

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

LUCAS MARIAN

**DETECÇÃO DO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM FETOS
BOVINOS ABORTADOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA**

**LAGES
2022**

LUCAS MARIAN

**DETECÇÃO DO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM FETOS
BOVINOS ABORTADOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, com área de concentração em Saúde Animal.

Orientadora: Prof^a Dra. Renata Assis Casagrande

LAGES

2022

LUCAS MARIAN

**DETECÇÃO DO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (BVDV) EM FETOS
BOVINOS ABORTADOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Banca examinadora:



Orientadora
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Membros:



Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)



Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Lages, 15 de julho de 2022

Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca Setorial do CAV/UDESC, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Marian, Lucas

Detecção do Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em fetos bovinos abortados no estado de Santa Catarina / Lucas Marian – 2022
71p.

Orientadora: Renata Assis Casagrande

Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2022.

1. Perda Reprodutiva. 2. Genotipagem. 3. Virologia. 4. Patologia. I. Casagrande, Renata Assis. II. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

RESUMO

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é um importante patógeno relacionado a falhas reprodutivas em bovinos no mundo. O objetivo deste trabalho foi detectar BVDV em fetos bovinos abortados em Santa Catarina, Brasil. Entre 2015 e 2022, 87 fetos bovinos foram submetidos à necropsia e exame histopatológico. Fragmentos de baço e timo congelados foram destinados à RT-PCR de *Pestivirus* de ruminantes, com positividade em 5,7% (5/87) dos fetos. Adicionalmente, três fetos foram também positivos para *Neospora caninum* por meio da PCR. A análise anatomopatológica dos fetos positivos para BVDV evidenciou alterações macroscópicas compostas por mumificação fetal (1/5), edema subcutâneo (1/5), hepatomegalia (1/5) e edema perirrenal (1/5). As lesões histológicas predominantes foram compostas por infiltrado linfoplasmocitário discreto a moderado em epicárdio e miocárdio (5/5), músculo esquelético (4/5) e pulmões (4/5). Em placenta, havia infiltrado linfoplasmocitário predominante, discreto a moderado (2/3), além de mineralização da mucosa (1/3). Em um feto (1/5), nos pulmões havia hemorragia e trombose, multifocais, moderadas; em rins, necrose tubular acompanhada por infiltrado linfoplasmocitário intersticial, multifocais, moderados; em fígado, trombose e degeneração hepatocelular, multifocais, discretas, necrose fibrinoide e infiltrado linfoplasmocitário, multifocais, moderados; na medula óssea, necrose fibrinoide multifocal, discreta; em medula espinhal, infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto em meninges; em timo, hemorragia difusa, moderada. Os produtos amplificados na RT-PCR de *Pestivirus* foram submetidos à genotipagem, tendo como alvo a região 5'UTR do genoma viral, resultando no sequenciamento de amostras de quatro fetos. As sequências obtidas foram analisadas e comparadas pelo *nucleotide* BLAST na plataforma GenBank, com sequências semelhantes já depositadas. O grau de semelhança entre as cepas fetais com cepas europeias e brasileiras de BVDV-1 e BVDV2 variou de 96,34 a 100%. O subgenótipo 1e foi atribuído a três fetos (3/4) e o 2b, a um. A árvore filogenética evidenciou a distribuição das cepas fetais em dois ramos distintos, correspondendo ao BVDV-1 e BVDV-2. As cepas designadas como 1e formaram um único *cluster*, com ancestral evolutivo distante das demais cepas de referência. A cepa correspondente ao 2b agrupou-se com as cepas do grupo, ocupando o mesmo nodo terminal que a cepa Soldan. As propriedades com fetos positivos para BVDV apresentavam distúrbios atribuíveis a ação do vírus, como infertilidade e abortamentos frequentes, além de fatores relacionados à introdução e manutenção do agente nos rebanhos, tais como a aquisição frequente de matrizes prenhes, possibilidade de contato direto com animais de fazendas vizinhas, bem como o compartilhamento de touros. Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a ocorrência do BVDV em abortos oriundos de rebanhos bovinos catarinenses, bem como a sua difusão territorial e variabilidade genotípica.

Palavras-chave: Perda reprodutiva. Genotipagem. Virologia. Patologia.

ABSTRACT

Bovine viral diarrhea virus (BVDV) is an important pathogen related to reproductive failure in cattle worldwide. The objective of this work was to detect BVDV in aborted bovine fetuses in Santa Catarina, Brazil. Between 2015 and 2022, 87 bovine fetuses underwent necropsy and histopathological examination. Frozen spleen and thymus fragments were used for RT-PCR of *Pestivirus* in ruminants, with positivity in 5.7% (5/87) of fetuses. Additionally, three fetuses were also positive for *Neospora caninum* by PCR. Anatomopathological analysis of BVDV-positive fetuses showed macroscopic alterations composed of fetal mummification (1/5), subcutaneous edema (1/5), hepatomegaly (1/5) and perirenal edema (1/5). The predominant histological lesions were composed of mild to moderate lymphoplasmacytic infiltrate in the epicardium and myocardium (5/5), skeletal muscle (4/5) and lungs (4/5). In the placenta, there was predominant lymphoplasmacytic infiltrate, mild to moderate (2/3), in addition to mucosal mineralization (1/3). In one fetus (1/5), there was moderate multifocal hemorrhage and thrombosis in the lungs; in kidneys, tubular necrosis accompanied by interstitial, multifocal, moderate lymphoplasmacytic infiltrate; in liver, thrombosis and hepatocellular degeneration, multifocal, mild, fibrinoid necrosis and lymphoplasmacytic infiltrate, multifocal, moderate; in bone marrow, mild, multifocal fibrinoid necrosis; in the spinal cord, multifocal lymphoplasmacytic infiltrate, discreet in the meninges; in thymus, diffuse, moderate hemorrhage. The products amplified in the *Pestivirus* RT-PCR were subjected to genotyping, targeting the 5'UTR region of the viral genome, resulting in the sequencing of samples from four fetuses. The sequences obtained were analyzed and compared by *nucleotide* BLAST on the GenBank platform, with similar sequences already deposited. The degree of similarity between fetal strains with European and Brazilian strains of BVDV-1 and BVDV2 ranged from 96.34 to 100%. Subgenotype 1e was assigned to three fetuses (3/4) and 2b to one. The phylogenetic tree showed the distribution of fetal strains in two distinct branches, corresponding to BVDV-1 and BVDV-2. The strains designated as 1e formed a single cluster, with an evolutionary ancestor distant from the other reference strains. The strain corresponding to 2b clustered with the strains of the group, occupying the same terminal node as the Soldan strain. The properties with BVDV positive fetuses presented disorders attributable to the action of the virus, such as infertility and frequent abortions, in addition to factors related to the introduction and maintenance of the agent in the herds, such as the frequent acquisition of pregnant matrices, possibility of direct contact with animals of neighboring farms, as well as bull sharing. The results obtained in this work show the occurrence of BVDV in abortions from cattle herds in Santa Catarina, as well as its territorial spread and genotypic variability.

Keywords: Reproductive loss. Genotyping. Virology. Pathology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1	AGENTE ETIOLÓGICO	13
3.2	EPIDEMIOLOGIA	14
3.3	PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS	16
3.4	DIAGNÓSTICO	22
3.4.1	ISOLAMENTO VIRAL (IV)	22
3.4.2	IMUNO-HISTOQUÍMICA (IHQ)	23
3.4.3	ELISA PARA DETECÇÃO DE ANTÍGENO	23
3.4.4	REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE COM TRANSCRIPTASE REVERSA (RT-PCR) E SEQUENCIAMENTO GENÉTICO	24
3.5	PREVENÇÃO E CONTROLE	25
4	Abortamentos em bovinos associados ao vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil	27
5	INTRODUÇÃO	29
6	MATERIAL E MÉTODOS	31
6.1	Necropsia e colheita de materiais	31
6.2	Análise histopatológica	31
6.3	Análise molecular (RT-PCR) para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV)	31
6.4	Análises complementares para diagnósticos diferenciais	32
6.5	Sequenciamento genético e análise filogenética do vírus da diarreia viral bovina (BVDV)	33
6.6	Caracterização das propriedades positivas e investigação epidemiológica	33
7	RESULTADOS	34
7.1	Origem e caracterização dos fetos bovinos	34
7.2	Análise anatomopatológica	35
7.3	Análise molecular (RT-PCR), sequenciamento genético e análise filogenética do vírus da diarreia viral bovina (BVDV)	39
7.4	Exames complementares para diagnósticos diferenciais	41
7.5	Caracterização das propriedades positivas	41
8	DISCUSSÃO	43
9	CONCLUSÕES	51
10	REFERÊNCIAS	52
11	APÊNDICE I	66
12	APÊNDICE II	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Origem e caracterização quanto ao sexo, raça, e idade gestacional de fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil.....34

Tabela 2. Ocorrência e intensidade de lesões histológicas observadas em diferentes órgãos de fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil.....37

Tabela 3. Classificação dos fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil, com base nas espécies e subgenótipos identificados.39

Tabela 4. Caracterização epidemiológica das propriedades com fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil.42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efeitos da infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em bovinos conforme o período gestacional.....	20
Figura 2. Consequências da infecção de fêmeas prenhes pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) de acordo com o biótipo da cepa envolvida	21
Figura 3. Disposição dos municípios com fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil. Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.	35
Figura 4. Alterações macroscópicas encontradas em fetos bovinos com infecção pelo BVDV em Santa Catarina, Brasil. A) Mumificação fetal. B) Fígado: hepatomegalia difusa, acentuada, além de áreas multifocais à coalescente variando de amareladas a vermelho escuro. C) Fígado: padrão lobular moderadamente evidente. D) Rim: edema difuso, moderado.....	36
Figura 5. Lesões histológicas em fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil. A) Miocárdio: infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto (seta). Obj. 20x. B) Epicárdio: infiltrado linfoplasmocitário multifocal, moderado (asterisco). Obj. 10x. C) Músculo esquelético: infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto (seta). Obj. 20x. D) Pulmão: trombose multifocal, moderada (asterisco), hemorragia multifocal, moderada (ponta de seta) e infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto (seta). Obj. 10x. E) Placenta: infiltrado linfoplasmocitário difuso, moderado (asterisco) e mineralização multifocal, discreta (seta). Obj. 10x. F) Rim: necrose tubular (seta) e infiltrado linfoplasmocitário intersticial (asterisco), multifocais, moderados. Obj. 40x. G: Fígado: necrose fibrinoide (asterisco), acompanhada por infiltrado linfoplasmocitário (seta), multifocais, moderados. Obj. 20x. H: Medula espinhal - meninge: infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto (estrela). Obj, 10x.....	38
Figura 6. Árvore filogenética baseada na região 5'UTR do genoma viral dos pestivírus. Relação entre sequências brasileiras e internacionais de BVDV-1 e BVDV-2, recuperadas do banco de dados do GenBank, com as novas sequências obtidas dos fetos bovinos de Santa Catarina, Brasil.	41

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura brasileira possui grande destaque no cenário mundial, com um rebanho total de aproximadamente 218,2 milhões de bovinos (IBGE, 2020). Com relação à carne bovina, o Brasil ocupa o posto de segundo maior produtor e, ainda, o maior exportador, contribuindo com cerca de 2,2 milhões de toneladas de carne para o mercado mundial, o equivalente a 14% da produção do planeta (FAOSTAT, 2021). A pecuária leiteira tem se destacando nos últimos anos, colocando o Brasil em quarto lugar no *ranking* de maiores produtores mundiais (EMBRAPA, 2020). Embora o estado de Santa Catarina ocupa uma posição discreta no *ranking* nacional de produção bovina (13º lugar) com aproximadamente 4,5 milhões de bovinos, o estado apresentou crescimento expressivo no número de bovinos abatidos nos últimos anos. Diferente da pecuária de corte, Santa Catarina destaca-se na produção de leite, com 8,7% da produção nacional, o que corresponde a cerca de 3 bilhões de litros produzidos, tornando-o quarto maior produtor do país (EPAGRI, 2020).

