

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES CONTRA O BVDV-1 E O BVDV-2 EM REBANHOS BOVINOS DE MINAS GERAIS E SÃO PAULO, BRASIL¹

OCCURRENCE OF NEUTRALIZING ANTIBODIES AGAINST BVDV-1 AND BVDV-2 IN CATTLE HERDS FROM MINAS GERAIS AND SÃO PAULO STATES, BRAZIL

F. C. DIAS^{2*}, B. ALEXANDRINO², A. S. R. MEDEIROS², E. C. DIAS³, M. G. BUZINARO², S. I. SAMARA²

RESUMO

A ocorrência de anticorpos neutralizantes contra os genótipos do vírus da diarreia viral bovina (BVDV-1 e BVDV-2) foi determinada pelo teste de virusneutralização (VN) em amostras de soro sanguíneo provenientes de 26 rebanhos bovinos não vacinados contra o BVDV, localizados nos Estados de Minas Gerais e São Paulo, Brasil. Foram analisadas 10 amostras por rebanho, sendo cinco de bovinos adultos e cinco de bovinos com idade entre 6 e 12 meses. Do total de 260 amostras analisadas, 102 (39,2%) reagiram ao BVDV, das quais 81 (31,1%) foram reagentes tanto ao BVDV-1 quanto ao BVDV-2, sete (2,7%) reagiram apenas ao BVDV-1 e 14 (5,4%) reagiram apenas ao BVDV-2. Com exceção de dois rebanhos, nos demais foram detectados pelo menos um animal reagente ao BVDV, entretanto, foram detectados animais reagentes apenas ao BVDV-2 em um deles. Em seis rebanhos foram detectados anticorpos neutralizantes nos bovinos da faixa etária de 6 a 12 meses, sendo, portanto, indicativos da infecção recente pelo vírus e também sugestivos da provável presença da fonte de infecção no rebanho. Os dados obtidos mostraram a ocorrência de anticorpos neutralizantes contra os genótipos do BVDV em rebanhos bovinos localizados nos Estados analisados, mas os resultados apresentaram diferenças no número de bovinos reagentes ao BVDV-1 e ao BVDV-2, ressaltando assim a necessidade da utilização de estirpes de cada genótipo nos testes de VN para o diagnóstico sorológico do BVDV.

PALAVRAS-CHAVE: Anticorpos neutralizantes. BVDV-1. BVDV-2. Diarreia viral bovina. Virusneutralização.

SUMMARY

The occurrence of neutralizing antibodies against bovine viral diarrhea virus genotypes (BVDV-1 and BVDV-2) has been confirmed by virus neutralization test (VN) in samples of blood serum from 26 cattle herds which were not BVDV vaccinated, located in the states of Minas Gerais and São Paulo, Brazil. Ten blood samples were collected from each herd, five samples from 6 to 12-month-old calves and five samples from adult bovines. Of the total samples analyzed, 102 (39.2%) were reactive to BVDV, more specifically, 81 (31.1%) were reactive to BVDV-1 and BVDV-2, seven (2.7%) were reactive to BVDV-1 only and 14 (5.4%) were reactive to BVDV-2 only. Except for two herds, in all others at least one animal was detected reactive to BVDV, however, one of them was reactive to BVDV-2 only. In six herds, neutralizing antibodies were detected in blood serum from 6 to 12-month-old calves. Therefore, were indicative of recent BVDV infection and also suggested the likely presence of an infection source in the herd. The results showed the occurrence of neutralizing antibodies against BVDV genotypes in cattle herds located in the states analyzed, but these same results demonstrated the differences in the number of bovines reactive for BVDV-1 and BVDV-2, thus demonstrating the need to use strains from each genotype in VN tests for serological diagnosis of BVDV.

KEY-WORDS: Bovine viral diarrhea. BVDV-1. BVDV-2. Neutralizing antibodies. Virus neutralization.

¹ Projeto financiado pela FAPESP – processos 04/06800-0 e 06/59757-0

² Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, UNESP – Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Vila Industrial, Jaboticabal-SP 14.884-900, Brasil.Tel: +55 16 3209 2646.* Autor para correspondência: fabiocadi@yahoo.com.br

³ Departamento de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, UFLA – Lavras/MG.

