23
2.5	Pestivírus atípicos	26
2.5.1	Pestivírus de girafa.....	27
2.5.2	‘Hobi’-like virus.....	27
2.5.3	Vírus Pronghorn.....	28
2.5.4	Bungowannah.....	29
3	CONCLUSÕES	30
	REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

A carne suína é a carne mais consumida no mundo, e o setor suíno é um dos que têm apresentado mais crescimento nos últimos anos (FAO, 2012). Com uma suinocultura que produz 3.370 mil toneladas de carcaça, o Brasil é o quarto maior exportador mundial de carne suína (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA, 2014). O crescimento levou à adoção de sistemas com alta densidade de animais nas instalações e, apesar dos avanços no controle e prevenção de doenças, a produção de suínos ainda continua ameaçada por doenças transmissíveis e emergentes, provenientes de dentro e fora das fronteiras (BARCELLOS et al., 2008).

A peste suína clássica (CSF) é uma doença infecciosa viral causado pelo vírus da peste suína clássica (CSFV), um pestivírus de grande importância no mundo todo, podendo afetar a economia dos países de forma impactante. É uma doença de notificação obrigatória na Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), causando sanções econômicas importantes quando presente (MOENNIG, 2000). No entanto, os suínos podem ser infectados pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus da doença da fronteira (BDV) e outros pestivírus recentemente descritos. Pestivírus compartilham antígenos em comum, portanto testes usados para detecção de anticorpos contra a CSFV podem ter reatividade cruzada com anticorpos de outros pestivírus (DEKKER; WENSVOORT; TERPSTRA, 1995). Este fato pode gerar falsos positivos na busca pelo CSFV, representando um problema de diagnóstico nos programas de erradicação e estudos epidemiológicos (WENSVOORT et al., 1994 apud DE SMIT et al., 1999b). Existem vários testes para detecção do CSFV, porém é muito importante a discriminação laboratorial, principalmente entre CSFV e BVDV. Anticorpos monoclonais são usados em várias técnicas (EDWARDS; MOENNIG; WENSVOORT, 1991), e protocolos de RT-PCR tem sido desenvolvidas com o propósito de diferenciar estes dois vírus (CANAL et al., 1996), colaborando para a eficiência dos testes laboratoriais, que são a base dos programas de controle e erradicação da peste suína clássica.

O objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão bibliográfica, com breve histórico da detecção e infecção do BVDV em suínos, traçando ligação com outros pestivírus que podem afetar esta espécie animal, principalmente o CSFV.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A família *Flaviviridae* abriga vírus de importância na saúde humana e animal, sendo dividida em três gêneros: *Flavivirus*, *Hepacivirus* e *Pestivirus*. Os flavivírus são vírus transmitidos por insetos (arbovírus), dentre os quais estão o vírus da dengue, o vírus da febre amarela e o vírus da encefalite japonesa. O único hepacivírus é o vírus da hepatite C, que ocorre somente em humanos (SIMMONDS et al., 2011).

Os pestivírus são um gênero de importância econômica na saúde animal. São reconhecidas quatro espécies pelo Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV): CSFV, BDV e o BVDV tipo 1 e 2 (SIMMONDS et al., 2011). Recentemente, possíveis novas espécies vêm sendo caracterizadas: pestivírus de girafa (PLOWRIGHT, 1969 apud VILCEK; NETTLETON, 2006), 'HoBi'-like vírus (SCHIRRMIEIER et al., 2004), vírus Bungowannah (KIRKLAND et al., 2007) e pestivírus Pronghorn (VILCEK et al., 2005).

Existem ainda grandes variações genéticas e antigênicas dentro das espécies dos pestivírus que, com base nas análises destas variações, foram divididas em grupos. Com base em vários trabalhos, o BVDV-1 é dividido em pelo menos 17 subtipos (1a a 1q) (VILCEK et al., 2001; DENG et al., 2012), o BVDV-2 em três (2a a 2c) (TAJIMA et al., 2001); o BDV em sete genótipos (BDV-1 a 7) (BECHER et al., 1999; MARCO et al., 2011), e o CSFV em três genogrupos (1, 2 e 3) que foram subdivididos em subgenogrupos (1.1, 1.2, 1.3; 2.1, 2.2, 2.3; 3.1, 3.2, 3.3, 3.4) (PATON et al., 2000). A maior implicância prática destas variações genéticas é a baixa reatividade sorológica cruzada, podendo levar a falhas vacinais (FULTON et al., 2003; BACHOFEN et al., 2007).

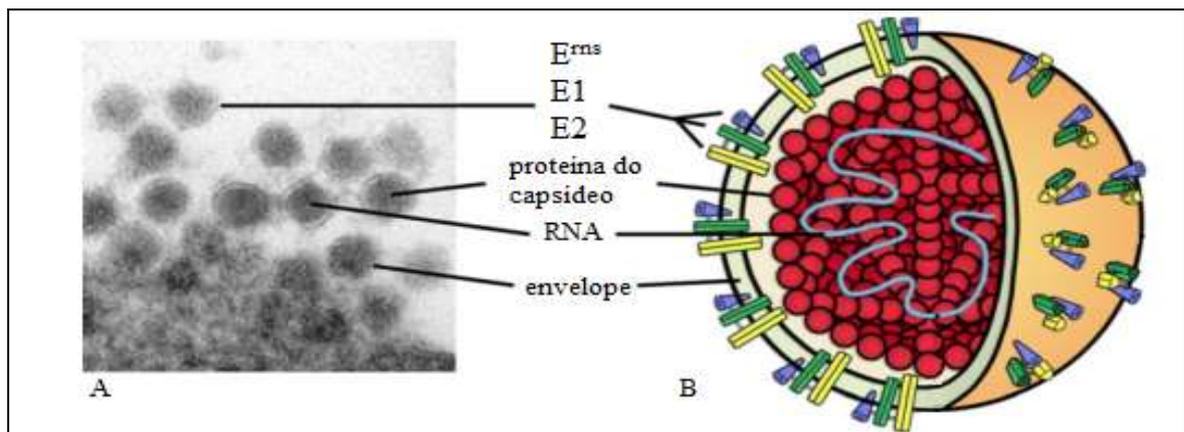
Outra característica notável e única dos pestivírus é a existência de dois biotipos, que podem ser diferenciados de acordo com o seu efeito em cultivo celular: citopáticos (CP) e não citopáticos (NCP). As cepas de biotipo CP se originam das NCP por mutações, inserções, deleções ou rearranjos genéticos, levando à expressão da proteína NS3 como uma proteína individual (RIDPATH; FLORES, 2007).

2.1 Estrutura Viral

Os membros do gênero *Pestivirus* possuem vírions pequenos (40 a 60 nm de diâmetro) com um nucleocapsídeo icosaédrico envolto em envelope lipídico originário da membrana citoplasmática da célula hospedeira (RIDPATH; FLORES, 2007). Sua estrutura é composta

por quatro proteínas estruturais: proteína do capsídeo (C) e três glicoproteínas inseridas no envelope (E^{ms} , E1, e E2) (THIEL; PLAGEMANN; MOENNIG, 1996). Por possuir envelope, os vírions são inativados pelo calor, solventes orgânicos e detergentes, porém os pestivírus são mais resistentes a pH baixo, sendo estáveis na faixa de 5,7 a 9,3. Baixas temperaturas e congelamento não afetam sua infectividade, que pode diminuir a partir dos 40°C.

Figura 1 – Descrição esquemática da estrutura de um vírion do gênero *Pestivirus*. A) Foto de microscopia eletrônica de vírions do CSFV. B) Ilustração esquemática do vírion.



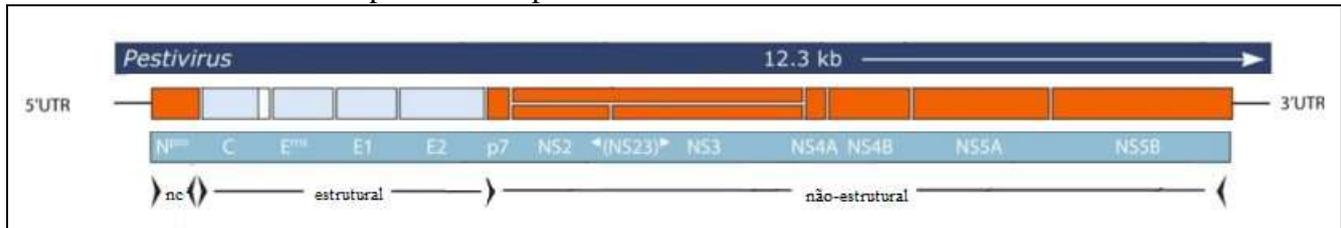
Fonte: adaptada de Beer et al. (2007)

2.1.2 Genoma

Os pestivírus tem o genoma constituído por uma fita simples de RNA de polaridade positiva decerca de 12,3 Kb. Este genoma possui duas regiões não traduzidas (UTR) nas extremidades 5' e 3' (RIDPATH; FLORES, 2007). Possui uma única fase aberta de leitura (ORF), e sua tradução gera uma longa poliproteína de aproximadamente quatro mil aminoácidos que é clivada em várias outras proteínas durante sua tradução.

A primeira proteína traduzida é a proteína não estrutural N terminal (N^{pro}), que possui atividade autoproteolítica e é responsável pela primeira clivagem da poliproteína, entre a N^{pro} e a seguinte, proteína C. A N^{pro} só é encontrada nos pestivírus, sendo a região de eleição para comparação inicial de isolados (RIDPATH; FLORES, 2007).

Figura 2 – Esquema de organização do genoma de pestivírus, mostrando as proteínas codificadas e apontando as proteínas estruturais e não estruturais.



Fonte: adaptada de Peterhans et al.(2010)

2.1.3 Proteínas estruturais

Após a N^{pr} , as quatro proteínas seguintes a serem traduzidas são ditas estruturais, pois são incorporadas à partícula viral. A clivagem da poliproteína em proteínas estruturais ocorre pelas enzimas da célula hospedeira, nos respectivos sítios de clivagem 2, 3, 4 e 5. Estas proteínas estruturais são a proteína C e as glicoproteínas do envelope (E^{ms} , E1 e E2). A proteína C irá formar o capsídeo, que engloba o RNA viral. As glicoproteínas estão dispostas no exterior da partícula viral: E1 e E2 estão inseridas na membrana, enquanto que E^{ms} está inserida indiretamente, sendo facilmente dissociada da membrana (NEIL, 2012).