Embora possua um rebanho de destaque, a pecuária bovina nacional enfrenta uma série de desafios que tendem a limitar seu potencial produtivo. Entre os principais entraves, destacam-se fatores relacionados à nutrição (DIAS-FILHO, 2014), parasitismo (GRISI et al. 2014), além da ocorrência de enfermidades infecciosas, sobretudo as que impactam diretamente no comércio e exportação de produtos e animais, como a febre aftosa (GARCIA et al. 2015), a brucelose e a tuberculose (SANTOS et al. 2013; FERREIRA NETO et al. 2016). As doenças que afetam a reprodução configuram outro importante gargalo nos sistemas de produção, sejam elas de origem parasitária, viral ou bacteriana (FLORES et al. 2018; FAVERO et al. 2018; COSTA, 2020).

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é dos mais importantes agentes infecciosos dos bovinos em todo o mundo (LANYON et al. 2014). A enfermidade viral é capaz de causar importantes perdas econômicas, especialmente, em rebanhos leiteiros, onde os prejuízos por animal podem chegar ao equivalente a 3,8 mil reais por animal ao ano (RICHTER et al. 2017), com redução de até 0,7 kg na produção de leite animal/dia (BEAUDEAU et al. 2005). Além da redução na produção, os prejuízos ocasionados pelo BVDV estão relacionados ao nascimento de bezerros fracos e de

subdesenvolvidos, a ocorrência de animais persistentemente infectados (PI) e a doença das mucosas (SANTMAN-BERENDS et al. 2015). Entretanto, as perdas monetárias de maior relevância estão relacionadas à esfera reprodutiva, resultado da redução significativa das taxas de concepção e maior ocorrência de mortalidade embrionária e fetal (BURGSTALLER et al. 2016).

No Brasil, o BVDV está distribuído por todas as regiões, com a descrição de uma grande variedade de subgenótipos pertencentes a três espécies distintas do vírus (CANAL et al. 1998; DIAS et al. 2013; OTONEL et al. 2014; SILVEIRA et al. 2015; MARQUES et al. 2016; BIANCHI et al. 2017; FIGUEIREDO et al. 2018). No sul do país, BVDV está amplamente difundido nos rebanhos bovinos, mais conhecidamente nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná (SILVEIRA et al. 2015). Nos estados gaúcho e paranaense, já foram relatados variados subgenótipos de BVDV em bovinos provenientes de propriedades voltadas à pecuária de corte e de leite (CANAL et al. 1998; LUNARDI et al. 2008; WEBER et al. 2014; MONTEIRO et al. 2018; FREITAS et al. 2021).

Em Santa Catarina, estudos apontaram soroprevalência para BVDV que varia de 28,5 a 58,2% entre diferentes regiões do estado (FINO, 2011; PASQUALOTO et al. 2015). A primeira detecção do vírus em bovinos no estado foi relatada ainda nos anos 90, quando BVDV-2 foi identificado em rebanhos com distúrbios reprodutivos (Gil, 1998). Mais recentemente, um subgenótipo de BVDV-1, nunca descrito nas Américas, foi detectado no rebanho catarinense (SILVEIRA et al. 2015).

Apesar de trabalhos envolvendo a identificação do BVDV em todo o território nacional, especialmente, nos estados vizinhos, Santa Catarina possui relatos escassos a respeito da circulação do vírus na bovinocultura e sua relação com distúrbios reprodutivos. Dessa forma, a prevalência real de BVDV em bovinos catarinenses, bem como a ocorrência de abortamentos pelo vírus, podem estar sendo subestimadas. Análises mais detalhadas com a pesquisa, identificação e tipificação do BVDV em fetos bovinos abortados, além da investigação epidemiológica envolvendo casos positivos são necessárias para o entendimento do potencial impacto do vírus na bovinocultura do estado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a ocorrência de abortamentos em bovinos no estado de Santa Catarina ocasionados pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV), aliando métodos moleculares e anatomopatológicos, bem como identificar espécies e subgenótipos circulantes no estado através do sequenciamento genético e filogenia, além de caracterizar epidemiologicamente as propriedades com casos positivos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Realizar um estudo retrospectivo envolvendo todos os fetos bovinos remetidos ao Laboratório de Patologia Animal (LAPA – CAV/UDESC) desde 2015, bem como necropsiar os fetos recebidos durante o período agosto de 2020 a julho de 2022.

b) Caracterizar o quadro anatomopatológico de fetos submetidos ao exame necroscópico.

c) Determinar, através da RT-PCR, a presença de BVDV em fetos bovinos abortados em diferentes idades gestacionais.

d) Identificar, por meio do sequenciamento genético dos produtos de amplificação e filogenia, espécies e subgenótipos de BVDV envolvidas nos quadros de abortamentos bovinos.

e) Realizar visitas técnicas e caracterizar as propriedades positivas para BVDV através da aplicação de inquérito epidemiológico aos proprietários e/ou colaboradores.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AGENTE ETIOLÓGICO

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) pertence a família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*, no qual estão agrupados, além do BVDV tipo 1 e 2, o vírus da peste suína clássica (CSFV) e o vírus da doença das fronteiras (SIMMONDS et al. 2011). Uma nova espécie de *Pestivirus* é composta por uma variedade de cepas virais atípicas capazes de infectar e causar doença em animais domésticos e silvestres, como o *Pestivirus* da girafa (AVALOS-RAMIREZ et al. 2001), de ratos (FIRTH et al. 2014) de morcegos (WU et al. 2012), de antílopes (VILCEK et al. 2005), vírus Bungowannah (KIRKLAND et al. 2007), vírus Aydin-like de ovinos da Turquia (OGUZOGLU et al. 2009), vírus de pequenos ruminantes da Tunísia (THABTI et al. 2005), vírus atípico de suínos (HAUSE et al. 2015). Há, ainda, uma espécie viral denominada de *Pestivirus* H, vírus *HoBi-like*, ou BVDV-3 (SCHIRMEIER et al. 2004).

O BVDV, assim como os demais integrantes do gênero *Pestivirus*, é pequeno, com diâmetro que varia entre 40 a 60 nm, capsídeo icosaédrico e com envelope de composição lipídica (GOENS, 2002; TAUTZ, 2015). O genoma é composto por RNA de fita simples e polaridade positiva, com tamanho aproximado de 12,3 kb, contendo uma grande e única fase aberta de leitura denominada ORF. Sua tradução origina uma única poliproteína que, ao ser clivada, origina 12 proteínas estruturais e não estruturais que compõem o vírion (NEILL, 2012). As proteínas não-estruturais do genoma do BVDV compreendem N^{pro}, P7, NS2/3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B e estão relacionadas ao processo de replicação viral. Já as proteínas estruturais: C, E^{ns}, E1 e E2, exercem funções de revestimento e proteção ao RNA viral e medeiam a entrada e saída das partículas virais das células infectadas (DONIS, 1995).

As cepas de BVDV podem ser classificadas em dois biótipos, citopático (CP) e não-citopático (NCP), de acordo com os efeitos em cultivo celular. O biótipo CP ocorre, principalmente, por alterações genômicas nas sequências de codificação da proteína estrutural NS2/3, que ao ser clivada, origina as proteínas NS2 e NS3, conferindo à cepa o caráter citopático e capacidade causar destruição das células infectadas (NEILL, 2012). O biótipo NCP possui um genoma inalterado, por produzirem NS2/3 não clivada, e uma pequena quantidade de NS2 e NS3 necessárias para replicação, tornando-o incapaz de causar destruição celular

(MENDEZ et al. 1998). Este biótipo compreende a maioria das cepas observadas nos rebanhos bovinos, responsável pela ocorrência de infecções crônicas e surgimento de animais persistentemente infectados (PI) (POCOCK et al. 1987).

A definição das espécies de *Pestivirus* é baseada em critérios relacionados ao hospedeiro de origem, comparação de sequências de nucleotídeos, bem como títulos de neutralização cruzada (SIMMONDS et al. 2017). No entanto, as cepas de BVDV apresentam alta variabilidade genética e antigênica intraespecíficas resultantes de diferentes processos que culminam na modificação do genoma viral, como o acúmulo de mutações pontuais resultantes de erros da RNA polimerase, recombinação de RNA não-homólogo e RNA homólogo. Estes mecanismos contribuem para o aumento da variabilidade genética do BVDV, bem como o surgimento de quasiespécies virais (WEBER et al. 2014, YESILBAG et al. 2017).

Além da distinção entre espécies, as cepas de BVDV podem ser divididas em subgenótipos através da genotipagem e filogenina, analisando regiões genômicas como 5'UTR, Npro, E2, principalmente (YESILBAG et al. 2017). Para BVDV-1, são descritos 22 subgenótipos (1a -1u) (OGUZOGU et al. 2019), enquanto para BVDV-2 há 4 subgenótipos identificados (2a – 2d) (YESILBAG et al. 2017). Para o BVDV-3, também há classificação em 4 subgenótipos (3a – 3d) (GIAMMARIOLI et al. 2015).

3.2 EPIDEMIOLOGIA

O BVDV está amplamente distribuído pelo mundo. Pesquisas sorológicas em diferentes regiões do planeta, evidenciaram uma prevalência que pode chegar a 67% a nível de rebanho e variar de 46,2 a 48,7% a nível animal, enquanto a ocorrência de bovinos persistentemente infectados (PI) com o vírus oscila entre 0,8%, na Europa e 1,6%, na Ásia, com prevalência mundial média de 0,36% a nível animal e 18,8% a nível de rebanho (SCHARNBOCK et al. 2018). O BVDV-1 é predominante em relação ao BVDV-2 em todo o mundo. Alguns subgenótipos ocorrem somente em determinados locais do planeta, sobretudo Ásia e Europa, onde há relatos de subtipos nunca identificados em outros continentes. Nas Américas, o BVDV-1 é a espécie predominante, porém, com menor variabilidade entre os subgenótipos (YESILBAG et al. 2017). No Brasil, assim como BVDV-1, o BVDV-2 possui alta frequência de relatos e maior prevalência da espécie em relação a outros países onde já foi relatada (WEBER et al. 2014; SILVEIRA et al. 2015).