INTRODUÇÃO

A diarreia viral bovina (BVD) consiste num conjunto de síndromes clínicas ou assintomáticas associadas à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) (BOLIN & RIDPATH, 1996). Porém, uma porcentagem significativa das infecções (70% a 90%), apresenta caráter assintomático (BAKER, 1995). A enfermidade é bastante comum na maioria dos países e o BVDV é um patógeno de bovinos, particularmente do sistema reprodutivo (BROWNLIE, 2005).

O BVDV é um RNA-vírus, que juntamente com o vírus da peste suína clássica (CSFV) e o vírus da “border disease” (BDV) compõem o gênero *Pestivirus*, pertencente à família *Flaviviridae* (NETTLETON & ENTRICAN, 1995). O BVDV é classificado em duas diferentes espécies ou genótipos (BVDV-1 e BVDV-2), sendo que ambos podem existir em dois diferentes biótipos, citopatogênico (CP) e não citopatogênico (NCP) (RIDPATH, 2010).

Teoricamente, todos os rebanhos bovinos estão infectados ou já sofreram a infecção num determinado momento (NETTLETON & ENTRICAN, 1995). A distribuição geográfica da BVD é mundial, pois entre 50% e 90% da população bovina adulta apresenta anticorpos neutralizantes contra o BVDV (HOUE & MEYLING, 1991; HOUE, 1999; KRAMPS et al., 1999). Entretanto, a ocorrência de uma infecção recente ou da transmissão do BVDV no rebanho pode ser verificada por meio da detecção de anticorpos neutralizantes nos animais jovens (SMITH & GROTELUESCHEN, 2004).

A infecção pelo BVDV está amplamente difundida nos rebanhos brasileiros e as estirpes do vírus isoladas no país apresentam marcante variabilidade antigênica, sendo que as análises filogenéticas realizadas nessas estirpes mostraram a presença do BVDV-1 e do BVDV-2 (OLIVEIRA et al., 1996; CANAL et al., 1998; BOTTON et al., 1998; FLORES et al., 2000).

No entanto, na maioria dos trabalhos realizados no Brasil, foram pesquisados anticorpos apenas contra o BVDV-1, o que possivelmente resultaria na falha da detecção de anticorpos em amostras com títulos baixos ou moderados contra o BVDV-2 (FLORES et al., 2005). Desse modo, o objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de anticorpos neutralizantes contra o BVDV-1 e o BVDV-2 em rebanhos bovinos localizados nos Estados de Minas Gerais e São Paulo, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Rebanhos

Durante o período compreendido entre os meses de janeiro de 2005 e abril de 2006, foram colhidas amostras de sangue de bovinos em 26 rebanhos provenientes dos Estados de Minas Gerais e de São Paulo. No Estado de Minas Gerais foram colhidas amostras em seis rebanhos localizados nos Municípios de Machado, Poço Fundo e São Gonçalo do Sapucaí. No Estado de São Paulo foram colhidas amostras em

20 rebanhos localizados nos Municípios de Jaboticabal, Monte Alto, Sertãozinho, São Carlos, Guariba, Pedregulho, São José do Rio Preto, Cristais Paulista, Buritizal e Rifaina.

Os rebanhos pesquisados não adotavam a vacinação contra o BVDV, eram de exploração leiteira ou de corte, e a quantidade de bovinos nesses rebanhos variava de 20 a 480. Os rebanhos foram submetidos à amostragem, independentemente de manejo, sistema de produção, quantidade de animais, raça, produtividade e presença ou não de problemas reprodutivos.

Amostragem

O número de amostras colhidas por rebanho foi embasado na metodologia adotada por Luzzago et al. (1999), com algumas modificações. De cada rebanho foram obtidas 10 amostras de sangue, escolhidas ao acaso, sendo cinco amostras de bovinos adultos e cinco amostras de bovinos com idade entre 6 e 12 meses, totalizando 260 amostras.