A proteína E^{ms} tem atividade de RNase, degradando RNA viral que é secretado pelas células hospedeiras: esta proteína limita a produção de interferon, já que fitas simples ou duplas de RNA iniciam a resposta imune contra células infectadas por vírus (MATZENER et al., 2009; WANG; LI; MODIS, 2014). As proteínas E1 e E2, encontradas na membrana viral, são necessárias para a infectividade dos vírions. A E2 é responsável pela ancoragem do vírion e entrada na célula hospedeira, além de ser alvo para grande parte dos anticorpos neutralizantes (RONECKER et al., 2008).

2.1.4 Proteínas não-estruturais

A primeira proteína não estrutural é a N^{pr} , sendo também a primeira traduzida no genoma. Após a E2, a poliproteína é clivada em sete proteínas não estruturais. A primeira delas é a p7, cuja função acredita-se que seja a formação de canais iônicos na membrana da célula infectada, facilitando a movimentação dos vírus entre as células (NEILL, 2013). A segunda proteína não estrutural é a NS2/3, presente em cepas não-citopáticas de BVDV e é necessária para a replicação viral precoce durante infecção. NS3 representa a parte C-terminal

da NS2, porém em células infectadas com vírus citopáticos, ocorre a expressão de NS3 (gerando NS2 e NS3) devido a mutações na NS2 (MEYERS; BEATE, 2000).

A clivagem da poliproteína em proteínas não estruturais ocorre em quatro sítios de clivagem (3/4A, 4A/4B, 4B/5A, and 5A/5B) através da atividade de serino protease, cujo sítio catalítico está na NS3, que por sua vez necessita da proteína NS4A como cofator para exercer sua atividade de clivagem (MENDEZ et al., 1998). A proteína NS4B se torna parte da membrana do complexo de Golgi, sendo associada ao complexo de replicação do RNA e rearranjos da membrana celular das células infectadas. As proteínas NS5A e NS5B estão codificadas no final da poliproteína. A função da NS5A não é bem conhecida, mas ela está presente junto à NS4B no complexo de replicação do RNA (WEISKIRCHER et al., 2009). A proteína NS5B funciona como RNA-polimerase, sendo a principal proteína na replicação do RNA genômico (NEILL, 2013).

2.2 Ciclo replicativo

A replicação do genoma e a produção viral ocorrem inteiramente no citoplasma da célula hospedeira. Para introduzir o genoma no citoplasma, o envelope lipídico se funde com a membrana celular. Esta endocitose é catalisada pelas proteínas do envelope (WANG; LI; MODIS, 2014), após a interação entre estas proteínas e os receptores da membrana plasmática. O capsídeo dissocia-se, e o genoma é liberado no citoplasma.

O RNA genômico de polaridade positiva é traduzido em toda a sua extensão, originando a poliproteína que é clivada por proteases celulares e virais, resultando nas proteínas estruturais e não-estruturais à medida que é sintetizada. As proteínas não-estruturais tem como função auxiliar no processo de clivagem da poliproteína e atuam na replicação do genoma. A replicação do genoma envolve a síntese de uma molécula de RNA de polaridade negativa que serve de molde para a síntese de RNAs de polaridade positiva. Estes servirão para mais etapas de tradução e, posteriormente, serão encapsidados como genoma da progênie viral (RIDPATH; FLORES, 2007). As proteínas estruturais farão parte da montagem estrutural da progênie viral. A morfogênese das novas partículas e maturação ocorre no retículo endoplasmático e complexo de Golgi da célula hospedeira. A saída das partículas virais ocorre via exocitose, portanto a ruptura da célula não parece ser um pré-requisito para a liberação dos vírions.

2.3 Pestivírus em suínos

Suínos são hospedeiros importantes de pestivírus, sendo hospedeiros naturais de CSFV e eventuais de BVDV, BDV e da tentativa de espécie Bungowannah. Pestivírus isolados de suínos geralmente são cepas de CSFV, que causa uma das doenças infecciosas virais de suínos mais importantes do mundo, podendo afetar a economia de forma tão impactante que entrou para a lista da OIE de doenças de notificação obrigatória (MOENNIG, 2000).

O CSFV é o pestivírus com maior importância na população suína. Porém, outros pestivírus que podem afetar a suinocultura, também tem sido frequentemente relatados em suínos, como BVDV (TERPSTRA; WENSVOORT, 1988), BDV (VILCEK; BELÀK, 1996), e Bungowannah (KIRKLAND et al., 2007). Estes agentes podem levar a confusão no diagnóstico, visto que compartilham certa semelhança genética e antigênica.

2.3.1 Peste Suína Clássica (CSF)

O vírus da peste suína clássica (CSFV) é um vírus importante que causa doença grave e contagiosa tanto em suínos domésticos como silvestres. Por ser de difícil controle em altas densidades populacionais, está na lista de doenças de notificação obrigatória da OIE. O primeiro surto de CSF foi relatada na França em 1822, e pela primeira vez nos Estados Unidos em 1833, e tornou-se endêmica nos séculos XIX e XX. Está distribuída por todo o mundo, embora alguns países já tenham erradicado a doença (EDWARDS et al., 2000a).

A gravidade dos sinais clínicos depende principalmente da idade do animal e virulência do isolado. O mesmo isolado pode causar diferentes formas da doença, dependendo da idade, raça e imunidade do hospedeiro: em suínos adultos a doença é geralmente leve ou sub-clínica (MOENNIG; FLOEGEL-NIESMANN; GREISER-WILKE, 2003). A via de transmissão é a oro-nasal, sendo as tonsilas o órgão de predileção após a exposição ao vírus; a partir destas o vírus é drenado para linfonodos, medula óssea e tecido linfóide do trato digestivo. Atinge a corrente sanguínea em altos títulos e invade o fígado, pâncreas e rins (RIDPATH; FLORES, 2007). A forma clássica da doença é caracterizada por febre alta, lesões hemorrágicas, diarreia, conjuntivite, imunodepressão com infecções secundárias e alta mortalidade (PATON; GREISER-WILKE, 2003).

O vírus é capaz de atravessar a barreira transplacentária em fêmeas gestantes. Essa infecção geralmente resulta em perdas reprodutivas dependendo da fase gestacional. Podem

ocorrer abortos, natimortos, nascimento de leitões fracos, com tremor ou malformações (RIDPATH; FLORES, 2007) . Infecção de gestantes com 50 a 70 dias de gestação pode levar ao nascimento de leitões persistentemente infectados, que geralmente apresentam crescimento inferior, refugo e tremores congênitos. Alguns leitões PI são clinicamente normais e podem sobreviver por vários meses. O quadro de sinais e patogenia da CSF aguda é muito similar ao de outras doenças, e deve ser considerados no diagnóstico diferencial de outras infecções respiratórias ou gastroentéricas com febre e não responsiva a antibióticos (MOENNIG; FLOEGEL-NIESMANN; GREISER-WILKE, 2003).

Além da transmissão direta via oronasal, produtos derivados de suínos como carne fresca, congelada ou curada podem permanecer infecciosas para outros suínos através da via oral. A transmissão indireta é importante e pode ocorrer através de fômites, como equipamentos, veículos, roupas (EDWARDS, 2000b). A transmissão aérea pode ocorrer quando o número de animais infectados é grande, e apesar de os vírions não percorrerem longas distâncias, fazendas vizinhas tem o risco de serem atingidas pelo vírus (PATON; GREISER-WILKE, 2003). A transmissão pode ocorrer através de semên, tendo esta forma de transmissão causado surtos esporádicos (DE SMIT et al., 1999a). Os hospedeiros naturais da CSF são membros da família *Suidae*, sendo os suínos domésticos e os javalis reservatórios suscetíveis (MOENNIG, 2000). Através de experimentação animal os ruminantes foram considerados hospedeiros não usuais (LOAN; STORM, 1968), e inoculação viral gerou infecção subclínica em cabras, ovelhas, bovinos, cervos e queixadas (DAHLE; LIESS; FREY, 1987).

A CSF tem difícil controle em áreas de alta concentração de criações comerciais ou grande número de suídeos silvestres por ser altamente contagiosa. Por esta razão é considerada doença estratégica do ponto de vista sanitário e está na lista de notificações obrigatórias da OIE (RIDPATH; FLORES, 2007). A maioria dos países com produção significativa de suínos já tem tomado medidas de controle da doença (EDWARDS et al., 2000a). Mesmo assim, a CSF tem distribuição mundial e 70 países reportaram a ocorrência de surtos entre 1994 e 2005 (RIDPATH; FLORES, 2007). Consideram a doença erradicada: Austrália e Nova Zelândia, EUA, Canadá e o norte do México. A doença é endêmica na América latina e em grande parte da Ásia. No oeste da Europa, a erradicação da doença tem progredido, e a vacinação é proibida na União Européia desde 1990. Porém surtos em suínos têm surgido devido à introdução do vírus através dos javalis. A população destes animais silvestres tem aumentado drasticamente na Europa, mantendo o vírus sem a necessidade da reintrodução através dos suínos domésticos. Produtos feitos a partir de carne suína também

tem introduzido o vírus em regiões consideradas livres da doença (PATON; GREISER-WILKE, 2003).

No Brasil, a doença foi considerada endêmica até a década de 1980, com sucesso em reduzir a ocorrência a partir de programas oficiais (RIDPATH; FLORES, 2007). Surtos da doença na região Sul, a região com maior produção na suinocultura industrial, não foram mais identificados desde 1988 (EDWARDS et al., 2000a). Em 1992 foi implementado o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Peste Suína Clássica, e a monitoria e vigiância continua atualmente com o Plano de Contingência para peste suína clássica (BRASIL, [20--]). Focos isolados da doença ainda ocorrem em parte da região Norte e Nordeste, sendo que entre 2002 e 2005 ocorreram seis focos nestas regiões (RIDPATH; FLORES, 2007).