A prevalência do BVDV pode estar relacionada ao tamanho do rebanho. A continuidade do agente é favorecida em rebanhos maiores, principalmente, pela maior exposição a animais externos (LINDBERG & HOUE, 2005). Com relação à idade, a soropositividade para BVDV pode ser maior conforme os animais envelhecem, possivelmente, pela maior chance de exposição ao vírus durante a vida (VASQUEZ et al. 2016; JOKAR et al. 2021). Quanto ao sistema de produção, há diferença significativa para a ocorrência de BVDV. Sarrazin et al. (2013) verificaram que rebanhos de corte apresentaram soroprevalência significativamente mais baixa, menor número de indivíduos PI e menos problemas relacionados ao BVDV se comparado a rebanhos mistos ou leiteiros, mesmo sem vacinação.

O fator chave da epidemiologia do BVDV se deve à ocorrência de animais PI nos rebanhos. A disseminação do agente depende, em grande parte, da presença do PI, possibilidade de contato entre os animais, virulência do vírus e presença de animais suscetíveis (THURMOND, 2005). O PI funciona como reservatório e principal fonte de disseminação do vírus para bovinos contactantes. A transmissão do vírus ocorre, principalmente, de forma horizontal, direta ou indireta, sobretudo quando o contato íntimo com o PI é facilitado, tornando-se a via de disseminação mais importante dentro de um rebanho (ARENHART et al. 2009).

Os animais PI surgem através de transmissão vertical ou transplacentária, devido a infecção materna pelo BVDV durante os primeiros 40 a 120 dias de gestação, e resulta em um feto imunotolerante ao vírus (LANYON et al. 2014). Pela viremia contínua, o PI é capaz de eliminar grandes quantidades de partículas virais através de secreções nasais, oculares, orais e genitais, além de urina e fezes. Em rebanhos de alta densidade, a transmissão ocorre de forma rápida, e o animal PI é capaz de contaminar todos os animais contactantes. Já em criações extensivas, a baixa concentração de animais reduz a velocidade de disseminação, que pode levar anos até atingir todo o rebanho (ARENHART et al. 2009).

Inúmeras situações podem facilitar a introdução de BVDV em um rebanho. O contato direto focinho-focinho entre bovinos de propriedades vizinhas é um fator de risco potencial, principalmente, quando o sistema de criação a pasto predomina, o que facilita a interação entre animais de rebanhos distintos (QI et al. 2019). A comercialização associada ao trânsito intenso de animais possibilita o ingresso de

animais PI, ou ainda, fêmeas prenhes gestando um produto PI, em rebanhos previamente livres dos vírus (GATES et al 2013; QI et al. 2019). Outras formas de transmissão do vírus incluem a contaminação de vacinas que possuam em sua formulação subprodutos biológicos, como soro fetal bovino, também por embriões e sêmen contaminados indevidamente tratados, exame de toque retal, bem como a utilização de instrumentos infectados (LANG-REE et al. 1994; VALLE et al. 1999; NISKANEN & LINDBERG, 2003). A transmissão por animais transitoriamente infectados (TI) é menos provável, uma vez que o período virêmico é consideravelmente mais curto, com eliminação de baixas cargas virais em comparação ao animal PI (LINDBERG & HOUE, 2005).

3.3 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

A intensidade das manifestações clínicas ocasionadas pela infecção do BVDV depende de fatores relacionados à idade do animal, momento de infecção, status reprodutivo e imunológico, bem como o tipo viral e virulência (RIDPATH, 2010). Apesar de sua nomenclatura indicar, principalmente, o acometimento o trato gastrointestinal, o BVDV está associado a uma variedade de manifestações clínicas que incluem diversos sistemas fisiológicos, sobretudo o hematológico, o imunológico, o respiratório e o reprodutivo (BLANCHARD et al. 2010; CHASE, 2013; HOPPE et al. 2019; OGUEJIOFOR et al. 2019; YITAGESU et al. 2021).

Entre uma variedade de quadros ocasionados pelo BVDV, a infecção aguda em animais imunologicamente incompetentes e, principalmente, não gestantes, ocasiona viremia temporária que se inicia em até 72 horas após a infecção e perdura por até 14 dias, resultando em soroconversão e imunidade duradoura (COLLINS et al. 2009; PEDRERA et al. 2011). A contaminação oro-nasal permite a invasão e rápida replicação do vírus primeiramente nas tonsilas faríngeas, seguido pela disseminação por meio de macrófagos e células dendríticas. Após propagação orgânica, órgãos como linfonodos, baço, timo, pulmões e fígado podem albergar grande carga viral (PEDRERA et al. 2011). Após a recuperação do animal afetado, o BVDV pode continuar circulante no sangue, dentro de células mononucleares, por 98 dias ou mais (COLLINS et al. 2009).

O BVDV interage de diversas formas com os mecanismos imunológicos. A

imunodepressão é comum e sua intensidade depende da cepa viral, com diferenças entre CP e NCP. O vírus é altamente capaz de invadir e destruir as células apresentadoras de antígeno, além de prejudicar a capacidade de fagocitose das células devido à redução da expressão de receptores fundamentais à ação fagocítica, e comprometer a captação e apresentação de antígenos aos linfócitos T (CHASE, 2013). Estudos demonstram aumento na taxa de apoptose, que pode estar relacionada a vários mecanismos celulares, como dano direto devido ao acúmulo de RNA intracelular, maior número de proteases específicas envolvidas na morte celular, bem como participação de macrófagos liberadores de citocinas apoptóticas, resultando depleção de linfócitos T, mas também de linfócitos B, principalmente em folículos de linfonodos e placas de Peyer (PEDRERA et al. 2009; CHASE, 2013).

O período virêmico induz piroxia por volta do oitavo dia após a infecção, além de leucopenia, linfopenia e trombocitopenia (COLLINS et al. 2009; BLANCHARD et al. 2010). O mecanismo pelo qual se origina a trombocitopenia ainda não está bem claro, mas estudos apontam a capacidade do BVDV de causar necrose mieloide e, especialmente, necrose de megacariócitos por determinadas cepas (SCRUGGS et al. 1995). No entanto, megacariócitos intactos ou hiperplásicos foram observados em animais acometidos por BVDV com trombocitopenia (CORAPI et al. 1989), o que evidencia a infecção plaquetária e/ou destruição imunomediada pelo vírus (BOLIN & RIDPATH, 1992).

O BVDV pode afetar dramaticamente a saúde geral do rebanho, e sinais inespecíficos relacionados à imunodepressão podem ser atribuídos ao vírus, como a queda na produção de leite, mastite clínica, aumento nas doenças respiratórias e entéricas (NISKANEN et al. 1995). O BVDV pode, ainda, atingir gânglios mioentéricos e da submucosa no trato gastrointestinal e promove a interrupção neural intestinal comum, resultando em motilidade intestinal desarranjada e, conseqüentemente, episódios de diarreia podem ser observados em animais agudamente infectados (WILHELMSSEN et al. 1990).

Animais acometidos por infecções transitórias podem, ainda, manter infecções prolongadas ou crônicas devido a capacidade do vírus de permanecer em órgãos reprodutivos e glóbulos brancos, o que favorece a contaminação de outros bovinos através de sangue e fluidos por meses após a infecção (COLLINS et al. 2009; GIVENS & MARLEY, 2013) . O vírus já foi identificado em diversos componentes teciduais testiculares e ovarianos por longos períodos após resolução do quadro agudo (GIVENS et al. 2003; GIVENS & MARLEY, 2013). O acometimento do trato reprodutor, tanto masculino quanto feminino por BVDV, está relacionado com as principais perdas econômicas e produtivas ocasionadas pelo vírus (EVERMANN & RIDPATH, 2002). Entre os efeitos ocasionados no trato reprodutivo da fêmea, pode-se ressaltar o declínio da fertilidade, com redução das taxas de concepção e prenhez em vacas suscetíveis quando a infecção ocorre antes ou no momento da reprodução (FRAY et al. 2000; PINIOR & KOFER et al. 2016). O vírus já foi associado ao aumento na incidência de perdas embrionárias e fetais, além de natimortalidade e retenção placentária (LARSSON et al. 1994).

Nos touros, o BVDV se replica em glândulas sexuais acessórias, principalmente, em vesícula seminal e próstata, com favorecimento na eliminação do vírus mesmo após o fim do período virêmico (KIRKLAND et al. 1991). A qualidade seminal de reprodutores PI ou com infecções temporárias pode não apresentar anormalidades (KIRKLAND et al. 1994), no entanto, diminuição significativa do volume espermático, além da presença de anomalias espermáticas, já foram relatados em animais agudamente infectados (KOMMISRUUD et al. 1996). A utilização de touros infectados, seja através da monta natural ou utilização de inseminação artificial, é capaz de reduzir a taxa de concepção das fêmeas (KIRKLAND et al. 1994). O sêmen de touros PI interferiu diretamente no suceso de técnicas de fertilização *in vitro*, reduzindo drasticamente a taxa de clivagem, bem como o desenvolvimento embrionário (GONZALEZ-ALTAMIRANDA et al. 2012).

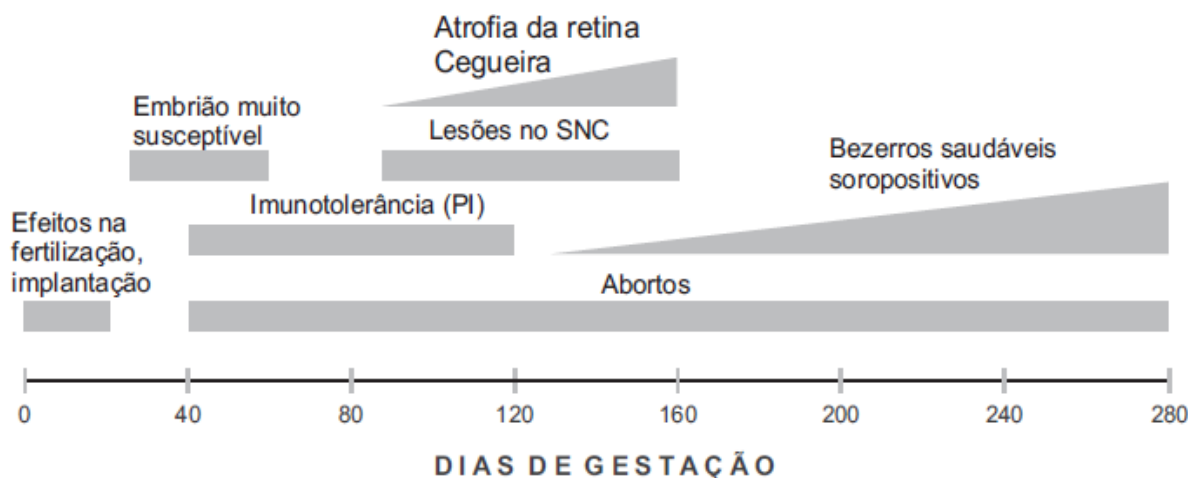
Nas matrizes bovinas PI ou agudamente infectadas, o BVDV pode ocorrer em todos os órgãos do trato reprodutor, com acometimento principalmente o estroma ovariano, incluindo células do cumulus e oócitos em diferentes estágios de maturação, o que possibilita a ocorrência de anormalidades fisiológicas e desregulação hormonal (FRAY et al 1998; GONZALEZ-ALTAMIRANDA et al. 2013).