As amostras de sangue foram colhidas em tubos siliconizados “vacutainer” BD[®], centrifugadas a 1.080xg e de cada amostra foram obtidas duas alíquotas contendo 1,5 mL de soro sanguíneo assim destinadas: uma amostra para o teste contra o BVDV-1 e outra para o teste contra o BVDV-2. As amostras de soro sanguíneo foram distribuídas em microtubos tipo “ependorf”, identificadas e armazenadas em “freezer”, a -20°C, até o momento do uso. A distribuição do soro sanguíneo em mais de uma alíquota foi para que todas as amostras tivessem condições idênticas na manipulação antes do teste sorológico, tanto para o BVDV-1 quanto para o BVDV-2.

Teste de virusneutralização – VN

Todas as amostras foram submetidas ao teste de VN para a pesquisa de anticorpos neutralizantes contra o BVDV-1 e contra o BVDV-2 (OIE, 2008). No teste de VN, foram utilizadas células epiteliais de rim bovino da linhagem “Madin Darby bovine kidney” (MDBK), mantidas em meio Eagle MEM (Minimal Essential Medium) Gibco[®], suplementadas com 10% de soro fetal bovino (SFB) Cultilab[®] livre de *Pestivirus* e de anticorpos para o BVDV, e empregadas as cepas citopatogênicas (CP) do BVDV-1 (Singer) e do BVDV-2 (VS-253). As amostras de soro sanguíneo, antes de serem testadas, foram previamente inativadas a 56°C, por 30 minutos. Os testes de VN foram realizados em placas de microtitulação descartáveis de 96 cavidades TPP[®], e o meio de manutenção Eagle-MEM Gibco[®], utilizado para as diluições das amostras de soro, era acrescido de 1% de uma solução de penicilina (10.000UI mL⁻¹) e estreptomicina (10.000ug mL⁻¹) Gibco[®].

Para cada amostra de soro testada, foram feitas duplicatas com diluições sucessivas entre 1:10 e 1:5.120. Depois de adicionada a suspensão viral contendo 100TCID₅₀ (50% “tissue culture infective doses”) do BVDV, as microplacas foram incubadas em estufa com atmosfera de 5% de CO₂ a 37°C. Transcorridos 60 minutos, foi adicionada, em todas as cavidades das placas, uma suspensão de células MDBK

contendo 300.000 células mL⁻¹ em meio de manutenção Eagle-MEM Gibco® com 10% de SFB Cultilab®. Em seguida, a placa foi novamente incubada em estufa, a 37°C, com atmosfera de 5% de CO₂ por 96 horas. Na interpretação dos resultados, foram consideradas reagentes as amostras de soro sanguíneo que promoviam neutralização de 100 TCID₅₀ do BVDV a partir da diluição 1:10. As amostras reagentes na diluição 1:5.120 foram novamente testadas em duplicata até a diluição 1:20.480. Os títulos de anticorpos foram expressos como a recíproca da maior diluição em que foi verificada a neutralização viral, e o título final foi resultante da média geométrica dos títulos encontrados nas duplicatas.

RESULTADOS

Foram analisadas 260 amostras de soro sanguíneo de bovinos não vacinados provenientes de rebanhos dos Estados de Minas Gerais e de São Paulo, das quais 102 (39,2%) foram reagentes ao BVDV. Considerando a faixa etária analisada, 73 (56,15%) das 130 amostras provenientes dos bovinos adultos e somente 29 (23,3%) das 130 amostras dos bovinos entre 6 e 12 meses de idade foram reagentes ao BVDV.

Das 102 amostras reagentes ao BVDV, 81 (31,1%) reagiram tanto ao BVDV-1 quanto ao BVDV-2, sete (2,7%) reagiram apenas ao BVDV-1 e 14 (5,4%) reagiram apenas ao BVDV-2. No total, 88 (33,8%) amostras foram reagentes ao BVDV-1 e 95 (36,5%), ao BVDV-2 (Tabela 1).