O padrão-ouro utilizado no diagnóstico laboratorial do CSFV é o isolamento viral em cultura celular de origem suína. Quando cepas testadas são NCP, a detecção no cultivo celular deve ser feita através da detecção de antígenos virais através de técnicas como a imunoperoxidase ou imunofluorescência. Outra técnica menos sensível é o ELISA direto (captura do antígeno viral) e imunofluorescência em sangue e órgãos. Mais recentemente a detecção de RNA viral tem sido uma opção através de RT-PCR, com possibilidade de posterior sequenciamento e caracterização dos isolados (MOENNIG, 2000).

Com a evolução dos métodos de detecção de antígenos, a sorologia tem caído em desuso no diagnóstico de surtos. Porém ainda é rotineira na monitoria de populações como indicador de que o vírus esteve presente no rebanho; também é útil na monitoria em populações de javalis (MOENNIG, 2000). Anticorpos são detectáveis a partir da segunda ou terceira semana pós-infecção e persistem por toda a vida do animal. Os testes sorológicos mais utilizados são a vírus-neutralização (VNT) e ELISA. O diagnóstico considerado padrão-ouro na detecção de anticorpos é a VNT; esta técnica demanda trabalho e tempo por necessitar da cultura celular. Porém quando cepas antigenicamente semelhantes a de outros pestivírus são escolhidas para a análise de anticorpos, esta técnica pode ser muito útil na diferenciação entre infecções por CSFV e de outros pestivírus (GREISER-WILKE; BLOME; MOENNIG, 2007).

2.3.2 BVDV em suínos

A prevalência de infecção por BVDV em rebanhos suínos tem crescido substancialmente nos últimos anos, causando perdas econômicas na indústria mundial da suinocultura (TAO et al., 2013b). Testes de neutralização e testes com anticorpo monoclonal

levam a indícios de que BVDV foi isolado de suínos no passado, e erroneamente identificado como CSFV utilizando anticorpos policlonais (TAO et al., 2013b). Todos os pestivírus apresentam alguma reatividade sorológica cruzada entre si, e diferenciá-los por antigenicidade pode ser complicado (DEKKER; WENSVOORT; TERPSTRA, 1995).

Na década de 1960, anticorpos de CSFV foram detectados em suínos assintomáticos na Austrália. Esta ausência de sinais primeiramente foi atribuída a uma cepa com baixa virulência, porém Darbyshire, em 1960 (DARBYSHIRE, 1960 apud WENSVOORT et al., 1989), havia provado que antígenos de BVDV e CSFV possuíam alguma reatividade cruzada. Hipóteses de que estes suínos da Austrália pudessem estar infectados com BVDV já haviam surgido (SNOWDON; FRENCH, 1968), porém somente em 1973 vírions de BVDV foram recuperados de porcos doentes naturalmente infectados (FERNELIUS et al., 1973). A partir destas evidências, casos de suínos com sinais clínicos consistentes de CSF foram diagnosticados como infecção por BVDV (TERPSTRA; WENSVOORT, 1988). Testes antigênicos feitos para diferenciar as espécies de pestivírus em suínos começaram a ser estudados, devido à relativa importância que o BVDV tomou nestes casos (WENSVOORT et al., 1989).

Com o desenvolvimento destes testes com anticorpos que diferenciam espécies de pestivírus, a epidemiologia do BVDV em suínos começou a ser desvendada. A origem dos vários surtos de BVDV em suínos ocorridos nos anos seguintes se deu principalmente através de vacinas, originadas de cultivos celulares contaminados com BVDV. A contaminação de soro fetal bovino utilizado em cultura celular tem se mostrado comum (BOLIN; MATTHEWS; RIDPATH, 1991) e tem contaminado vacinas derivadas de células bovinas ou que utilizam soro fetal bovino. Em 1988, foram relatados casos de leitões com sinais clínicos de CSF que foram infectados via intrauterina com uma vacina para CSFV contaminada com BVDV e inoculada nas porcas gestantes (WENSVOORT et al., 1989). Vacinas para Aujeszky contaminadas e administradas em matrizes também causaram declínio na fertilidade e fetos malformados na França, em 1988 (VANNIER et al., 1988 apud TAO et al., 2013b). O problema de contaminação no soro fetal bovino utilizado na produção destas vacinas ainda existe, apesar dos avanços na biossegurança. Em estudo feito em 2010 (FAN et al. 2010 apud b et al., 2013), a detecção por RT-PCR de lotes de vacinas de CSF encontrou contaminação por BVDV em 21,74%. Foi encontrada alta prevalência de soropositividade para BVDV em granjas suínas com alto título de anticorpos para CSFV e sugeriu que as vacinas de CSFV podiam estar contaminadas. (YANG et al., 2011 apud TAO et al., 2013b). Em 2012, uma cepa de BVDV-2 foi detectada em uma vacina para CSF, causando doença em um leitão, além de

já ter causado doença em suínos experimentalmente (TAO et al., 2013b; MAKOSCHEY et al., 2002 apud DENG et al., 2012). Essa busca por outros pestivírus em suínos também levou à detecção de BDV nesta população: através das técnicas moleculares, algumas cepas de pestivírus identificadas em suínos foram classificadas como BDV (VILCEK; BELÁK, 1996; KAWANISHI et al., 2014).

Infecção por BVDV em suínos geralmente cursa sem sinais clínicos, permitindo ao vírus se disseminar no rebanho sem detecção. Porém em alguns casos a sintomatologia é semelhante à CSF (TAO et al., 2013b). Surtos de BVDV com sintomas causaram anemia, pelagem áspera, crescimento retardado, tremores, conjuntivite, diarreia, poliartrite, petéquias na pele e cianose de orelha (TERPSTRA; WENSVOORT, 1988). A infecção de fêmeas por outros pestivírus também é associada a problemas reprodutivos, baixa taxa de concepção, abortos e morte de neonatos. Os estudos de BVDV em infecções pós-natal em animais não prenhes foram poucos, e raramente relataram sinais clínicos baseados em observação (LIESS; MOENNIG, 1990 apud PASSLER; WALK, 2010) e apesar da viremia e soroconversão, em vários estudos a elevação da temperatura retal não foi detectada (WALZ et al., 1999).

No entanto, em outros surtos onde os animais afetados eram mais novos, a infecção por BVDV teve impacto na saúde dos animais. Os sinais clínicos descritos após a inoculação de vacina contaminada são variados, e em um surto ocorrido na China, após a aplicação de uma vacina para CSF, 800 leitões demonstraram anemia, diarreia e hipertermia e curso semelhante ao da CSF, e a contaminação por BVDV na vacina foi detectada (TAO et al., 2013b). Infecção experimental em leitões de seis a dez semanas com cepa de BVDV-2 (que havia causado sinais graves em bovinos) resultou em febre leve, leucopenia e trombocitose (MAKOSCHEY et al., 2002 apud PASSLER; WALZ, 2010). Já a infecção de leitões de três dias resultou em perda de apetite, diarreia e patologia intestinal, com curso de quatro dias. Co-infecções de gastroenterite transmissível (WOODS et al., 1999 apud DENG et al., 2012) ou circovírus com BVDV (LANGOHR et al., 2012) podem exacerbar e tornar graves quadros antes de médio ou pequeno impacto. Inoculação experimental de BVDV gerou gastroenterite, hemorragias em linfonodos, epicárdio e rins como as lesões mais consistentes.

Em fêmeas prenhes, sinais reprodutivos foram relatados em surtos de doença natural e em infecção experimental, mas o real papel do BVDV não pôde ser provado. Em um experimento feito por Paton e Done (PATON; DONE, 1994), a inoculação fetal direta resultou no nascimento de leitões virêmicos, e algumas fêmeas falharam na manutenção da gestação; uma fêmea teve uma leitegada de 4 filhotes, apesar do diagnóstico de gestação aos 42 dias ter revelado 14 fetos. Anormalidades nas leitegadas recém-nascidas incluíram

mumificação, hemorragias, edema e meningocoele, lesões já relatadas em leitões com infecção congênita por CSFV. Exceto dois animais, o resto da mortalidade ocorreu em leitões virêmicos, que foram reconhecidos facilmente pelo seu crescimento retardado em comparação às leitegadas saudáveis. Petéquias, hemorragia, linfonodos reativos, meningite, miocardite, nefrite e necrose hepática foram observados em leitões nascidos de uma porca que ficou exposta a um bovino PI ((PATON; DONE, 1994).

As maiores fontes de BVDV na infecção de suínos são os bovinos, sendo relatadas altas taxas de soroconversão em suínos localizados perto de fazendas de gado (TERPSTRA; WENSVOORT, 1991 apud PASSLER; WALZ, 2010). Pequenos ruminantes também podem ser uma possível fonte se houver contato próximo. Outra fonte de BVDV pode ser a alimentação dos suínos com leite e soro de leite ou restos de carne bovina (STEWART; CARBREY; JENNEY, 1971 apud TAO et al.2013b). A contaminação de soro fetal bovino utilizado em culturas celulares também pode contaminar as vacinas provenientes delas, sendo uma fonte importante e relatada em vários casos de inoculação em rebanhos suínos.

Alguns fatores de risco para a soropositividade dos suínos para BVDV foram identificados, como a presença de gado na mesma fazenda, alta densidade de pequenos ruminantes próximos ao rebanho, vacinas contaminadas com BVDV, e a idade do animal (LENIHAN; COLLERY, 1977; VANNIER et al., 1988; LOEFFEN et al., 2009 apud PASSLER; WALZ, 2010; LIESS; MOENNIG, 1990). A especialização na suinocultura com diminuição no contato com outras espécies e o aumento no controle de qualidade da produção de vacinas (BOLIN; MATTHEWS; RIDPATH, 1991) podem ser a explicação para o decréscimo na soroprevalência de BVDV em rebanhos que foram acompanhados por anos (PASSLER; WALZ, 2010). BVDV também pode infectar javalis (DAHLE et al., 1993 apud ZUPANCIC et al., 2002). Foram encontrados 4,5% de soropositividade para anticorpos contra BVDV no soro de javalis em estudo feito em 2002 na Croácia. Isto corrobora com a hipótese de que os javalis podem exercer algum papel na transmissão do BVDV (ZUPANCIC et al., 2002). O papel de animais silvestres PI como potenciais transmissores ainda é desconhecido. Cervos fêmeas de veado mousedeer (*Tragulus javanicus*) PI permaneceram sem sinais e conseguiram se reproduzir, gerando filhotes PI (UTTENTHAL et al., 2006).