Infecções agudas já foram relacionadas à ocorrência de ooforite e necrose das células da granulosa, além de promover irregularidades no crescimento folicular, alterações nos níveis de estradiol circulante, ocasionando magnitude baixa ou infrequente da liberação de LH, o que consequentemente pode silenciar o estro, além de atrasar ou impedir a ovulação (FRAY et al. 2002; MCGOWAN et al. 2003). A atividade ovariana pode, ainda, ser comprometida pela leucopenia sistêmica, uma vez que leucócitos estão presentes nos ovários durante todo o ciclo e são responsáveis pela liberação de citocinas e mediadores inflamatórios reguladores de atividades ovarianas (FRAY et al. 2002; WU et al. 2004). Em fêmeas PI, o efeito do BVDV sobre as células germinativas ocasiona uma drástica redução na população folicular ovariana (GONZALEZ-ALTAMIRANDA et al. 2013).

Os efeitos do BVDV sobre a gestação e desenvolvimento do concepto dependem do momento gestacional em que a infecção ocorre (HANSEN et al. 2010). As perdas ocasionadas pelo vírus durante os primeiros 45 dias de gestação estão relacionadas a falhas na fertilização, além de morte embrionária precoce (WHITMORE et al. 1981; GRAHN et al. 1984). Estudos demonstram que a zona pelúcida é altamente eficiente em proteger o embrião durante o desenvolvimento inicial (GROOMS, 2004), no entanto, mórulas desprovidas de zona pelúcida foram suscetíveis aos efeitos inibitórios de cepas CP de BVDV *in vitro* (VANROOSE et al. 1998). Além do comprometimento celular, alterações inflamatórias no útero, decorrentes da infecção viral, podem tornar o ambiente uterino incompatível com o desenvolvimento do embrião (GROOMS, 2004). A diminuição na concentração de progesterona plasmática durante a fase lútea inicial em vacas infectadas também já foi descrita, com comprometimento da concepção (FRAY et al. 2002).

Danos fetais por BVDV podem ocorrer em qualquer momento da gestação (Figura 1), embora o período entre 40 e 150 dias esteja relacionado a maior ocorrência de morte fetal, aborto, mumificação, malformações congênitas e geração de bezerros PI (MOENNING & LIESS, 1995). A morte do feto e o aborto subsequente podem estar ligados ao efeito da cepa sobre o concepto e a placenta. Vasculite na porção materna da placenta pode ocorrer, além do comprometimento e separação da unidade materno-fetal (FREDRIKSEN et al. 1999).

Figura 1. Efeitos da infecção pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) em bovinos conforme o período gestacional



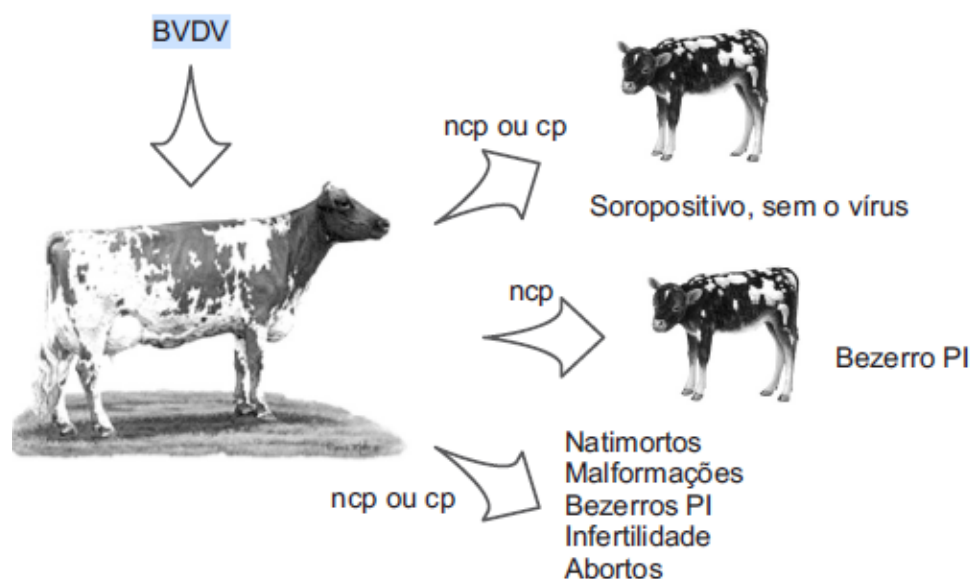
Fonte: FLORES, 2007

A infecção fetal entre 80 e 150 dias de gestação predispõe a ocorrência de malformações congênitas em uma gama de sistemas e órgãos (BAKER, 1995). O sistema nervoso central é frequentemente acometido, onde observa-se hipoplasia cerebelar, hidrocefalia, além de anormalidades na coluna vertebral, hipoplasia de timo, artrogripose e bragnatismo mandibular (BLANCHARD et al. 2010; LANYON et al. 2014). Os mecanismos patogênicos envolvidos no processo de malformações não são bem claros, mas acredita-se que combinação entre danos celulares e respostas inflamatórias pelo vírus são capazes de produzir tais alterações (CASTRUCCI et al. 1990). Bezerros com defeitos congênitos geralmente apresentam-se fracos, atáxicos e com andar cambaleante, principalmente, quando o sistema nervoso central está envolvido (BAKER, 1995).

Fetos que sobrevivem à infecção por BVDV até 120 dias, consequentemente desenvolvem imunotolerância e tornam-se PI quando acometidos por cepas NCP (GROOMS, 2004). A persistência da infecção ocorre pelo desenvolvimento incompleto dos tecidos linfoides, quando a imunidade humoral ainda é ineficaz, permitindo que as proteínas virais sejam reconhecidas como autoantígenos (Figura 2) (MCCLURKIN et al. 1984). Para que a infecção persista, é necessário que respostas imunes inatas e adaptativas sejam evitadas pelo vírus. Embora uma cepa CP seja capaz de atravessar a placenta e afetar o feto, seu envolvimento em infecções persistentes não foi observada (BROWNLIE et al. 1989; CANAL et al. 1998). A atribuição de infecção persistente somente às cepas NCP, refere-se a

habilidade da mesma em inibir a indução de IFN-1, um importante mediador da imunidade inata em infecções fetais precoces, o que não ocorre com cepas CP (CHARLESTON et al. 2001). Embora não haja produção de anticorpos contra o vírus causador da imunotolerância, erros durante a replicação viral podem originar quasiespécies de variantes antigênicas no organismo imunotolerante, com a geração de linfócitos B e produção de anticorpos neutralizantes (COLLINS et al. 1999).

Figura 2. Consequências da infecção de fêmeas prenhes pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) de acordo com o biótipo da cepa envolvida



PI: persistentemente infectado; **CP:** citopático; **NCP:** não citopático

Fonte: FLORES, 2007

A infecção aguda de matrizes prenhes suscetíveis é a origem mais frequente de animais PI, embora vacas PI origem somente descendentes PI (STOKSTAD et al. 2002). Estes animais podem ser clinicamente saudáveis, mas geralmente subdesenvolvidos e mais suscetíveis a infecções secundárias (BAKER, 1995; VOGES et al. 2006). Anormalidades no crescimento podem estar relacionados a diminuição de osteoclastos e baixa atividade de osteoblastos, comprometendo a modelagem trabecular de ossos longos (WEBB et al 2012). Animais PI podem ultrapassar os dois anos de idade, porém a capacidade de sobrevivência é limitada, principalmente, pela possibilidade de desenvolverem doença das mucosas (BOOTH & BROWNLIE, 2012).

A doença das mucosas (DM) é uma síndrome clínico-patológica que acomete animais PI. Para que ocorra, deve haver infecção com uma cepa CP de BVDV antigenicamente semelhante ou, mais frequentemente, por mutações na cepa NCP já circulante no animal PI (BROWNLIE et al. 1984; TAUTZ et al. 2003). Dessa forma, cepas CP e NCP são encontradas em animais com a doença (BOLIN et al. 2004). A cepa citopática promove a ativação e diferenciação de monócitos, inibindo a apresentação de antígenos a linfócitos T, o que desencadeia inflamação grave e aumento da viremia (LEE et al. 2009). A indução do apoptose celular é característica do quadro de DM, desencadeada por vias intrínsecas e extrínsecas, com acometimento principalmente placas de Peyer, o que resulta em depleção e atrofia linfoide (YAMANE et al. 2005; YAMANE et al. 2006; PEDRERA et al. 2012). Queratinócitos do trato espinhoso se tornam necróticos e lesões erosivas e ulcerativas surgem na pele, focinho, cavidade oral, esôfago e pró-ventrículos (BIELEFELDT-OHMANN, 1995).

Animais PI de todas as idades podem ser afetados pela doença, mas ocorre com mais frequência entre 6 meses e 2 anos. Lesões extensas ao longo do trato gastrointestinal são as características mais marcantes do quadro e predisõem a diarreia e infecções bacterianas secundárias, induzindo um quadro de doença perceptível. Entre outros achados clínicos, observa-se anorexia, febre, desidratação, inflamação de cascos e perda de condição corporal (BOLIN, 1995; KELLING et al. 2004). Dermatite é frequente na DM pelo tropismo do vírus por células epiteliais (DABAK et al. 2007). A doença possui alta taxa de mortalidade e animais vão a óbito dentro de uma a duas semanas após o início dos sinais clínicos (BAKER, 1995).

3.4 DIAGNÓSTICO

3.4.1 ISOLAMENTO VIRAL (IV)

O isolamento viral foi por muito tempo considerada a técnica padrão ouro para o diagnóstico de BVDV, utilizada para identificação viral em animais vivos através de amostras de sangue total, além de órgãos linfoides como baço, timo, linfonodos mesentéricos, placas de Peyer e pulmões de animais necropsiados e fetos abortados (SALIK & DUBOVI, 2004; SANTOS et al. 2011). Este método diagnóstico possui algumas desvantagens relacionadas à complexidade para realizá-lo, bem

como tempo para que o resultado seja obtido, necessidade de amostras virais íntegras, além de não possibilitar a identificação de infecção persistente ou transitória, a menos que novos testes sejam realizados posteriormente (DUBOVI, 2013; CORNISH et al. 2005). O isolamento viral pode ter sua eficácia comprometida quando utilizado para diagnóstico de BVDV em bezerros sob efeito da imunidade materna, pois a ação de anticorpos colostrais pode reduzir os níveis de vírus livre no soro (PALFI et al. 1993).