Considerando os testes de VN para o BVDV-1 e para o BVDV-2 realizados em 60 amostras de soro sanguíneo de bovinos provenientes de rebanhos localizados no Estado de Minas Gerais, 36 (60%) foram reagentes ao BVDV. Dessas amostras, 30 (50%) reagiram tanto ao BVDV-1 quanto ao BVDV-2, nenhuma foi reagente somente ao BVDV-1 e seis (10%) reagiram apenas ao BVDV-2. No total, 30 (40%) amostras foram reagentes ao BVDV-1 e 36 (60%) amostras reagentes ao BVDV-2. Nos testes de VN para o BVDV-1 e para o BVDV-2 realizados em 200 amostras de soro sanguíneo de bovinos provenientes de rebanhos localizados no Estado de São Paulo, 66 (33%) foram reagentes ao BVDV. Dessas amostras, 51 (25,5%) reagiram tanto ao BVDV-1

quanto ao BVDV-2, sete (3,5%) reagiram apenas ao BVDV-1 e oito (4%) reagiram apenas ao BVDV-2. No total, 58 (29%) amostras foram reagentes ao BVDV-1 e 59 (29,5%) amostras reagentes ao BVDV-2.

A distribuição das amostras reagentes por rebanho, a variação dos respectivos títulos médios de anticorpos contra o BVDV-1 e o BVDV-2, bem como os resultados encontrados nas diferentes faixas etárias estão demonstrados na Tabela 2. Do total de 26 rebanhos analisados, foi encontrado pelo menos um animal reagente em 23 rebanhos, quando testados para o BVDV-1, e em 24 rebanhos quando testados para o BVDV-2. Na faixa etária dos bovinos adultos foram encontrados animais reagentes ao BVDV-1 em 23 rebanhos e, ao BVDV-2, em 24 rebanhos. Para os bovinos na faixa etária de 6 a 12 meses, dez rebanhos apresentaram animais reagentes ao BVDV-1 e dez rebanhos ao BVDV-2. O número total (adultos e bezerras) de animais reagentes ao BVDV-1 por rebanho variou de 1 a 9, e os títulos de anticorpos variaram de 10 a 2.560. Para o BVDV-2, o número total de animais reagentes por rebanho variou de 1 a 8 e os títulos de anticorpos variaram de 10 a 3.620.

DISCUSSÃO

Por meio da amostragem utilizada neste estudo, 39,2% dos bovinos foram reagentes ao BVDV. Porém, a metade das amostras analisadas foi proveniente de animais jovens com idade compreendida entre 6 e 12 meses. Analisando apenas os resultados dos testes de VN contra o BVDV dos animais adultos, a quantidade de animais reagentes nessa faixa etária (56,15%) esteve no intervalo da estimativa proposta por Houe (1999), na qual considera que entre 50% e 90% da população bovina adulta apresenta anticorpos contra o BVDV.

Correlacionando aos demais estudos de ocorrência realizados no Brasil, a porcentagem de bovinos adultos reagentes ao BVDV apresentou valor próximo àqueles encontrados em outras pesquisas realizadas no país (PELLEGRIN et al., 1997; PITUCO et al., 1998; GUIMARÃES et al., 2001; DIAS & SAMARA, 2003; NORONHA et al., 2003; ALFAIA et al., 2004), sendo que nesses estudos também foram utilizadas somente amostras oriundas de animais adultos.

Tabela 1. Resultados dos testes de VN para o BVDV-1 e para o BVDV-2 realizados em amostras de soro sanguíneo de bovinos não vacinados contra o BVDV provenientes de rebanhos localizados nos Estados de Minas Gerais e de São Paulo

		BVDV-1		
		Reagentes	Não reagentes	Total
BVDV-2	Reagentes	81 (31,1%)	14 (5,4%)	95 (36,5%)
	Não reagentes	7 (2,7%)	158 (60,8%)	165 (63,5%)
	Total	88 (33,8%)	172 (66,2%)	260 (100%)

Tabela 2. Número de bovinos reagentes de acordo com a faixa etária, bem como a variação dos títulos de anticorpos nos testes de VN contra o BVDV-1 e contra o BVDV-2, provenientes de rebanhos localizados nos Estados de Minas Gerais e São Paulo