Poucos estudos sorológicos de prevalência têm sido feitos para detecção de BVDV em suínos. A soropositividade em suínos na Áustria e Alemanha foi estimada entre 3 e 40%, e 15 e 20% na Holanda. (LIESS; MOENNIG, 1990; O'CONNOR; LENIHAN; DILLON, 1991; TERPSTRA; WENSVOORT, 1991 apud TAO et al., 2013b). Na Noruega e Irlanda, a soroprevalência foi de 2,2% e 3,2% (BVDV cepa NADL) e na Dinamarca foi de 6,4%(cepa

Ug59) (LOKEN; KROGSRUD; LARSEN, 1991; JENSEN, 1985; GRAHAM et al., 2001). A prevalência do rebanho suíno na América do Norte está entre 2% e 43%, sendo o gado incriminado como fonte do BVDV (O'SULLIVAN, 2011). A ocorrência de BVDV em suínos com sinais clínicos na China, feito através de RT-PCR, foi de 23,6% em 2010 (DENG et al., 2012). Durante um surto de CSFV na Holanda em 1997/1998, 26,5% das amostras positivas para CSFV através de ELISA, analisadas posteriormente por outros métodos, demonstraram ser causadas por outros pestivirus (PASSLER; WALZ, 2010).

As características genéticas das cepas de BVDV provenientes de suínos ainda são desconhecidas. Somente três sequências genômicas completas de BVDV em hospedeiros suínos estão disponíveis, sendo todas detectadas na China: BVDV-1m ZM-95 (XU et al., 2006), BVDV-1q SD0803 (DENG et al., 2014) e de BVDV-2a SH28 (TAO et al., 2013a).

Apesar das cepas de BVDV originárias de suínos serem classificadas nos subtipos através de filogenia, ainda há dados muito limitados para demonstrar a relação genética entre BVDV de suínos e os originados de bovinos. A amostra ZM-95 foi classificada como subtipo 'm', apesar da similaridade de 86,6% com uma cepa do subtipo 'd' (XU et al., 2006); a cepa H (VAN GENNIP et al., 1999) como 1b e a V360 como 1a (BECHER et al., 1999). Vinte isolados de BVDV foram obtidos de estudo para prevalência de BVDV no rebanho suíno da China, e através de filogenia foram classificados em cinco subtipos: BVDV-1a, BVDV-1b, BVDV-1m, BVDV-1o, e um grupo não classificado (DENG et al., 2012). Análise da região 5' UTR da cepa chinesa SD0803 indicou que esta é membro do subtipo BVDV-1q, que já foi isolado na China em bovinos e camelos (DENG et al., 2014).

A transmissão do BVDV entre suínos é possível, porém é limitada e o vírus tende a desaparecer de um rebanho caso não haja nova introdução. No entanto, a presença de anticorpos contra BVDV podem prevenir a transmissão de CSFV e proteger os suínos contra a doença (WIERINGA-JELSMA; QUAK; LOEFFEN, 2006). Isto se deve à relação antigênica entre os pestivirus e à reatividade sorológica cruzada. Os títulos de anticorpos são médios a altos com relação à espécie homóloga, e baixos frente aos outros pestivirus (RIDPATH; FLORES, 2007). Porém em estudo foi relatado que o desafio com CSFV em suínos previamente infectados com BVDV resultou em títulos maiores de BVDV do que de CSFV, podendo resultar em um teste falso-negativo para CSFV (DENG et al., 2014). Esta reatividade sorológica também depende da cepa: estudos com a cepa Oregon C24V de BVDV na vacinação de suínos e posterior desafio com CSFV obteve 95% de proteção (BAKER et al., 1969 apud PASSLER; WALZ, 2010). A cepa BVDV St. Oedenrode, isolada de suíno, foi usada na imunização, resultando em infecção limitada por BVDV e proteção da transmissão e

doença clínica por CSFV após o desafio (DENG et al., 2014). Porém quase todos os suínos imunizados com a cepa BVDV C24V morreram após o desafio (SIMONYI; BIRO, 1967 apud PASSLER; WALZ, 2010).

O papel dos pestivírus de ruminantes que afetam suínos é de importância na suinocultura, pois além de infectar os porcos assim como seus hospedeiros usuais, podem causar sinais clínicos e interferir com o diagnóstico clínico e laboratorial da CSF. Vários trabalhos relatando a ocorrência de BVD e BD na população suína confirmam a presença destas doenças no rebanho de vários países. O diagnóstico de CSFV deve levar em conta a interferência destes vírus, já que a presença de CSFV pode causar consequências graves para o dono da granja e para a indústria suína. A especificidade, sensibilidade e rapidez dos resultados laboratoriais são necessárias para confirmar uma suspeita de CSF (WIERINGA-JELSMA; QUAK; LOEFFEN, 2006).

A política de controle do CSFV depende da incidência e prevalência do vírus em populações domésticas e selvagens de suínos. Nos países onde a doença é endêmica, uma prática comum para evitar perdas graves é a vacinação; porém a vacinação e erradicação da doença não podem ser simultâneas por que os métodos sorológicos podem não ser capazes de diferenciar cepas de campo das vacinais, que podem ser mascarados pela vacinação. Por isso países importadores no geral não permitem a entrada de suínos e produtos derivados de países que fazem a vacinação contra CSF (MOENNIG, 2000).

O Brasil iniciou em 1992 os programas oficiais de controle, com o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Peste Suína Clássica. O último episódio de CSF nos estados do Sul, a região de maior importância para a suinocultura no país, ocorreu em 1997 no Paraná. O surto afetou somente uma granja, e as ações de vigilância foram consideradas eficientes; então em 1998 a vacinação foi proibida em todo o território, sendo que antes somente a região Sul era proibida de vacinar o rebanho. Algumas regiões do país ainda registram casos da doença, mas foi declarada erradicada nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul. Por estas áreas estarem vulneráveis e com a população suína suscetível ao CSFV, a monitoria é constante, e a vigilância inclui notificação obrigatória, sacrifício dos suínos afetados e dos contactantes, destruição das carcaças e qualquer material que tenha entrado em contato, controle de trânsito e estabelecimento de zonas de barreira. A exportação do país depende destas medidas de monitoria para continuar com status de erradicação da doença (EDWARDS, 2000a).

Em um rebanho suíno com títulos de anticorpos contra BVDV, a transmissão do CSFV dentro do rebanho pode ser diminuída, resultando em um surto pequeno e autolimitante

que pode passar despercebido e sem ameaças aos animais. Isso torna a detecção e controle do CSFV mais difícil; porém caso ocorra a transmissão entre suínos, aumenta o risco de transmissão do vírus para os rebanhos situados ao redor da granja (TAO et al., 2013b).

A interferência de anticorpos neutralizantes de BVDV ou BD no diagnóstico laboratorial da CSFV foi descrito em várias pesquisas e é consenso geral que eles podem comprometer a interpretação de testes de ELISA e neutralização viral de modo considerável. A especificidade dos testes é de grande importância, pois estes deverão ser confirmados posteriormente pela neutralização, que também pode ter resultados ambíguos. Cepas de pestivírus ruminantes circulando em um rebanho suíno podem comprometer a interpretação da neutralização se forem detectados pelo teste ELISA (WENSVOORT et al., 1994 apud DE SMIT et al., 1999). Isto pode impedir e atrasar decisões que dependem do resultado laboratorial (WIERINGA-JELSMA; QUAK; LOEFFEN, 2006).

A neutralização viral é o teste mais sensível e específico para a detecção de anticorpos contra CSFV. O soro é incubado com uma cepa referência de CSFV: se o soro contiver anticorpos, a cepa viral será neutralizada. Porém a neutralização cruzada por anticorpos de outros pestivírus de ruminantes podem interferir no teste. O diagnóstico diferencial deve ser feito com outro teste de neutralização utilizando cepas de diferentes pestivírus. O teste de neutralização demora no mínimo dois a três dias ou mais se o teste diferencial for feito, além de ser trabalhosa a sua execução. Por isso testes de ELISA, menos sensíveis, são realizados caso seja necessário um número grande de amostras. Porém testes positivos ou indefinidos devem ser testados novamente através de teste de neutralização. Apesar das pesquisas em novos métodos estar progredindo, o padrão ouro dos testes para detecção direta do CSFV ainda é o isolamento em cultura celular (GREISER-WILKE; BLOME; MOENNIG, 2007). O vírus pode ser isolado da capa leucocitária ou de órgãos de animais virêmicos, como baço, tonsilas e linfonodos. Como o CSFV é não citopático, anticorpos específicos são utilizados para detectar o vírus na cultura celular. Aqui a diferenciação de pestivírus de ruminantes é feita com anticorpos monoclonais específicos (WENSVOORT et al., 1989). Estudos anteriores provaram as diferenças antigênicas entre BVDV e CSFV na neutralização, apesar da reatividade cruzada nos testes de fixação do complemento, imunofluorescência e agar gel difusão (DE SMIT et al., 1999). A partir disso, vários estudos de diferenciação em testes baseados em anticorpos monoclonais foram realizados (FERNELIUS et al., 1972; EDWARDS; MOENNIG; WENSVOORT, 1991). Testes menos sensíveis porém mais rápidos podem ser feitos, como a pesquisa de antígeno em órgãos utilizando anticorpos fluorescentes (28). Foi sugerido um ponto de corte de 1:25 para a neutralização viral, otimizando a

interpretação do teste e reduzindo o número de amostras a serem retestadas (TERPSTRA et al., 1984 apud SMIT et al., 1999), por causa de reatividade cruzada de títulos baixos de BVDV ou BDV (WIERINGA-JELSMA; QUAK; LOEFFEN, 2006).