3.4.2 IMUNO-HISTOQUÍMICA (IHQ)

Programas de controle de BVDV envolvem diretamente a identificação de animais PI nos rebanhos, e podem contar com o auxílio da imuno-histoquímica (DUBOVI, 2013). Essa técnica possibilita um diagnóstico específico e sensível para *Pestivirus*, com a identificação de BVDV nas células epiteliais de amostras de pele fixadas em formalina e incluídas em parafina, utilizados para o diagnóstico de animais PI, bem como em tecidos de fetos abortados e natimortos (ELLIS et al. 1995; BEDEKOVIC et al. 2011; SANTOS et al. 2011). Encéfalo, pró-ventrículos, intestinos, fígado, rins, pulmões, medula óssea, linfonodos, orofaringe, entre outros órgãos, também podem ser utilizados para identificação do antígeno viral (SANTOS et al. 2011). Nos casos de animais com infecção transitória aguda, a marcação também ocorre, porém com menor intensidade (CORNISH et al. 2005). A técnica de IHQ possui a vantagem de não ser afetada pela presença de anticorpos maternos, dessa forma a presença do antígeno em amostras não é prejudicada por anticorpos anti-BVDV, o que permite a utilização do teste em animais de qualquer idade (HILBE et al. 2007). Uma desvantagem da IHQ refere-se a impossibilidade de caracterizar genotipicamente a amostra viral presente nos tecidos, uma vez que amplificação e sequenciamento do material genético depende da associação de outras técnicas (SANTOS et al. 2011).

3.4.3 ELISA PARA DETECÇÃO DE ANTÍGENO

O ensaio imunoenzimático (ELISA) apresenta boa sensibilidade e especificidade na detecção de BVDV, com frequente utilização para identificação de animais PI (KISH et al. 2013). As proteínas virais NS3 e Erns são altamente

conservadas entre as cepas de BVDV e utilizadas como antígenos alvo, o que possibilita a identificação, principalmente, em entalhes de orelha e soro, mas também em leite (DUBOVI, 2013). A detecção de infecções agudas também é possível através do ELISA de captura de antígeno apresentando negatividade em coletas posteriores de forma mais rápida do que a IHQ (CORNISH et al. 2005).

3.4.4 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE COM TRANSCRIPTASE REVERSA (RT-PCR) E SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

Com sensibilidade e especificidade de 100% e 99%, respectivamente, a análise molecular se tornou o método diagnóstico rotineiro para BVDV (CANAL et al. 1998; HILBE et al. 2007; SMITH et al. 2008), o que permite ser aplicada sobre uma variedade de amostras biológicas, incluindo soro, sangue, leite, tecidos e órgãos (KIM & DUBOVI, 2003). O resultado positivo não define o estado clínico do animal, uma vez que a técnica permite o diagnóstico de animais vacinados com vacinas vivas modificadas, infecções agudas e persistentes através da repetição das análises com intervalo mínimo de quatro semanas, com a positividade sucessiva indicativa de animais PI (DUBOVI, 2013; BHUDEVI & WEINSTOCK, 2003). A RT-PCR permite, ainda, o agrupamento de amostras e realização do teste através de *pools*. Em caso de *pools* positivos, as amostras ali contidas são testadas individualmente também pela RT-PCR a fim de determinar o animal infectado, com a diminuição dos custos para triagem de um rebanho (DUBOVI, 2013).

A genotipagem possibilita a caracterização genética dos isolados de BVDV, os quais apresentam importantes variações biológicas relacionadas à patogenicidade e apresentação clínica, além da variabilidade antigênica entre genótipos e subgenótipos (RIDPATH, 2003). A genotipagem associada à análise filogenética possibilitam estabelecer a ocorrência e distribuição de diferentes representantes de BVDV em determinadas regiões (WEBER et al. 2014), além da identificação de variantes atípicas do vírus (SCHIRRMIEIER et al. 2004). A tipificação do vírus detectado possui implicações no controle do agente nos rebanhos, uma vez que a utilização de vacinas com determinados genótipos e subgenótipos pode conferir imunidade insuficiente a animais desafiados por cepas diferentes das vacinais (FULTON & BURGE, 2000).

3.5 PREVENÇÃO E CONTROLE

Estratégias de controle do BVDV tem se mostrado eficazes quando há abrangência de diferentes pontos, incorporando a detecção e descarte de animais PI, estabelecimento da vacinação e biosseguridade (EVANS et al. 2019). Países europeus estabeleceram diferentes programas de controle e erradicação do BVDV, inicialmente com a pesquisa de indícios da circulação viral através da sorologia dos rebanhos, seguida pela busca por animais persistentemente infectados (MOENNING & YARNALL, 2021). Com a proibição do uso de vacinas para evitar interferência nos testes sorológicos, testagens em massa de leite a granel com a utilização ELISA foram realizadas na maioria dos países, além da testagem de bezerros recém-nascidos a partir de fragmentos de orelha e, animais adultos, através da coleta de sangue, através ELISA e RT-PCR (HOUE et al. 2006). Assim, criou-se um banco de dados do rebanho bovino, permitindo a rastreabilidade animal e restrições de trânsito e comércio foram impostas às propriedades com ocorrência de animais PI (MOENNING & YARNALL, 2021).

A vacinação é amplamente difundida como uma ferramenta de controle do vírus, mas sua necessidade pode ser questionada com base nas características dos rebanhos. Vacinas são indicadas em situações que há grande rotatividade animal, presença de animais soropositivos além de histórico de doença clínica e/ou reprodutiva com a confirmação do envolvimento do BVDV (RIDPATH, 2010). Atualmente, as vacinas contra BVDV possuem cepas do tipo 1 e 2, não há inclusão de cepas do vírus do tipo *Hobi* (BVDV-3). Vacinas vivas modificadas e vacinas inativadas são disponíveis no mercado na maioria dos países, embora a utilização não seja liberada em alguns países europeus (EVANS et al. 2019).

No Brasil, a maioria das vacinas contra BVDV disponíveis no mercado são polivalentes e contém antígenos contra outras doenças. A maioria é do tipo inativada, porém, há disponibilidade de uma vacina viva atenuada, ambas com cepas de BVDV-1 e BVDV-2, todas de origem internacional e produzidas a partir de cepas americanas e alemãs, por exemplo, e conferem baixa eficácia contra as variantes em circulação no território nacional (FLORES et al. 2005; SILVA et al. 2021). Estudos demonstraram variações biológicas de rebanhos brasileiros em resposta à vacinação, como grande circulação viral e presença de animais TI,

grande variação de títulos na avaliação sorológica em rebanhos vacinados (DAZEN et al. 2013). A ocorrência de diferentes espécies, subgenótipos e variantes antigênicas em circulação resulta por falhas vacinais, principalmente relacionadas à proteção fetal (FLORES et al. 2000). Dessa forma, as vacinas devem conter em sua composição espécies e subtipos presentes no território em que será aplicada (RIDPATH, 2010).

4 Abortamentos em bovinos associados ao vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil

RESUMO

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é um importante patógeno relacionado a falhas reprodutivas em bovinos no mundo. O objetivo deste trabalho foi detectar BVDV em fetos bovinos abortados em Santa Catarina, Brasil. Entre 2015 e 2022, 87 fetos bovinos foram submetidos à necropsia e exame histopatológico. Fragmentos de baço e timo congelados foram destinados à RT-PCR de *Pestivirus* de ruminantes, com positividade em 5,7% (5/87) dos fetos. Adicionalmente, três fetos foram também positivos para *Neospora caninum* por meio da PCR. A análise anatomopatológica dos fetos positivos para BVDV evidenciou alterações macroscópicas compostas por mumificação fetal (1/5), edema subcutâneo (1/5), hepatomegalia (1/5) e edema perirrenal (1/5). As lesões histológicas predominantes foram compostas por infiltrado linfoplasmocitário discreto a moderado em epicárdio e miocárdio (5/5), músculo esquelético (4/5) e pulmões (4/5). Em placenta, havia infiltrado linfoplasmocitário predominante, discreto a moderado (2/3), além de mineralização da mucosa (1/3). Em um feto (1/5), nos pulmões havia hemorragia e trombose, multifocais, moderadas; em rins, necrose tubular acompanhada por infiltrado linfoplasmocitário intersticial, multifocais, moderados; em fígado, trombose e degeneração hepatocelular, multifocais, discretas, necrose fibrinoide e infiltrado linfoplasmocitário, multifocais, moderados; na medula óssea, necrose fibrinoide multifocal, discreta; em medula espinhal, infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto em meninges; em timo, hemorragia difusa, moderada. Os produtos amplificados na RT-PCR de *Pestivirus* foram submetidos à genotipagem, tendo como alvo a região 5'UTR do genoma viral, resultando no sequenciamento de amostras de quatro fetos. As sequências obtidas foram analisadas e comparadas pelo *nucleotide* BLAST na plataforma GenBank, com sequências semelhantes já depositadas. O grau de semelhança entre as cepas fetais com cepas europeias e brasileiras de BVDV-1 e BVDV2 variou de 96,34 a 100%. O subgenótipo 1e foi atribuído a três fetos (3/4) e o 2b, a um. A árvore filogenética evidenciou a distribuição das cepas fetais em dois ramos distintos, correspondendo ao BVDV-1 e BVDV-2. As cepas designadas como 1e formaram um único *cluster*, com ancestral evolutivo distante das demais cepas de referência. A cepa correspondente ao 2b agrupou-se com as cepas do grupo, ocupando o mesmo nodo terminal que a cepa Soldan. As propriedades com fetos positivos para BVDV apresentavam distúrbios atribuíveis a ação do vírus, como infertilidade e abortamentos frequentes, além de fatores relacionados à introdução e manutenção do agente nos rebanhos, tais como o aquisição frequente de matrizes prenhes, possibilidade de contato direto com animais de fazendas vizinhas, bem como o compartilhamento de touros. Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a ocorrência do BVDV em abortos oriundos de rebanhos bovinos catarinenses, bem como a sua difusão territorial e variabilidade genotípica.

Palavras-chave: Perda reprodutiva. Genotipagem. Virologia. Patologia.