Rebanho	Município	Estado	BVDV-1				BVDV-2			
			Adultos		Bezerros		Adultos		Bezerros	
			reagentes/ total amostras	variação dos títulos anticorpos						
1	Machado	MG	4/5	80 a 2.560	4/5	80 a 160	4/5	160 a 3.620	4/5	20 a 160
2	S. G. do Sapucaí	MG	3/5	160 a 640	4/5	40 a 320	3/5	20 a 640	5/5	40 a 3.620
3	S. G. do Sapucaí	MG	1/5	20	0/5	0	1/5	453	1/5	14
4	Poço Fundo	MG	2/5	20 a 2.560	3/5	640 a 1.280	2/5	160 a 2.560	5/5	160 a 2.560
5	Poço Fundo	MG	4/5	10 a 320	1/5	20	5/5	20 a 1.810	2/5	20 a 40
6	Machado	MG	4/5	80 a 2.560	0/5	0	4/5	14 a 640	0/5	0
7	S. J. do Rio Preto	SP	2/5	10 a 320	1/5	10	4/5	10 a 120	0/5	0
8	Jaboticabal	SP	0/5	0	0/5	0	0/5	0	0/5	0
9	Sertãozinho	SP	1/5	1.280	0/5	0	1/5	320	0/5	0
10	São Carlos	SP	2/5	10 a 20	0/5	0	3/5	10 a 80	0/5	0
11	São Carlos	SP	0/5	0	0/5	0	0/5	0	0/5	0
12	Jaboticabal	SP	2/5	40 a 80	0/5	0	1/5	10	0/5	0
13	Jaboticabal	SP	2/5	10 a 20	0/5	0	2/5	10 a 20	0/5	0
14	Guariba	SP	3/5	160	0/5	0	3/5	80 a 160	0/5	0
15	Guariba	SP	2/5	80 a 640	0/5	0	2/5	20 a 240	0/5	0
16	Guariba	SP	4/5	40 a 2.560	1/5	10	3/5	80 a 905	0/5	0
17	Pedregulho	SP	5/5	80 a 320	4/5	10 a 1.280	5/5	56 a 120	3/5	10 a 80
18	Pedregulho	SP	1/5	20	0/5	0	1/5	40	0/5	0
19	Cristais Paulista	SP	2/5	320	0/5	0	2/5	160 a 196	0/5	0
20	Buritizal	SP	5/5	226 a 905	1/5	640	5/5	10 a 905	2/5	40 a 905
21	Pedregulho	SP	4/5	80 a 320	2/5	10 a 320	4/5	28 a 80	1/5	40
22	Buritizal	SP	2/5	40 a 320	0/5	0	2/5	80 a 226	1/5	10
23	Buritizal	SP	3/5	40 a 80	0/5	0	3/5	452	0/5	0
24	Cristais Paulista	SP	0/5	0	0/5	0	2/5	10 a 20	0/5	0
25	Monte Alto	SP	4/5	10 a 640	0/5	0	4/5	10 a 320	0/5	0
26	Rifaina	SP	4/5	40 a 1.280	1/5	10	4/5	10 a 320	1/5	28

No Brasil, os primeiros levantamentos sorológicos para o BVDV foram feitos em 1972 por Wizigmann et al. (1972). Segundo Flores et al. (2005), vários estudos também foram realizados em outros Estados brasileiros, mas do ponto de vista epidemiológico, a quantidade de bovinos reagentes detectados deve ser interpretada com cautela pois alguns foram feitos em rebanhos com problemas reprodutivos e a maioria desconsiderou a possibilidade de que parte da sorologia reagente poderia ser resultante da vacinação. No entanto, neste estudo, os rebanhos pesquisados não adotavam a vacinação contra o BVDV e os rebanhos foram submetidos à amostragem independentemente de manejo adotado, sistema de produção, quantidade de animais, raça, produtividade e presença ou não de problemas reprodutivos.

A quantidade de bovinos reagentes ao BVDV provenientes dos rebanhos localizados no Estado de Minas Gerais foi proporcionalmente superior àqueles provenientes do Estado de São Paulo. Essa diferença poderia estar relacionada ao fato de que a maioria dos rebanhos analisados no Estado de Minas Gerais possuía maior número de animais, conseqüentemente maior densidade populacional e o regime de criação adotado consistia num manejo mais intensivo, favorecendo a maior disseminação do vírus (HOUE & MEYLING, 1991; HOUE, 1995; HOUE, 1999; MOCKELIUNIENE et al., 2004; SMITH & GROTELUESCHEN, 2004).