Comparada a outras técnicas, a RT-PCR é rápida, específica e sensível (ZHENG, 2011 apud TAO et al., 2013b). Foi possível selecionar iniciadores para a região 5' UTR dos pestivírus que conseguiram diferenciar CSFV e BVDV (CANAL et al., 1996). Foi desenvolvida uma TaqMan real-time RT-PCR para quantificação e diferenciação de cepas de campo de CSFV, cepa vacinal de CSFV e BVDV-1 (ZHANG et al., 2012). Este método é sensível, permitindo detecção da infecção em estágios iniciais. Além disso, casos de suínos persistentemente infectados podem ser detectados, já que estes animais não produzem anticorpos.

2.4 Outros pestivírus

2.4.1 Doença da Fronteira (BD)

A Doença da Fronteira é uma doença de ovinos e caprinos que causa na maioria das vezes sinais reprodutivos, podendo ser congênita, mas também aguda. Foi reconhecida pela primeira vez em 1959 na região de fronteira entre a Inglaterra e Wales, e está disseminada pela Europa, Austrália e América do Norte (NETTLETON et al., 1998). Existem cepas de campo dos dois biotipos, assim como nas espécies de BVDV, sendo duas cepas, uma CP e uma NCP, isoladas nos anos 80 de uma ovelha com sinais semelhantes à doença das mucosas (MONIES; PATON; VILCEK, 2004).

A infecção aguda de ovelhas não prenhes e de animais jovens é geralmente subclínica, e pode cursar com febre leve e leucopenia transitória, percebidas de quatro a onze dias após infecção e associadas a uma viremia curta. Cepas causando febre alta, anorexia e sinais mais graves foram identificadas em surtos na França em 1984. Porém sinais clínicos mais evidentes são vistos na infecção de ovelhas prenhes, em que o vírus atravessa a barreira transplacentária e causa infecção do feto, resultando em reabsorção, abortamentos, nascimento de cordeiros fracos e inviáveis, além de malformações congênitas (RIDPATH; FLORES, 2007).

Os sinais clínicos em cordeiros nascidos vivos são muito variáveis. Os filhotes são geralmente pequenos, fracos e não conseguem se manter em pé. São comuns sinais neurológicos como tremores violentos ou finos nos membros, cabeça e cauda (NETTLETON et al., 1998), e anormalidades e mudança na cor e textura da lã. A maioria dos cordeiros morre

pouco depois do nascimento, mas alguns conseguem se recuperar inclusive dos sinais neurológicos (MONIES; PATON; VILCEK, 2004).

A infecção de fêmeas prenhes até 80 dias de gestação pode gerar filhotes persistentemente infectados, assim como ocorre com bovinos e infecção congênita por BVDV. Cordeiros que nascem com sinais clínicos tem pouca chance de sobrevivência e morrem cedo, tendo imunodepressão e suscetibilidade a vários outros agentes. Filhotes menos afetados podem sobreviver, mas a morte pode ocorrer a qualquer momento. Alguns animais persistentemente infectados (PI) podem se tornar adultos e excretar o vírus por anos (NETTLETON, 1990).

BDV já foi descrita na Escócia, Nova Zelândia, Irlanda, Austrália, USA, Suíça, Grécia, Holanda, Canadá, Noruega, Alemanha, Síria, França e Suécia, além de Israel e África do Norte (NETTLETON, 1990). Não há relatos desta doença no Brasil. A soroprevalência nos países em que a doença é presente varia de 5 a 50%, entre países e regiões (NETTLETON; WILLOUGHBY, 2007).

O vírus não é estável no ambiente mas a transmissão tem sucesso graças a excreção de altos títulos pelos animais PI, sendo necessário vários anos para que o vírus se propague em criações extensivas. Em criações com maior densidade e maior contato entre os ovinos a propagação é mais fácil, e surtos em cordeiros ocorrem com maior frequência em ovelhas estabuladas na época da gestação (NETTLETON et al., 1998). Além de ovinos, o BDV pode infectar também caprinos, bovinos (BECHER et al., 1997) e suínos (KAWANISHI et al., 2014), além de animais biungulados silvestres (BECHER et al., 1999).

O diagnóstico da infecção pelo BDV pode ser realizado por isolamento viral ou pela técnica de imuno-histoquímica nos tecidos. Soroneutralização e ELISA podem ser utilizados na detecção de anticorpos (RIDPATH; FLORES, 2007; NETTLETON et al., 1998). Para diagnóstico do rebanho, todos os animais do grupo suspeito devem ter o sangue coletado para detectar ovinos soronegativos, e presença do vírus em animais PI. Para a determinação da extensão da infecção, 10% dos animais de diferentes idades devem ser testados na sorologia.

2.4.2 Diarréia Viral Bovina

O BVDV está presente no mundo todo e causa grandes prejuízos econômicos para a criação de bovinos (HOUE, 1999; HOUE, 2003). Os primeiros casos descritos eram de uma doença grave porém raramente fatal, seguidos de relatos de sintomatologia leve a branda de

curta duração (OLAFSON; MACCALLUM; FOX, 1946). Porém nas últimas décadas surtos graves relacionados à infecção aguda por BVDV tem sido relatados (RIDPATH et al., 2006).

O BVDV foi segregado em duas espécies distintas (THIEL et al., 2005), o BVDV-1 e BVDV-2, sendo assim classificados pois possuem alta variabilidade do genoma. Essa diversificação genética é o resultado de mutações devido a erros da RNA-polimerase e recombinações de RNA viral homólogo ou heterólogo dentro da célula hospedeira (NAGAI et al., 2004). Enquanto existem similaridades entre BVDV-1 e BVDV-2, há diferenças biológicas significantes entre os isolados das duas espécies (RIDPATH, 2003). A reatividade sorológica cruzada entre BVDV-1 e BVDV-2 é geralmente baixa, e isto apresenta implicações importantes para o diagnóstico e eficácia das vacinas (RIDPATH; FLORES, 2007).

As duas espécies, tanto BVDV-1 quanto BVDV-2, na sua maioria levam a infecções com sinais clínicos leves. A infecção aguda em animais adultos pelo BVDV normalmente tem curso sub-clínico, porém as consequências desta infecção dependem de uma variedade de fatores, incluindo a cepa viral e o biotipo, o sistema imune do animal, a fase de reprodução em que se encontra, e se há outras infecções acometendo o hospedeiro (RIDPATH; FLORES, 2007). Os anticorpos adquiridos após uma infecção aguda protegem o animal da re-infecção pela vida toda (PETERHANS; BACHOFEN; STALDER, 2010).

Em animais não prenhes, a infecção geralmente é sub-clínica, porém sinais brandos como febre curta, sinais respiratórios, gastroentéricos e leucopenia podem estar presentes, sendo o período de incubação da doença de três a sete dias. Um sinal clínico que pode ocorrer no gado leiteiro é o decréscimo na produção diária de leite (MOERMAN et al., 1994).

A virulência e quadros clínicos gerados pelas diferentes cepas de BVDV pode ser de grande variabilidade. Surtos com sintomatologia grave tem sido relacionados ao BVDV-2, porém já foram relatados surtos graves em que o agente detectado foi uma cepa de BVDV-1 (LUNARDI et al., 2008). Porém as maiores diferenças entre quadros clínicos é pronunciada entre as cepas de BVDV-2, que podem gerar de sintomatologia subclínica semelhante à maioria dos BVDV-1 a febres de quase 42°C que perduram por três dias ou mais, com diminuição dos linfócitos em 40% e plaquetas em 60% (FALKENBERG; BAUERMANN; VANDERLEY, 2013). Algumas cepas não citopáticas de BVDV-2 podem causar síndrome hemorrágica com grave quadro clínico. Vários surtos desta síndrome hemorrágica foram descritos, resultando em média de 20% de mortalidade, com sinais predominantes de febre, diarreia sanguinolenta, hemorragias e tempo de coagulação retardado (RIDPATH, 2003). Este quadro foi posteriormente denominado de BVD aguda hemorrágica. A citopatogenicidade em cultivo celular de um pestívirus, no entanto, não está correlacionada com virulência. A

maioria das cepas virulentas de campo são do biotipo NCP (PETERHANS; BACHOFEN; STALDER, 2010).

A infecção pelo BVDV em fêmeas prenhes suscetíveis cursa com transmissão transplacentária do vírus. As consequências desta infecção para o concepto dependem da idade gestacional em que ocorre a infecção e da cepa do vírus. No início da gestação pode ocorrer reabsorção embrionária e retorno ao estro; se um feto for infectado, podem ocorrer abortos, mumificação fetal, natimortos ou bezerros fracos e inviáveis ou o nascimento de animais PI. A infecção no terço final da gestação frequentemente leva ao nascimento de bezerros normais, livres do vírus (RIDPATH; FLORES, 2007).

A infecção intra-uterina dos 40 aos 120 dias de gestação pode gerar bezerros PI. O sistema imune do feto não está desenvolvido e falha ao montar a resposta imune, desenvolvendo imunotolerância à cepa infectante. Somente cepas NCP são capazes de estabelecer e manter infecção persistente (PETERHANS; BACHOFEN; STALDER, 2010).

Os animais PI podem apresentar crescimento retardado, malformações congênitas, doenças crônicas intestinais e pulmonares, ou serem aparentemente normais (BACHOFEN; BRAUN; HILBE, 2010). Eles replicam e excretam o vírus em altos títulos nas secreções durante toda a vida, constituindo-se no principal reservatório e fonte de disseminação viral entre os animais (ARENHART; BAUERMAN; OLIVEIRA, 2009). A maioria dos bezerros PI sobrevivem por poucos meses, no entanto alguns podem sobreviver até os dois anos ou mais. Estes animais que sobrevivem até a idade adulta podem se tornar reprodutores, e transmitir o vírus pelo sêmen ou, no caso das fêmeas PI, gerar bezerros PI (RIDPATH; FLORES, 2007).

Os animais PI podem desenvolver um quadro clínico fatal denominado Doença das Mucosas (DM). O mecanismo da DM está associado ao surgimento do biotipo citopático da cepa de BVDV a qual o animal PI é imunotolerante. Este biotipo surge como resultado de mutações, rearranjos, deleções ou recombinação da cepa NCP, quase sempre resultando na expressão da proteína NS3 (BACHOFEN; BRAUN; HILBE, 2010). Esta doença é caracterizada por lesões nas mucosas do trato gastrointestinal, destruição de tecido linfóide, diarreia (LIEBLER-TENORIO; LANWEHR; GREISER-WILKE, 2000), febre, leucopenia, inapetência, desidratação. O conteúdo intestinal é escuro e aquoso e observa-se enterite catarral ou hemorrágica. A letalidade é próxima de 100% (RIDPATH; FLORES, 2007).