ABSTRACT

Bovine viral diarrhea virus (BVDV) is an important pathogen related to reproductive failure in cattle worldwide. The objective of this work was to detect BVDV in aborted bovine fetuses in Santa Catarina, Brazil. Between 2015 and 2022, 87 bovine fetuses underwent necropsy and histopathological examination. Frozen spleen and thymus fragments were used for RT-PCR of *Pestivirus* in ruminants, with positivity in 5.7% (5/87) of fetuses. Additionally, three fetuses were also positive for *Neospora caninum* by PCR. Anatomopathological analysis of BVDV-positive fetuses showed macroscopic alterations composed of fetal mummification (1/5), subcutaneous edema (1/5), hepatomegaly (1/5) and perirenal edema (1/5). The predominant histological lesions were composed of mild to moderate lymphoplasmacytic infiltrate in the epicardium and myocardium (5/5), skeletal muscle (4/5) and lungs (4/5). In the placenta, there was predominant lymphoplasmacytic infiltrate, mild to moderate (2/3), in addition to mucosal mineralization (1/3). In one fetus (1/5), there was moderate multifocal hemorrhage and thrombosis in the lungs; in kidneys, tubular necrosis accompanied by interstitial, multifocal, moderate lymphoplasmacytic infiltrate; in liver, thrombosis and hepatocellular degeneration, multifocal, mild, fibrinoid necrosis and lymphoplasmacytic infiltrate, multifocal, moderate; in bone marrow, mild, multifocal fibrinoid necrosis; in the spinal cord, multifocal lymphoplasmacytic infiltrate, discreet in the meninges; in thymus, diffuse, moderate hemorrhage. The products amplified in the *Pestivirus* RT-PCR were subjected to genotyping, targeting the 5'UTR region of the viral genome, resulting in the sequencing of samples from four fetuses. The sequences obtained were analyzed and compared by *nucleotide* BLAST on the GenBank platform, with similar sequences already deposited. The degree of similarity between fetal strains with European and Brazilian strains of BVDV-1 and BVDV2 ranged from 96.34 to 100%. Subgenotype 1e was assigned to three fetuses (3/4) and 2b to one. The phylogenetic tree showed the distribution of fetal strains in two distinct branches, corresponding to BVDV-1 and BVDV-2. The strains designated as 1e formed a single cluster, with an evolutionary ancestor distant from the other reference strains. The strain corresponding to 2b clustered with the strains of the group, occupying the same terminal node as the Soldan strain. The properties with BVDV positive fetuses presented disorders attributable to the action of the virus, such as infertility and frequent abortions, in addition to factors related to the introduction and maintenance of the agent in the herds, such as the frequent acquisition of pregnant matrices, possibility of direct contact with animals of neighboring farms, as well as bull sharing. The results obtained in this work show the occurrence of BVDV in abortions from cattle herds in Santa Catarina, as well as its territorial spread and genotypic variability.

Keywords: Reproductive loss. Genotyping. Virology. Pathology.

5 INTRODUÇÃO

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV), é um membro da família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*. São vírus pequenos, de genoma composto por RNA fita simples de polaridade positiva, com tamanho aproximada de 12,3 kb (NEILL, 2012; TAUTZ, 2015). BVDV possui distribuição mundial e ampla variabilidade genética e antigênica, sendo classificado em duas espécies distintas, BVDV-1 e BVDV-2, que subdividem-se respectivamente em 21 e 4 subgnótipos (YESILBAG et al. 2017). Uma nova espécie foi caracterizada como HoBi-*like* ou BVDV-3 (SCHIRRMIEIER et al. 2004). Os *Pestivirus* podem ser classificados ainda de acordo com o biótipo em citopatogênico (CP) e não-citopatogênico (NCP), conforme a capacidade de destruição de células em cultivo celular (NEILL, 2012).

A infecção por BVDV possui grande impacto econômico e sobre a saúde animal, e compromete principalmente a eficiência produtiva e reprodutiva dos bovinos (EVERMANN & RIDPATH, 2002). Seus efeitos na reprodução dependem do período em que a infecção ocorre e pode ocasionar haver mortalidade embrionária precoce, abortamentos, natimortalidade, malformações, bem como nascimento de bezerros fracos e persistentemente infectados (PI) (BLENCHARD et al. 2010; SPETTER et al. 2020). O fator chave da epidemiologia é a ocorrência de animais PI, que resultam da transmissão vertical do vírus até os 120 de gestação, com o desenvolvimento de feto imunotolerante capaz de eliminar grandes quantidades de partículas virais no ambiente (ARENHART et al. 2009).

O BVDV é amplamente reconhecido com um agente causador de abortamentos em bovinos, que podem ocorrer em qualquer momento da gestação (GROOMS, 2005). O diagnóstico desse distúrbio é, muitas vezes, dificultoso, em virtude da baixa qualidade das amostras fetais analisadas, relacionadas principalmente ao nível de autólise tecidual e integridade do RNA viral, uma vez que intervalo entre a morte fetal por BVDV e expulsão uterina pode levar até 50 dias (RIDPATH et al. 2013). O quadro anatomopatológico de fetos abortados pelo vírus é, muitas vezes, pouco elucidativo, frequentemente com lesões discretas ou inexistentes (KIRKIBRIDE et al. 1986). A associação com técnicas moleculares deve ser considerada para o diagnóstico de BVDV em fetos, devido a alta sensibilidade e especificidade proporcionada pela RT-PCR (GRAHAM et al. 2009).

São escassos os relatos abrangentes sobre abortamento bovinos por BVDV no Brasil e no mundo (ANDERSON et al. 1990; BLENCARD et al. 2010; SPETTER et al. 2020; FRITZEN et al. 2021). Em Santa Catarina, não há descrição do BVDV relacionado a abortamentos em bovinos, mesmo com evidências de circulação do vírus nos rebanhos, com soprovelência que pode chegar a aproximadamente 60% (PASQUALOTO et al. 2015). A primeira detecção do vírus ocorreu na década de 90 (GIL, 1998) e demonstrou a presença de BVDV-2 no estado. Mais tarde, o BVDV-1 também foi identificado, bem como diferentes subgenótipos pertencentes às duas espécies (MOSENA et al. 2022).

O objetivo deste estudo é identificar o BVDV em amostras de fetos abortados em diferentes regiões do estado de Santa Catarina, caracterizando o quadro anatomopatológico associado à ocorrência à infecção, bem como tipificar as cepas virais através da genotipagem e filogenia.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Necropsia e colheita de materiais

Fetos bovinos abortados oriundos de diferentes regiões do estado de Santa Catarina remetidos ao Laboratório de Patologia Animal - LAPA/AV/UEDESC foram necropsiados mediante histórico clínico e epidemiológico. Durante a necropsia, inicialmente, mensurou-se o comprimento crânio-coccígeo dos fetos para determinação do período gestacional aproximado em que ocorreu o abortamento, conforme White et al. (1985). Em seguida, procedeu-se uma análise corporal externa, mucosas e possíveis lesões. Após isso, seguiu-se com a abertura das cavidades e avaliação macroscópica *in situ*. Cada órgão foi removido e fragmentos de aproximadamente 2x2 cm foram coletados e acondicionados em formalina tamponada 10%. Além disso, amostras de baço e timo foram coletadas e acondicionadas em microtubos, preservados a uma temperatura de -80°C para posterior submissão à análise molecular para *Pestivirus* de ruminantes, bem como fragmentos de encéfalo para análise molecular de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*, além de fígado e rim para detecção molecular de *Leptospira* spp. Para cultivo microbiológico aeróbico, amostras de fígado, pulmão e líquido abomasal foram coletadas e mantidas sob refrigeração.

6.2 Análise histopatológica

Os fragmentos de tecidos acondicionados em formalina tamponada a 10% foram clivados, incluídos em blocos de parafina e processados rotineiramente pela técnica de hematoxilina e eosina (HE), para visualização em microscopia óptica.

6.3 Análise molecular (RT-PCR) para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV)

Amostras compostas por aproximadamente 5g de baço e timo, mantidas a uma temperatura de -80°C, foram analisadas em *pools* contendo 10 amostras cada e submetidas a RT-PCR para (BVDV). A extração de RNA viral foi realizada pelo método Trizol (TRIzol™ LS Reagent, ThermoFischer Scientific®). A síntese do DNA complementar (cDNA) foi realizada utilizando o kit GoScript™ (Reverse Transcription System, Promega®) e a PCR foi realizada utilizando a enzima GoTaq™ (DNA polymerase, Promega®), de acordo com as instruções do fabricante. Foi utilizado o par de *primers* 324F e 326R (5'ATGCCCTTAGTAGGACTAGCA-3')/(5'TCAACTCCA TGTGCCATGTAC -3') (Vilcek et al.1994), que amplifica um produto de 288pb da

região 5'UTR do genoma dos *pestivírus*. A PCR foi realizada nas seguintes condições: Desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos; Seguida de 35 ciclos compostos por 95°C durante 30 segundos, 56°C por 30 segundos e 72°C durante 30 segundos; Extensão final a 72°C por 7 minutos. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, com posterior visualização sob lâmpada ultravioleta.

6.4 Análises complementares para diagnósticos diferenciais

Testes diagnósticos adicionais foram realizados para descartar outras causas potenciais de abortamento em bovinos. A análise molecular (PCR) para pesquisa de *Neospora caninum* foi realizada com base na metodologia Müller et al. (1996) e, para *Toxoplasma gondii*, com base em Moura et al. (2011). Para extração do DNA, aproximadamente 5g de encéfalo de cada feto bovino foi incubado com 500µL de tampão de lise e 5µ de proteinase K *overnight* a 42°C. Após, a extração do DNA foi realizada pelo método de fenol-clorofórmio. Os *primers* selecionados para *T. gondii*, SAG2.F4/SAG2.R4(59GCTACCTCGAACAGGAACAC39)/(59GCATCAACAGTCTTCGTTGC39), respectivamente, amplificando separadamente as extremidades 59 e 39 do locus SAG2 de *T. gondii* com produtos de 340pb. Amplificação ocorreu em termociclador com desnaturação inicial a 94°C por 3min, seguida por 40 ciclos a 94°C por 45seg para desnaturação, a 60.5°C por 30seg para anelamento, a 72°C por 40seg para extensão; e com extensão final a 72°C por 10 min. As amostras amplificadas foram submetidas a eletroforese em gel de agarose a 1,5% para visualização. Os controles positivos utilizados foram taquizoítos purificados de *T. gondii* e os controles negativos foram compostos por água ultrapura autoclavada. Para *N. caninum*, a região Nc5 foi selecionada como a sequência alvo para amplificação de DNA. Os *primers* Np21/Np6 (5'-CCCAGTGCGTCCAATCCTGTA-3')/(5'-CTCGCCAGTCAACCTACGTCTTCT-3') amplificaram um produto de 337pb. As condições do termociclador e da eletroforese foram as mesmas descritas para PCR de *T. gondii*, com controle positivo composto por taquizoítos da cepa Nc-Bahia, e controle negativo por água ultrapura autoclavada.