Nos testes de VN para ambos os genótipos, das 102 amostras reagentes ao BVDV, 81 (31,1%) reagiram tanto ao BVDV-1 quanto ao BVDV-2, porém sete (2,7%) reagiram apenas ao BVDV-1 e 14 (5,4%) reagiram apenas ao BVDV-2. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo realizado por Flores et al. (2000), com a detecção de 2,5% de amostras reagentes somente ao BVDV-1 e 3,3% de amostras reagentes apenas ao BVDV-2. No total, 88 (33,8%) amostras foram reagentes ao BVDV-1 e 95 (36,5%) foram reagentes ao BVDV-2.

Esses resultados demonstraram que a utilização de estirpes de apenas um genótipo nos testes de VN resultou em diagnósticos falso-negativos para o outro genótipo, de acordo com as observações realizadas por Flores et al. (2000), Fulton et al. (2000), Fulton et al. (2002), Chase et al. (2003) e Flores et al. (2005).

A utilização de estirpes do BVDV-2 no teste de VN também seria necessária no caso da análise individual dos rebanhos, pois o rebanho 24, localizado no Estado de São Paulo (Tabela 2), seria diagnosticado como falso-negativo, já que o mesmo apresentou somente dois bovinos reagentes ao BVDV-2 e nenhum bovino reagente ao BVDV-1. Outro aspecto, também verificado, foi que os maiores títulos de anticorpos nos testes de VN (3.620) foram encontrados nos bovinos reagentes ao BVDV-2, especificamente nos rebanhos 1 e 2 (Tabela 2).

Todos os rebanhos localizados no Estado de Minas Gerais apresentaram pelo menos um animal reagente ao BVDV. No Estado de São Paulo, com exceção dos rebanhos 8 e 11 (Tabela 2), nos demais rebanhos analisados também foi encontrado pelo menos um animal reagente, assim como nas pesquisas realizadas

por Richtzeinhain et al. (1999) e por Dias & Samara (2003), demonstrando assim que, em algum momento, esses rebanhos sofreram a infecção pelo BVDV (NETTLETON & ENTRICAN, 1995).

O número de bovinos adultos reagentes foi maior do que o número de bovinos jovens reagentes. Segundo Mockliuniene et al. (2004), a quantidade de reagentes é maior à medida que a idade aumenta, sugerindo desta forma a ocorrência de infecções antigas, afinal os títulos de anticorpos contra o BVDV são de longa duração após a infecção natural (LINDBERG & HOUE, 2005), e o declínio desses pode ser observado somente alguns anos após a ocorrência da infecção (FREDRIKSEN et al., 1999).

Muitos dos rebanhos analisados apresentaram bovinos com títulos altos de anticorpos, mas isso não é suficiente para prever a presença do BVDV no rebanho. A característica dos anticorpos contra o BVDV serem de longa duração após a infecção natural consiste no desafio de detectar o verdadeiro estágio da infecção em que se encontra um rebanho (HOUE, 1999; LINDBERG & HOUE, 2005).

Em alguns desses rebanhos que possuíam bovinos reagentes com altos títulos de anticorpos, uma parcela desses animais era de bovinos na faixa etária de 6 a 12 meses. Essa situação pode ser verificada nos rebanhos 1, 2, 4, 17, 20 e 21 (Tabela 2). Nesse caso, a detecção de anticorpos neutralizantes nessa faixa etária, bem como os altos títulos de anticorpos detectados, foram indicativos da infecção recente pelo BVDV e também sugestivos da provável presença da fonte de infecção no rebanho (SMITH & GROTELUESCHEN, 2004).

A patogenia da infecção pelo BVDV apresenta características peculiares, que se refletem na epidemiologia e não são observadas em outras enfermidades. Nos estudos epidemiológicos da BVD, os principais desafios consistem na detecção do estágio em que se encontra a infecção, da forma que está ocorrendo a difusão do BVDV dentro do rebanho e da maneira pela qual ocorre a disseminação do vírus entre rebanhos, além do desafio em quantificar as perdas econômicas (HOUE, 2003; SMITH & GROTELUESCHEN, 2004).