A infecção por BVDV em bovinos foi descrita pela primeira vez por Olafson et al em 1946, e quatro décadas se passaram até a compreensão da infecção uterina, geração de animais PI e doença das mucosas. O BVDV tem se mostrado endêmico em todos os países em

que investigações foram feitas. Muitos estudos tem mostrado prevalência de animais PI entre 0,5 e 2%, e soropositividade no rebanho de 60 a 85%. Na maioria dos países os rebanhos estão infectados principalmente com cepas de BVDV-1, entretanto nas Américas o BVDV-2 tem se tornado comum (HOUE, 1999): na América do Norte BVDV-2 representa aproximadamente 50% dos isolados, enquanto na Europa essa porcentagem é pequena e a predominância é de isolados de BVDV-1 (MOENNIG; HOUE; LINDBERG, 2007).

Animais PI são a maior fonte de infecção do BVDV, excretando o vírus em altas quantidades continuamente no ambiente. Já os animais em infecção aguda secretam pequena quantidade de vírus apenas por alguns dias, sendo a transmissão para o rebanho menos eficiente do que o contato direto com um PI. Touros persistentemente infectados também podem excretar altos títulos do vírus no sêmen, sendo a inseminação artificial e até a transferência de embriões uma fonte de infecção. Transmissão indireta pode ocorrer através de diversos fômites, apesar de o BVDV ser inativado facilmente e ter período de infectividade curto fora do hospedeiro (LINDBERG; ALENIUS, 1999).

A transmissão do BVDV entre bovinos e pequenos ruminantes é possível, e o vírus já foi detectado em diferentes ruminantes biungulados: domésticos como ovelhas, cabras (KRAMETTER-FROETSCHER et al., 2010) e camelos (GAO et al., 2013), e silvestres como cervos (PASSLER et al., 2009), alpacas (KIM et al., 2009) e antílopes. Em não-ruminantes, porcos (TAO et al., 2013a) podem ser infectados e manifestarem sintomatologia, e coelhos (BACHOFEN; GRANT; WILLOUGHBY, 2014) podem replicar o vírus.

2.5 Pestivírus atípicos

O gênero *Pestivirus*, além das quatro espécies reconhecidas, possui quatro tentativas de espécies propostas para este gênero, com base em análises filogenéticas. Estas 4 espécies propostas são: giraffe pestivirus, 'HoBi'-like vírus, pronghorn e Bungowannah. Três destas espécies propostas (giraffe, pronghorn, e Bungowannah) foram isoladas cada uma de um único animal ou de um surto em apenas uma região geográfica distinta; já os 'HoBi'-like vírus foram isolados de animais na América do Sul, Ásia e Europa (FALKENBERG; BAUERMANN; VANDERLEY, 2013).

2.5.1 Pestivírus de Girafa

A cepa H138 foi identificada em março de 1967, de uma girafa cativa no distrito de Nanyuki, no Quênia (PLOWRIGHT, 1969). Esta girafa era somente uma de muitos animais que estavam sofrendo com quadro clínico semelhante à doença das mucosas. No pós-mortem um agente citopático foi isolado facilmente em cultivo primário de tecidos bovinos, e neutralizado com anticorpos contra uma cepa de BVDV-1 (HARASAWA et al., 2000). A taxonomia da cepa 'Giraffe' tem sido examinada através de análises filogenéticas baseadas nos genes E2, N^{pro} e genoma completo, mostrando ser distinta dos outros pestivírus (BECHER et al., 1999; AVALOS-RAMIREZ; ORLICH; THIEL, 2001) .

Estudos recentes tentam descobrir a origem desta cepa através de análises filogenéticas e bioinformática. Em um estudo que inferiu a evolução histórica das espécies de pestivírus, foi inferido que BVDV-1, BVDV-2, 'HoBi'-like e pestivírus de girafa compartilham um ancestral comum (LIU; XIA; WAHLBERG, 2009). Recentemente, uma cepa bovina de pestivírus foi sugerida como segundo membro da espécie (BECHER et al., 2014).

2.5.2 'HoBi'-like vírus

As tentativas de espécie referidas como 'HoBi'-like se referem a um vírus descrito primeiramente por pesquisadores da Europa em 2004, e que foi isolado de um lote de soro fetal bovino (SFB) importado do Brasil (SCHIRMEIER et al., 2004). A partir deste relato, muitos agentes geneticamente semelhantes foram encontrados como contaminantes de SFB e cultivos celulares. Porém infecção natural de bovinos e búfalos por estas cepas também já foram relatados na Ásia (STAHL et al., 2007), Itália (DECARO et al., 2012c), Estados Unidos da América (XIA et al., 2011) e Brasil (BIANCHI et al., 2011). O nome 'HoBi'-like vírus é derivado do nome do primeiro isolado relatado, HoBi_D32/00. Alguns autores também se referem a estes vírus como BVDV-3, por sua semelhança na sintomatologia com as outras espécies de BVDV, porém eles são geneticamente distantes e antigenicamente distintos (BAUERMANN; FLORES; RIDPATH, 2012).

Infecção experimental em bovinos demonstrou que 'HoBi'-like vírus cursam com sintomas semelhantes aos da infecção por cepas de BVDV com baixa virulência. Foi observada febre e decréscimo no número de linfócitos circulantes (FALKENBERG; BAUERMANN; VANDERLEY, 2013). Porém a gravidade do quadro clínico pode estar

sujeita aos mesmos fatores de que depende a infecção pelo BVDV: fatores relacionados ao hospedeiro e à cepa. Portanto sinais clínicos leves após infecção por estes vírus podem não ser as únicas consequências. Cepas NCP e CP foram isoladas de um mesmo bovino que morreu por doença respiratória (DECARO et al., 2012c), e há relato destas cepas causando surtos de aborto em vacas múltíparas (DECARO et al., 2012a) e surto de doença respiratória em um rebanho na Europa (DECARO; LUCENTE; MARI, 2011); cepa CP foi detectada causando quadro semelhante à DM em um rebanho no Brasil (WEBER et al., 2014). Também há relato de um bovino com quadro característico de animal PI causado por um ‘HoBi’-like vírus (DECARO et al., 2013). Com objetivo de determinar possíveis hospedeiros, bezerros, cordeiros e leitões foram infectados experimentalmente: bezerros e cordeiros foram infectados, demonstrando sinais respiratórios, febre, leucopenia, viremia e excreção do vírus via nasal e fecal. Os leitões não demonstraram infecção, apesar de anticorpos terem sido detectados (DECARO et al., 2012b).

Desde a primeira descrição da cepa D32/00_‘HoBi’, muitas outras cepas foram detectadas e relatadas, fazendo surgir duas preocupações: a contaminação de produtos biológicos e biossegurança laboratorial, e a emergência destes pestívirus, provavelmente via produtos biológicos como vacinas, com a possibilidade de prejuízos na saúde animal e controle de doenças (STAHL; BEER; SCHIRRMIEIER, 2010).

2.5.3 Vírus Pronghorn

Em 2005, uma cepa de pestívirus foi isolada de um antílope Pronghorn (*Antilocopra americana*) encontrado cego, e enviado ao Wyoming State Veterinary Laboratory, nos EUA. A soroneutralização sugeriu que este vírus era antigenicamente relacionado aos pestívirus. A partir da análise do genoma, características genéticas únicas dos pestívirus como a presença da região N^{pro} no genoma foram identificadas, indicando que o vírus pertence ao gênero *Pestivirus*. A análise das regiões 5'-UTR, N^{pro} e E2 sugere que o vírus Pronghorn é uma cepa divergente de todos os outros pestívirus já identificados, sendo esta uma das tentativas de espécie do gênero (VILCEK et al. 2005). Até agora, esta é a única cepa que representa esta espécie, e a única cepa de pestívirus primeiramente isolada de um animal silvestre do Novo Mundo (VILCEK; NETTLETON, 2006).

2.5.4 Bungowannah

Este pestivírus foi identificado em um surto em suínos ocorrido em 2003 na Austrália. O surto foi caracterizado por mortalidade neonatal e fetos mumificados, e o achado patológico mais marcante nos leitões foi uma miocardite não-supurativa multifocal. A pesquisa do possível agente causal resultou na identificação de um pestivírus atípico (KIRKLAND et al., 2007) com baixa identidade de sequência genômica e reatividade sorológica cruzada limitada com todos os outros membros do gênero. Este agente foi denominado “Bungowannah vírus” (RICHTER et al., 2014).

A apresentação clínica tem semelhanças com a infecção uterina causada por CSFV, BVDV e BDV. Também causa mortalidade em leitões de três a quatro semanas e aumenta o número de natimortos em fêmeas afetadas. Além destes sinais, a miocardite se tornou um forte indício do vírus Bungowannah. As perdas de leitões podem ultrapassar os 50%, e este vírus não é detectado por métodos diagnósticos que eram considerados como reagentes para todos os membros do gênero *Pestivirus*. Ainda não foram relatados casos desta doença fora da Austrália (ABRAHANTE et al., 2014).

3 CONCLUSÕES

Suínos são hospedeiros usuais do CSFV, entretanto, outros pestivírus também podem ultrapassar a barreira de espécies e infectá-los. O BVDV é um importante patógeno de bovinos e causa perdas econômicas no mundo todo, contudo, já foi detectado causando infecção em suínos, seja em infecções subclínicas ou cursando com vários sinais semelhantes a BVD em bovinos.

A suinocultura brasileira é a quarta maior exportadora deste produto no mundo e os estados do Sul do Brasil contribuem com a maioria da produção. Assim, o investimento no controle e prevenção de doenças que possam afetar a saúde dos animais e a economia do setor é de grande importância. O BVDV em suínos ainda não é pesquisado nos rebanhos suínos, porém pode cursar com sintomatologia leve a subclínica, semelhante aos quadros de CSFV. Esta infecção pode levar a diminuição no desempenho dos animais, levando a perdas econômicas ainda não conhecidas.