Para pesquisa de *Leptospira* spp. fragmentos de rim e fígado foram submetidos à PCR em Laboratório particular (metodologia não informada). Para pesquisa de possíveis agentes bacterianos, amostras de fígado, pulmão e líquido abomasal foram submetidas à cultura aeróbica de acordo com Quinn et al. (2007).

6.5 Sequenciamento genético e análise filogenética do vírus da diarreia viral bovina (BVDV)

As amostras positivas para BVDV na RT-PCR foram purificadas com o auxílio de um *kit* comercial (Wizard SV Gel and PCR Clean-up System, Promega). Para reação do sequenciamento, foi usado o *kit* BigDye™ Terminator 3.1 Cycle Sequencing Kit (ThermoFischer Scientific®). Em seguida, as amostras tiveram suas sequências obtidas pelo método Sanger em um equipamento automático (ABI-PRISM 3100 Genetic Analyzer, ThermoFischer Scientific®), nos sentidos forward e reverse. As sequências parciais de 288bp da 5'UTR foram montadas utilizando o programa BioEdit™ 7.2, e as sequências obtidas posteriormente submetidas à análise pelo nucleotid BLAST na plataforma GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para confirmação de sua identidade. Para análise filogenética, sequências de cepas de *Pestivirus* foram coletadas do GenBank e alinhadas com as sequências obtidas no presente trabalho com CLUSTAL W™, conforme Thompson et al. (1994). A construção da árvore filogenética ocorreu pelo *software* MEGA11, utilizando o método Maximum Likelihood com análise *bootstrap* de 500 repetições e modelo estatístico Kimura 2-parâmetros. Foram utilizadas as sequências obtidas da região 5'UTR do genoma viral encontrado nos fetos bovinos, bem como sequências de cepas nacionais e internacionais de diferentes subgenótipos, como referência. A cepa LVCER18914 (KP715143.1), correspondente ao vírus tipo do *HoBi-like* (BVDV-3), foi utilizada como *outgroup*.

6.6 Caracterização das propriedades positivas e investigação epidemiológica

Em propriedades com casos positivos para BVDV, foi aplicado um inquérito epidemiológico (Apêndice I) para coletar informações a respeito de potenciais fatores associados à ocorrência de BVDV. Proprietários e/ou colaboradores foram submetidos a aproximadamente 35 questões fechadas sobre características gerais da propriedade e manejo dos animais, bem como aspectos ligados à biosseguridade do plantel, principalmente, no que se refere ao trânsito e rotatividade de animais. Aspectos da reprodução e distúrbios reprodutivos foram abordados. Foram pesquisadas informações mais detalhadas a respeito do animal acometido por aborto, natimortalidade e/ou malformações, bem como a origem dos progenitores.

7 RESULTADOS

7.1 Origem e caracterização dos fetos bovinos

Entre 2015 e 2020, 87 fetos bovinos de diferentes raças e idades gestacionais, provenientes de diferentes regiões do estado catarinense foram analisados no LAPA/CAV/UDESC mediante histórico do animal e propriedade de origem.

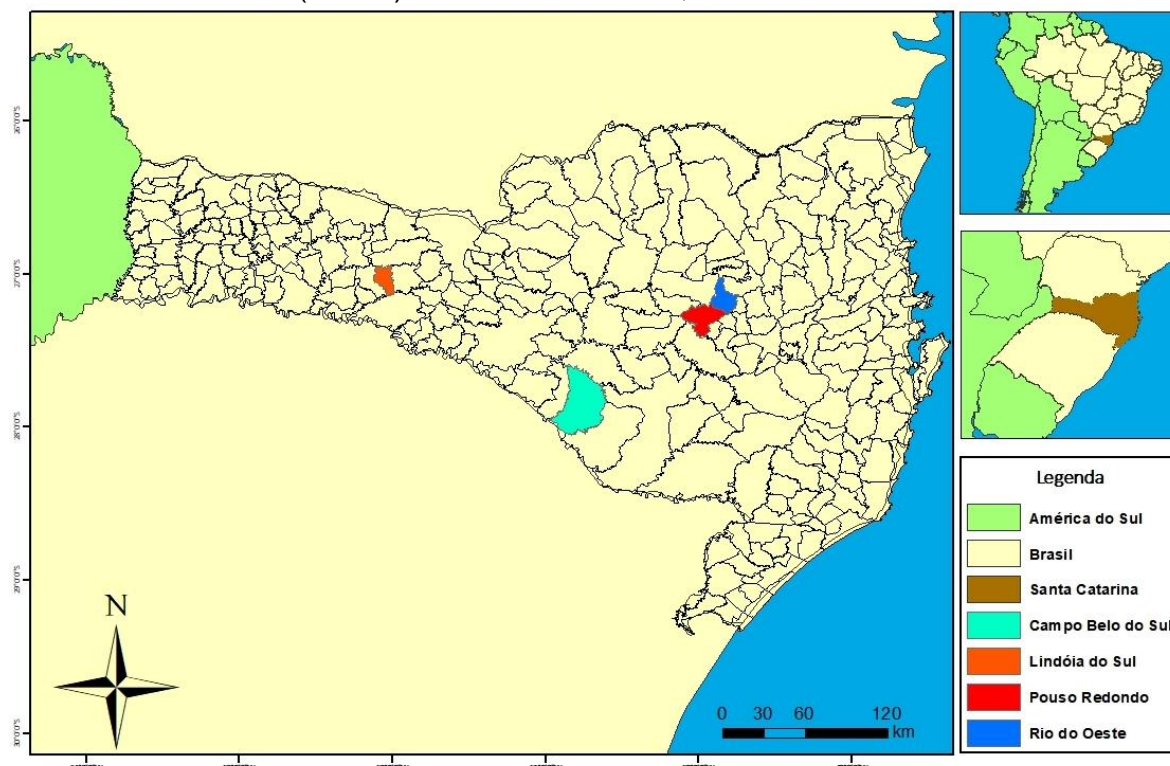
Deste total, em 5,74% (5/87) dos casos, obteve-se diagnóstico final de infecção por BVDV. Quanto a origem geográfica dos casos positivos, houve o envolvimento de três mesorregiões do estado. Três fetos (3/5) eram provenientes do Vale do Itajaí, dos municípios de Pouso Redondo (-27.255791, -49.932510) e Rio do Oeste (-27.191605, -49.797281). Um feto (1/5) era oriundo da região Serrana, do município de Campo Belo do Sul (-27.898565, -50.761049) e, um feto (1/5) da região Oeste, pertencente ao município de Lindóia do Sul (-27.053390, -52.084675). A disposição dos municípios com fetos positivos no estado encontra-se na Figura 3. Com relação ao gênero dos fetos, dois (2/5) eram fêmeas e, três (3/5) eram machos. As raças observadas foram a Holandês, em dois fetos (2/5), seguida pela raça Jersey, mestiça leiteira e mestiça de corte, com um feto cada. A idade gestacional revelou que três (3/5) dos abortamentos ocorreram no terço médio, um (1/5) no terço inicial e, um (1/5) no terço final. A identificação fetal e as informações detalhadas envolvendo cada caso positivo para BVDV estão dispostas na Tabela 1.

Tabela 1. Origem e caracterização quanto ao sexo, raça, e idade gestacional de fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil.

Fetos	Gênero	Idade gestacional (meses)	Raça	Origem
1	Macho	4	Mestiça leiteira	Pouso Redondo/SC
2	Macho	5	Holandesa	Rio do Oeste/SC
3	Fêmea	3	Jersey	Pouso Redondo/SC
4	Macho	7	Holandesa	Lindóia do Sul/SC
5	Fêmea	4	Mestiça corte	Campo Belo do Sul/SC

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Figura 3. Disposição dos municípios com fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil.

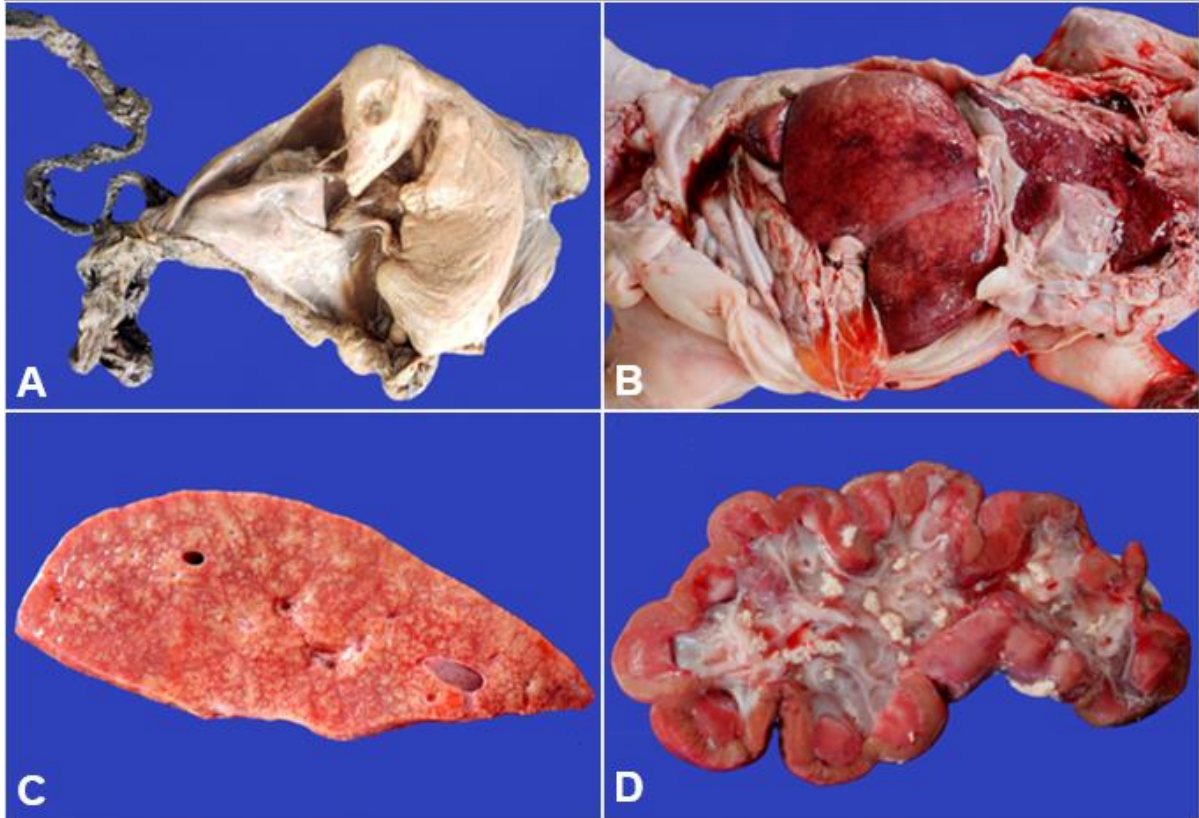


Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

7.2 Análise anatomopatológica

Entre os fetos positivos para BVDV, quatro (4/5) apresentaram alterações macroscópicas. A análise revelou mumificação em um feto (feto 3), caracterizado por tecidos de aspecto coriáceo e completamente desidratados (Figura 4A). Em um caso (feto 4), observou-se hepatomegalia difusa acentuada, com áreas multifociais à coalescente variando de amareladas a vermelho escuro, além de padrão lobular moderadamente evidente (Figuras 4B-C). Neste feto evidenciou-se, ainda, edema perirrenal e renal, difusos, moderados (Figura 4D), além de edema focalmente extenso, moderado, em subcutâneo. A placenta estava disponível para análise em três casos (60%), apresentando-se completamente ressecada em um caso (feto 3 mumificado) e sem alterações macroscópica nas demais.