CONCLUSÕES

Demonstrou-se a ocorrência de bovinos com anticorpos neutralizantes contra o BVDV-1 e o BVDV-2 em rebanhos bovinos localizados nos Estados de Minas Gerais e São Paulo, sendo que na maior parte dos rebanhos analisados foi detectado pelo menos um bovino reagente. A utilização de estirpes apenas de um genótipo do BVDV nos testes de VN resultou em diagnósticos falso-negativos para o outro genótipo, ressaltando assim a necessidade da utilização de estirpes de cada genótipo nos testes de VN para o diagnóstico sorológico do BVDV. Os anticorpos neutralizantes detectados nos bovinos jovens sugeriram a presença do BVDV em alguns dos rebanhos analisados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Apoio e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento desta pesquisa (Processos 04/06800-0 e 06/59757-0) e ao Prof. Dr. Eduardo Furtado Flores, da Universidade Federal de Santa Maria, que gentilmente cedeu as cepas citopatogênicas do BVDV-1 (Singer) e do BVDV-2 (VS-253) para a realização das reações de VN.

REFERÊNCIAS

- ALFAIA, B. T.; BARBOSA, A. C. V. C.; CAIXETA, S. P. M. B.; ROCHA, W. V.; BRITO, W. M. E. D. Prevalence and risk factors associated with BVDV infection in adult and non-vaccinated bovines females from Goiás State, Brazil. **Virus Reviews and Research**, v.9, n.1, p.127, 2004.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.11, n.3, p.425-445, 1995.
- BOLIN, S. R.; RIDPATH, J. F. The clinical significance of genetic variation among bovine viral diarrhea viruses. **Veterinary Medicine**, v.91, n.10, p.958-961, 1996.
- BOTTON, S. A.; SILVA, A. M.; BRUM, M. C. S.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Antigenic characterization of Brazilian bovine viral diarrhea virus isolates by monoclonal antibodies and cross-neutralization. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.31, n.11, p.1.429-1.438, 1998.
- BROWNLIE, J. Bovine virus diarrhoea virus. In: BVDV SYMPOSIUM, 2005, Wellington. **Anais...** Wellington, 2005, p.1-19.
- CANAL, C. W.; STRASSER, M.; HERTIG, C.; MASUDA, A.; PETERHANS, E. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. **Veterinary Microbiology**, v.63, n.2-4, p.85-97, 1998.
- CHASE, C. C. L.; CHASE, S. K.; FAWCETT, L. Trends in the BVDV serological response in the Upper Midwest. **Biologicals**, v.31, n.2, p.145-151, 2003.
- DIAS, F. C.; SAMARA, S. I. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina no soro sanguíneo, no leite individual e no leite de conjunto em tanque de expansão de rebanhos não vacinados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, n.3, p.161-168, 2003.
- FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; GIL, L. H. V. G.; TOBIAS, F. L.; LIMA, M.; GARCEZ, D. C.; BOTTON, S. A. Diversidade antigênica de amostras do vírus da diarréia viral bovina isoladas no Brasil: implicações para o diagnóstico e estratégias de imunização. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.1, p.11-17, 2000.
- FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P. M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. A infecção pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) no Brasil – histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.3, p.125-134, 2005.
- FREDRIKSEN, B.; SANDVIK, T.; LOKEN, T.; ODEGAARD, S. A. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. **The Veterinary Record**, v.144, n.5, p.111-114, 1999.
- FULTON, R. W.; RIDPATH, J. F.; SALIKI, J. T.; BRIGGS, R. E.; CONFER, A. W.; BURGE, L. J.; PURDY, C. W.; LOAN, R. W.; DUFF, G. C.; PAYTON, M. E. Bovine viral diarrhea virus (BVDV) 1b: predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.66, n.3, p.181-190, 2002.
- FULTON, R. W.; SALIKI, J. T.; CONFER, A. W.; BURGE, L. J.; d'OFFAY, J. M.; HELMAN, R. G.; BOLIN, S. R.; RIDPATH, J. F.; PAYTON, M. E. Bovine viral diarrhea virus cytopathic and noncytopathic biotypes and type 1 and 2 genotypes in diagnostic laboratory accessions: clinical and necropsy samples from cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.12, n.1, p.33-38, 2000.
- GUIMARÃES, P. L. S. N.; CHAVES, N. S. T.; SILVA, L. A. F.; ACYPRESTE, C. S. Frequência de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina em bovinos, em regime de criação semi-extensivo. **Ciência Animal Brasileira**, v.2, n.1, p.35-40, 2001.
- HOUE, H. Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.11, n.3, p.521-547, 1995.
- HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**, v.64, n.2-3, p.89-107, 1999.
- HOUE, H. Economic impact of BVDV infection in dairies. **Biologicals**, v.31, n.2, p.137-143, 2003.
- HOUE, H.; MEYLING, A. Prevalence of bovine virus diarrhea (BVD) in 19 Danish dairy herds and estimation of incidence of infection in early pregnancy. **Preventive Veterinary Medicine**, v.11, n.1, p.9-16, 1991.
- KRAMPS, J. A.; MAANEN, C. V.; WETERING, G. V.; STIENSTRA, G.; QUAK, S.; BRINKHOF, J.; RONSHOLT, L.; NYLIN, B. A simple, rapid and reliable enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine virus diarrhoea virus (BVDV)