O rebanho suíno do sul do Brasil é considerado livre do CSFV, sendo este um requisito da maioria dos países importadores de carne e derivados suínos. Como esta população é vulnerável e suscetível ao CSFV, a monitoria da doença nas granjas é muito importante. O BVDV, por ter reatividade sorológica cruzada com o CSFV, pode interferir em alguns testes, principalmente os que utilizam anticorpos, e prejudicar o diagnóstico gerando resultados falsos positivos. Por estas razões, testes diagnósticos, bem como a biologia e genética das cepas de BVDV em suídeos devem ser estudadas e esclarecidas.

REFERÊNCIAS

- ABRAHANTE, J. E. et al. Surveillance of bungowannah pestivirus in the upper midwestern USA. **Transboundary and Emerging Diseases**, Berlin, v. 61, n. 4, p. 375-377, Aug. 2014.
- ARENHART, S. et al. Excreção e transmissão do vírus da diarreia viral bovina por bezerros persistentemente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 9, p. 736-742, set. 2009.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA PRODUTORA E EXPORTADORA DE CARNE SUÍNA. **Produção mundial de carne suína**. São Paulo, [2014]. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br/pt/estatisticas/mundial/producao-2.html>>. Acesso em: 8 jun. 2014.
- AVALOS-RAMIREZ, R. et al. Evidence for the presence of two novel pestivirus species. **Virology**, New York, v. 286, n. 2, p. 456-465, Aug. 2001.
- BACHOFEN, C. et al. Clinical appearance and pathology of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus of different genetic subgroups. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 141, n. 3-4, p. 258-267, Mar. 2010.
- BACHOFEN, C. et al. Experimental infection of rabbits with bovine viral diarrhoea virus by a natural route of exposure. **Veterinary Research**, Paris, v. 45, n. 2, p. 34-42, Apr. 2014.
- BARCELLOS, D. E. S. N. et al. Relação entre ambiente, manejo e doenças respiratórias em suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 36, n. s1, p. 87-93, 2008.
- BAUERMAN, F. ; V. FLORES, E. F. ; RIDPATH, J. F. Antigenic relationships between Bovine viral diarrhoea virus 1 and 2 and HoBi virus: possible impacts on diagnosis and control. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 24, n. 2, p. 253-261, Mar. 2012.
- BECHER, P. et al. Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. **The Journal of General Virology**, London, v. 78, n. 6, p. 1357-1366, June 1997.
- BECHER, P. et al. Genetic diversity of pestiviruses: identification of novel groups and implications for classification. **Virology**, New York, v. 262, n. 1, p. 64-71, Sept. 1999.
- BECHER, P. ; TAUTZ, N. RNA recombination in pestiviruses: cellular RNA sequences in viral genomes highlight the role of host factors for viral persistence and lethal disease. **RNA Biology**, Georgetown, v. 8, n. 2, p. 216-224, Mar./Apr. 2011.
- BECHER, P. et al. Complete genome sequence of bovine pestivirus Strain PG-2 , a second member of the tentative pestivirus species Giraffe. **Genome Announcements**, Washington, v. 2, n. 3, p. 3-4, May 2014.
- BIANCHI, E. et al. Perfil genotípico e antigênico de amostras do vírus da diarreia viral bovina isoladas no Rio Grande do Sul (2000-2010). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 8, p. 649-655, ago. 2011.
- BOLIN, S. R. ; MATTHEWA, P. J. ; RIDPATH, J. F. Methods for detection and frequency of contamination of fetal calf serum with bovine viral diarrhoea virus and antibodies against bovine viral diarrhoea virus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 3, n. 3, p. 199- 203, July 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano de contingência para peste suína clássica**. Brasília, DF, [20--?]. 24 p. Disponível em: <http://www.adagri.ce.gov.br/Docs/menu/peste_suina_classica_plano_de_contingencia.pdf>. Acesso em: 11 jun 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Suínos**. Brasília, DF, 2008. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos>>. Acesso em: 8 jun. 2014.

BROWNLIE, J. et al. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. **Annals of Veterinary Research**, Paris, v. 18, n. 2, p. 157, 166, 1987.

CANAL, C. W. et al. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 63, n. 2, p. 85-97, Oct. 1998.

DAHLE, J. ; LIESS, B. ; FREY, H. R. Interspecies transmission of pestiviruses: experimental infections with bovine viral diarrhoea virus in pigs and hog cholera virus in cattle. **Deutsche tierärztliche Wochenschrift**, Hannover, v. 94, n. 10, p. 195-211, 1987.

DE SMIT, A. et al. Transmission of classical swine fever virus by artificial insemination. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 67, n. 4, p.239–249, July 1999a.

DE SMIT, A. J. et al. Laboratory decision-making during the classical swine fever epidemic of 1997-1998 in the Netherlands. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 42, n. 3, p. 185-199, Dec. 1999b.

DECARO, N. et al. Atypical pestivirus and severe respiratory disease in calves, Europe. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 17, n. 8, p. 1549-1552, Aug. 2011.

DECARO, N. et al. Hobi-like pestivirus in aborted bovine fetuses. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 50, n. 2, p. 509-512, Feb. 2012a.

DECARO, N. et al. Experimental infection of cattle, sheep and pigs with 'Hobi'-like pestivirus. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 155, n.2, p. 165-171, Mar. 2012b.

DECARO, N. et al. Hobi-like pestivirus: both biotypes isolated from a diseased animal. **The Journal of General Virology**, London, v.93, n. 9, p. 1976-1983, Sep. 2012c.

DECARO, N. et al. Persistent infection caused by Hobi-like pestivirus. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 51, n. 4, p. 1241-1243, Apr. 2013.

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

DENG, Y. ; SUN, C. ; CAO, S. et al. High prevalence of bovine viral diarrhoea virus 1 in Chinese swine herds. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 159, n. 3, p. 490-493, Oct. 2012.

DENG, Y. et al. Genomic characterization of a bovine viral diarrhoea virus 1 isolate from swine. **Archives of Virology**, Apr. 2014. No prelo.

- EDWARDS, S. ; MOENNIG, V. ; WENSVOORT, G. The development of an international reference panel of monoclonal antibodies for the differentiation of hog cholera virus from other pestiviruses. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 29, n. 2, p. 101-108, Oct. 1991.
- EDWARDS, S. et al. Classical swine fever: the global situation. **Veterinary microbiology**, Amsterdam, v. 73, n. 2-3, p. 103-119, Apr. 2000a.
- EDWARDS, S. Survival and inactivation of classical swine fever virus. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 73, n. 2-3, p. 175-181, Apr. 2000b.
- FALKENBERG, S. M. ; BAUERMANN, F. V. ; VANDERLEY, B. L. Comparison of acute infection of calves exposed to a high-virulence or low-virulence bovine viral diarrhoea virus or a HoBi-like virus. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 74, n. 3, p. 438-442, Mar. 2013.
- FERNELIUS, A. L. et al. Bovine viral diarrhoea virus in swine: characteristics of virus recovered from naturally and experimentally infected swine. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Gardenvale, v.37, n. 1, p. 13–20, Jan. 1973.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Pigs and Animal Production**. Rome, 2012. Disponível em:
<<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/pigs/production.html>>. Acesso em: 10 jun. 2014.
- GAO, S. et al. Serological and molecular evidence for natural infection of Bactrian camels with multiple subgenotypes of bovine viral diarrhoea virus in Western China. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 163, n. 1, p. 172-176, Apr. 2013.
- GRAHAM, D. A .et al. Pestiviral infections in sheep and pigs in Northern Ireland. **Veterinary Record**, London, v. 148, n. 3, p. 69-72, Jan. 2001.
- GREISER-WILKE, I. ; BLOME, S. ; MOENNIG, V. Diagnostic methods for detection of Classical swine fever virus-status quo and new developments. **Vaccine**, Guildford, v. 25, n. 30, p. 5524-5530, July 2007.
- HARASAWA, R. et al. Giraffe based strain on the of Pestivirus : its taxonomic region status. **Microbiology and Immunology**, Tokio, v. 44, n. 11, p. 915-921, Nov. 2000.
- HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 64, n. 2-3, p. 89-107, Jan 1999.
- HOUE, H. Economic impact of BVDV infection in dairies. **Biologicals**, London, v. 31, n. 2, p. 137-143, June 2003.
- JENSEN, M. H. Screening for neutralizing antibodies against hog cholera- and/or bovine viral diarrhoea virus in Danish pigs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 26, n. 1, p. 72-80, 1985.
- KAWANISHI, N. et al. First isolation of border disease virus in Japan is from a pig farm with no ruminants. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 171, n. 1-2, p. 210-214, June 2014.

- KIM, S. G. et al. Genotyping and phylogenetic analysis of bovine viral diarrhoea virus isolates from BVDV infected alpacas in North America. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 136, n. 3, p. 209-216, May 2009.
- KIRKLAND, P. D. et al. Identification of a novel virus in pigs- Bungowannah virus: a possible new species of pestivirus. **Virus Research**, Amsterdam, v. 129, n. 1, p. 26-34, Oct. 2007.
- KRAMETTER-FROETSCHER, R. et al. Pestivirus infection in sheep and goats in West Austria. **Veterinary Journal**, London, v. 186, n. 3, p. 342-346, Dec. 2010.
- KÜMMERER, B. ; M; MEYERS, G. Correlation between Point Mutations in NS2 and the Viability and Cytopathogenicity of Bovine Viral Diarrhoea Virus Strain Oregon Analyzed with an Infectious cDNA Clone. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 74, n. 1, p. 390-400, Jan. 2000.
- LANGOHR, I. M. et al. Experimental co-infection of pigs with Bovine viral diarrhoea virus 1 and Porcine circovirus-2. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 24, n.1, p. 51-64, Jan. 2012.
- LIEBLER-TENORIO, E. M. et al. Comparative investigation of tissue alterations and distribution of BVD-viral antigen in cattle with early onset versus late onset mucosal disease. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 77, n. 1-2, p. 163-174, Nov. 2000.
- LIESS, B. ; MOENNIG, V. Ruminant pestivirus infection in pigs. **Scientifique et Technique**, Paris, v. 9, n. 1, p. 151-161, Mar. 1990.
- LINDBERG, A. L. ; ALENIUS, S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 64, n.2, p. 197-222, Jan. 1999.
- LINDENBACH, B. D. et al. *Flaviviridae*. In: KNIPE, D. M. ; HOWLEY, P. M (Ed.). **Fields Virology**. 6 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013, v. 1, cap. 25, p. 735-746.
- LIU, L. et al. Phylogeny, classification and evolutionary insights into pestiviruses. **Virology**, New York, v. 385, n. 2, p. 351-357, Mar. 2009.
- LOAN, R. W. ; STORM, M. M. Propagation and transmission of hog cholera virus in non-porcine hosts. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 29, n. 4, p. 807-811, Apr. 1968.
- LOKEN, T. ; KROGSRUD, J ; LARSEN, I. Pestivirus infections in Norway: serological investigations in cattle, sheep and pigs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 32, n. 1, p. 27-34, 1991.
- LUNARDI, M. et al. Outbreak of acute bovine viral diarrhoea in Brazilian beef cattle: clinicopathological findings and molecular characterization of a wild-type BVDV strain subtype 1b. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 85, n. 3, p. 599-604, Dec. 2008.
- MAKOSCHEY, B. et al. Leukopenia and thrombocytopenia in pigs after infection with bovine viral diarrhoea virus-2 (BVDV-2). **Dtsch. Tierarztl. Wochenschr**, Hannover, v. 109, n. 5, p. 225-230, May 2002.