specific antibodies in cattle serum, plasma and bulk milk. **Veterinary Microbiology**, v.64, n.2-3, p.135-144, 1999.

LINDBERG, A.; HOUE, H. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) of relevance control. **Preventive Veterinary Medicine**, v.72, n.1-2, p.55-73, 2005.

LUZZAGO, C.; PICCININI, R.; ZEPPONI, A.; ZECCONI, A. Study on prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in 29 Italian dairy herds with reproductive problems. **Veterinary Microbiology**, v.64, n.2-3, p.247-252, 1999.

MOCKELIUNIENE, V.; SALOMSKAS, A.; MOCCKELIUNAS, R.; PETKEVICIUS, S. Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. **Veterinary Microbiology**, v.99, n.1, p.51-57, 2004.

NETTLETON, P. F.; ENTRICAN, G. Ruminant pestiviruses-review. **British Veterinary Journal**, v.151, n.6, p.615-642, 1995.

NORONHA, R. P.; CAMPOS, G. S.; SARDI, S. I. Pesquisa do vírus da diarréia viral bovina em bovinos jovens. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, n.6, p.424-430, 2003.

OIE. Office International des Épizooties. **Manual of standards for diagnostic tests and vaccines**, Paris. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00132.htm>. Acesso em: 30 ago. 2008.

OLIVEIRA, L. G.; OLIVEIRA, E. A. S.; SILVA, L. H. T. Presença de *Pestivirus* e anticorpos contra *Pestivirus* em soros e cultivos celulares. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.48, n.5, p.513-521, 1996.

PELLEGRIN, A. O.; SERENO, J. R. B.; LEITE, R. C. Seropositivity to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) in zebu cows in the Brazilian Pantanal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.49, n.3, p.375-377, 1997.

PITUCO, E. M.; DEL FAVA, C. Situação do BVDV na América do Sul. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA, 1998, Santa Maria. **Anais ... Santa Maria**, 1998, p.49-57.

RICHTZEINHAIN, L. J.; BARBARINI, O.; UMEHARA, O.; De GRACIA, A. S.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M. B.; FERREIRA, F.; SOARES, R. M. Diarréia viral bovina: levantamento sorológico nos Estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.66, n.1, p.107-111, 1999.

RIDPATH, J. F. Bovine Viral Diarrhoea Virus: Global Status. 26:105-121. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.26, p.105-121, 2010.

SMITH D. V.; GROTELUESCHEN D. M. Biosecurity and biocontainment of bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**, v.20, n.1, p.131-149, 2004.

WIZIGMANN, G., VIDOR, T., RICCI, Z. M. T. Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus da diarréia a vírus – Enfermidade das mucosas dos bovinos, no Estado do Rio Grande do Sul. **Boletim do IPVDF**, v.1, p.52-58, 1972.