- MÄTZENER, P. et al. The viral RNase E(rns) prevents IFN type-I triggering by pestiviral single- and double-stranded RNAs. **Virus Research**, Amsterdam, v.140, n. 1-2, p. 15-23, Mar. 2009.
- MENDEZ, E. et al. Infectious bovine viral diarrhoea virus (Strain NADL) RNA from stable cDNA clones : a cellular insert determines NS3 production and viral cytopathogenicity. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 72, n. 6, p. 4737-4745, June 1998.
- MOENNIG, V. ; FLOEGEL-NIESMANN, G. ; GREISER-WILKE, I. Clinical signs and epidemiology of Classical Swine Fever: a review of new knowledge. **The Veterinary Journal**, London, v. 165, n. 1, p. 11-20, Jan.2003.
- MOENNIG, V. Introduction to classical swine fever: virus, disease and control policy. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 73, v. 2-3, p. 93-102, Apr. 2000.
- MOENNIG, V. ; HOUE, H . ; LINDBERG, A. BVD control in Europe: current status and perspectives. **Animal Health Research Reviews**, Wallingford, v. 6, n. 1, p. 63-74, June 2005.
- MOERMAN, A. et al. Clinical consequences of a bovine virus diarrhoea virus infection in a dairy herd : A longitudinal study. **Veterinary Quarterly**, Boston, v, 16, n. 2, p. 115-119, July 1994.
- MONIES, R. J. ; PATON, D. J. ; VILCEK, S. Mucosal disease-like lesions in sheep infected with Border disease virus. **Veterinary Record**, London, v. 155, n. 24, p. 765-769, Dec. 2004.
- NAGAI, M. et al. Phylogenetic analysis of bovine viral diarrhoea viruses using five different genetic regions. **Virus Research**, Amsterdam, v. 99, n. 2, p. 103-113, Feb.2004.
- NEILL, J. D. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus. **Biologicals**, London, v. 41, n. 1, p. 2-7, Jan. 2013.
- NETTLETON, P. F. Pestivirus infections in ruminants other than cattle. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, Paris, v. 9, n. 1, p. 131-150, Mar. 1990.
- O' CONNOR, M. ; LENIHAN, P. ; DILLON, P. Pestivirus antibodies in pigs in Ireland. **Veterinary Record**, London, v. 129, n. 12, p. 269-273, Sep. 1991.
- NETTLETON, P. F. et al. Border disease of sheep and goats. **Veterinary Research**, Paris, v. 29, n. 3-4, p. 327-340, May-Aug. 1998.
- OLAFSON, P. ; MACCALLUM, A.D. ; FOX, F.H. An apparently new transmissible disease of cattle. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 36, p. 205-213, July 1946.
- O'SULLIVAN, T. et al. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea virus neutralizing antibodies in finisherhogs in Ontario swine herds and targeted diagnostic of 2 suspect herds. **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, v. 52, n. 12, p. 1342-1344, Dec. 2011.
- PASSLER, T. et al. Cohabitation of pregnant white-tailed deer and cattle persistently infected with Bovine viral diarrhoea virus results in persistently infected fawns. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 134, n. 3, p. 362-367, Mar.2009.

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

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**, London, v. 131, n. 9, p. 185-188, Aug. 1992.

PATON, D. J. ; DONE, S. H. Congenital infection of pigs with ruminant-type pestiviruses. **Journal of Comparative Pathology**, Liverpool, v. 111, n. 2, p. 151-163, Aug. 1994.

PATON, D. J. ; GREISER-WILKE, I. Classical swine fever – an update. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 75, n. 3, p. 169-178, Dec. 2003.

PETERHANS, E. et al. Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV): emerging pestiviruses doomed to extinction. **Veterinary Research**, Paris, v. 41, n. 6, p. 41-44, Nov.-Dec. 2010.

RICHTER, M. et al. N pro of Bungowannah virus exhibits the same antagonistic function in the IFN induction pathway than that of other classical pestiviruses. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 168, n. 2, p. 340-347, Jan. 2014.

RIDPATH, J. F. ; FLORES, E. F. *Flaviviridae*. In: FLORES, E. F. (Org.). **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2007. p. 565-591.

RIDPATH, J. F. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. **Biological**, London, v. 31, n. 2, p.127-131, June 2003.

RIDPATH, J.F. et al. Multiple outbreaks of severe acute BVDV in North America occurring between 1993 and 1995 linked to the same BVDV2 strain. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 114, n. 3-4, p. 196-204, May 2006.

RONECKER, S. et al. Formation of bovine viral diarrhoea virus E1-E2 heterodimers is essential for virus entry and depends on charged residues in the transmembrane domains. **The Journal of General Virology**, London, v. 89, n. 9, p. 2114-2121, Sep. 2008.

SCHIRRMIEIER, H. et al. Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species. **The Journal of General Virology**, London, v. 85, n. 12, p. 3647-3652, Dec. 2004. SIMMONDS, P. et al. Family *Flaviviridae*. **Virus Taxonomy**: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses, Academic Press, Amsterdam, 2011, p. 1003– 1020. SNOWDON, W.A.; FRENCH, E.L. The bovine mucosal disease-swine fever virus complex in pigs. **Australian Veterinary Journal**, v. 44, n. 4, p. 179–184, Apr. 1968..

STAHL, K. et al. Natural infection of cattle with an atypical “HoBi”-like pestivirus— implications for BVD control and for the safety of biological products. **Veterinary Research**, Paris, v. 38, n. 3, p. 517–523, May 2007.

STAHL, K. et al. 'HoBi'-like pestiviruses -recent findings and implications thereof. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 142, n. 1, p. 90-93, Apr. 2010.

TAJIMA, M. et al. Prevalence of genotypes 1 and 2 of bovine viral diarrhoea virus in Lower Saxony, Germany. **Virus Research**, Amsterdam, v. 76, n. 1, p. 31-42, July 2001.

- TAO, J. et al. Identification and genetic characterization of new bovine viral diarrhoea virus genotype 2 strains in pigs isolated in China. **Virus Genes**, Boston, v. 46, n. 1, p. 81-87, Feb. 2013a.
- TAO, J. et al. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in pigs. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 165, n. 3, p. 185-189, Aug. 2013b.
- TERPSTRA, C. ; WENSVOORT, G. Natural infections of pigs with bovine viral diarrhoea virus associated with signs resembling swine fever. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 137-142, Sept. 1988.
- THIEL, H.J et al. Flaviviridae. In: FANQUET C.M (Ed.) et al, **Virus Taxonomy**: eighth report of the international committee on the taxonomy of viruses. San Diego: Elsevier, 2005; p. 981-998.
- UTTENTHAL, A. et al. Vertical transmission of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in mousedeer (*Tragulus javanicus*) and spread to domestic cattle. **Archives of Virology**, Wien, v. 151, n. 12, p. 2377-2387, Dec. 2006.
- VILCEK, S. ; BELÁK, S. Genetic identification of pestivirus strain Frijters as a border disease virus from pigs. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 60, n.1, p. 103-8, June 1996.
- VILCEK, S. et al. Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. **Archives of Virology**, Wien, v. 146, n. 1, p. 99-115, Jan. 2001.
- VILCEK, S. et al. Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope. **Virus Research**, Amsterdam, v. 108, n. 1-2, p. 187-193, Mar. 2005.
- VILCEK, S. ; NETTLETON, P. F. Pestiviruses in wild animals. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 116, n. 1, p. 1-12, Aug. 2006.
- WALZ, P. H. et al. Comparison of type I and type II bovine viral diarrhoea virus infection in swine. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Gardenvale, v. 63, n. 2, p. 119-123, Apr. 1999.
- WANG, J. ; LI, Y. ; MODIS, Y. Structural models of the membrane anchors of envelope glycoproteins E1 and E2 from pestiviruses. **Virology**, New York, v. 454-455, p. 93-101, Apr., 2014.
- WEISKIRCHER, E. et al. Bovine viral diarrhoea virus NS4B protein is an integral membrane protein associated with Golgi markers and rearranged host membranes. **Virology Journal**, London, v. 6, p. 185-191, Nov. 2009.
- WENSVOORT, G. et al. Antigenic Differentiation of pestivirus strains with monoclonal antibodies against Hog Cholera Virus. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 21, p. 9-20, Nov. 1989.
- 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**, Amsterdam, v. 118, n. 1, p. 26-36, Nov. 2006.

XU, X. et al. Sequencing and comparative analysis of a pig bovine viral diarrhoea virus genome. **Virus Research**, Amsterdam, v. 122, n.1, p. 164-170, Dec. 2006.

ZUPANCIC, Z. et al. Prevalence of antibodies to Classical Swine Fever, Aujeszky's disease, porcine reproductive and respiratory syndrome, and bovine viral diarrhoea viruses in wild boars in Croatia. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 256, p. 253-256, June 2002.