Figura 4. Alterações macroscópicas encontradas em fetos bovinos com infecção pelo BVDV em Santa Catarina, Brasil. **A)** Mumificação fetal. **B) Fígado:** hepatomegalia difusa, acentuada, além de áreas multifociais à coalescente variando de amareladas a vermelho escuro. **C) Fígado:** padrão lobular moderadamente evidente. **D) Rim:** edema difuso, moderado.



Fonte: O próprio autor, 2022.

No exame histopatológico todos os fetos positivos para BVDV (5/5) apresentaram lesões. Nos cinco fetos, a principal lesão foi no coração, caracterizada por infiltrado linfoplasmocitário multifocal, variando de discreto a moderado, em miocárdio (Figura 5A) e, principalmente, em epicárdio (Figura 5B). Em quatro fetos (1, 2, 4 e 5), observou-se infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto a moderado em músculo esquelético (Figura 5C) e, multifocal, discreto, em septos interaoveolares dos pulmões. Ainda nos pulmões, o feto 4 apresentou hemorragia subpleural e trombose vascular, multifocais, moderadas (Figura 5D). As lesões placentárias ocorreram em 2 casos, sendo caracterizadas por infiltrado linfoplasmocitário difuso, moderado, acompanhado por mineralização multifocal, discreta, na mucosa (caso 1) (Figura 5E) e infiltrado predominantemente linfoplasmocitário, além de macrófagos e neutrófilos, difusos, moderados na mucosa (caso 3). Em um feto (feto 4), verificou-se lesões em rins, fígado, medula óssea e

medula espinhal. Nos rins, havia necrose tubular e infiltrado linfoplasmocitário intersticial, multifocais, moderados (Figura 5F), além de edema na região subcapsular. Em fígado, constatou-se necrose fibrinoide e hemorragia, acompanhadas por infiltrado linfoplasmocitário, multifocais, moderados (Figura 5G), além de degeneração hepatocelular e trombos de fibrina em sinusoides, multifocais, discretos. Na medula óssea, foi observada necrose fibrinoide multifocal, discreta (Figura 5H). Em medula espinhal, havia infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto, nas meninges (Figura 5I) e, no timo, hemorragia difusa, moderada (Figura 5J). Em todos os fetos não foram observadas lesões encefálicas. A distribuição das lesões histológicas pelos diferentes órgãos, bem como a intensidade, estão dispostas na Tabela 2.

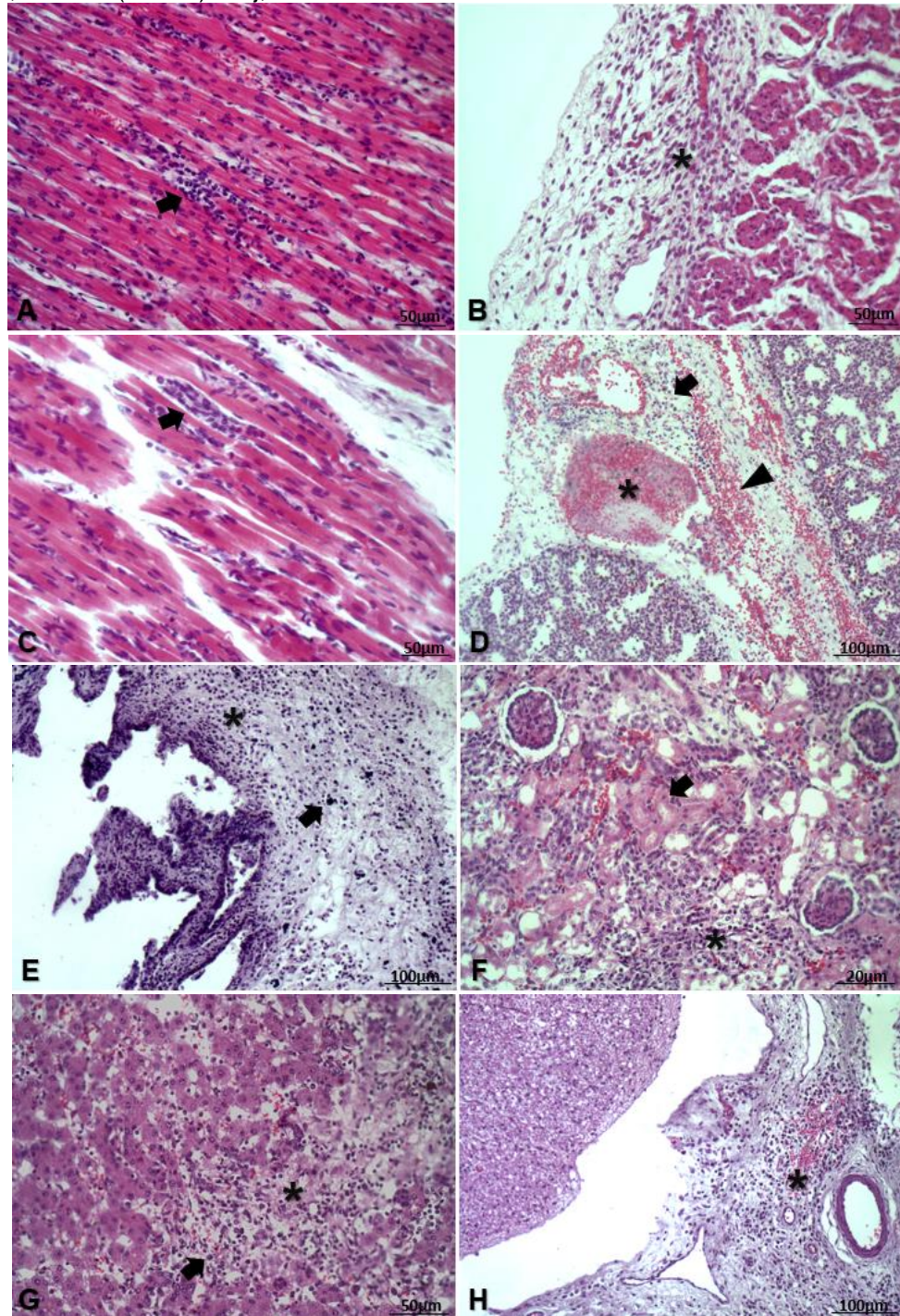
Tabela 2. Ocorrência e intensidade de lesões histológicas observadas em diferentes órgãos de fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil.

Lesões histopatológicas										
Feto	Coração	Músculo	Placenta	Pulmão	Fígado	Rim	Medula óssea	Medula espinhal	Timo	Encéfalo
1	+	++	++	+	-	-	-	-	-	-
2	++	+	-	+	-	-	-	-	-	-
3	+	-	++	-	-	-	-	-	-	-
4	+	++	-	++	++	++	+	+	++	-
5	++	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Total	5	4	2	4	1	1	1	1	1	0

Intensidade de lesão: (+) discreta; (++) moderada; (-) ausente.

Fonte: o próprio autor, 2022.

Figura 5. Lesões histológicas em fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil. **A) Miocárdio:** infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto (seta). Obj. 20x. **B) Epicárdio:** infiltrado linfoplasmocitário multifocal, moderado (asterisco). Obj. 10x. **C) Músculo esquelético:** infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto (seta). Obj. 20x. **D) Pulmão:** trombose multifocal, moderada (asterisco), hemorragia multifocal, moderada (ponta de seta) e infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto (seta). Obj. 10x. **E) Placenta:** infiltrado linfoplasmocitário difuso, moderado (asterisco) e mineralização multifocal, discreta (seta). Obj. 10x. **F) Rim:** necrose tubular (seta) e infiltrado linfoplasmocitário intersticial (asterisco), multifocais, moderados. Obj. 40x. **G: Fígado:** necrose fibrinoide (asterisco), acompanhada por infiltrado linfoplasmocitário (seta), multifocais, moderados. Obj. 20x. **H: Medula espinhal - meninge:** infiltrado linfoplasmocitário multifocal, discreto (estrela). Obj. 10x.



Fonte: o próprio autor, 2022.

7.3 Análise molecular (RT-PCR), sequenciamento genético e análise filogenética do vírus da diarréia viral bovina (BVDV)

Nas 87 amostras fetais de baço e timo submetidas à RT-PCR, houve amplificação de produtos com aproximadamente 288pb da região 5'UTR dos *Pestivirus* em cinco fetos, evidenciado a presença do BVDV em 5,74% dos casos.

O produtos amplificados na RT-PCR, submetidos ao sequenciamento genético e analisadas através *nucleotide* BLAST para comparação com sequências contidas no *GenBank*, evidenciou que em três fetos (fetos 1, 2, 5), as sequências foram atribuídas ao BVDV-1, enquanto que em um feto (feto 4), ao BVDV-2. Não foi possível classificar a espécie e o subgenótipo viral em um feto (feto 3), por impossibilidade do sequenciamento devido a má qualidade do material obtido na RT-PCR, possivelmente em consequência da mumificação fetal.

Para o feto 1 (SC-Feto-1), o grau máximo de semelhança foi de 96,43% com a cepa europeia bo228/02-GI (AY159554.1), de origem espanhola e pertencente ao subgenótipo 1e. Para o feto 2 (SC-Feto-2), a máxima semelhança observada foi de 96,50%, também com a cepa bo228/02-GI (AY159554.1) e 96,34% com a cepa Alemã 1891/19 (AJ304384.1), caracterizada como subgenótipo 1g. Para o feto 4, a cepa brasileira LV/587/17 (OL412543.1), originária do Rio Grande do Sul e caracterizada BVDV-2b, obteve 96,30% de similaridade. O feto 5 obteve 100% de semelhança com quatro cepas europeias, bo228/02-GI (AY159554.1), MRI1232 (LT901611.1) britânica e 21-07 (KF205276.1) francesa, pertencentes ao subgenótipo 1e, e, assim como o feto 2, mostrou-se semelhante à cepa alemã 1891/19 (AJ304384.1), subgenótipo 1g. A disposição dos fetos conforme a identificação das espécies e subgenótipos de BVDV diagnosticados encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3. Classificação dos fetos bovinos positivos para o vírus da diarréia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil, com base nas espécies e subgenótipos identificados.

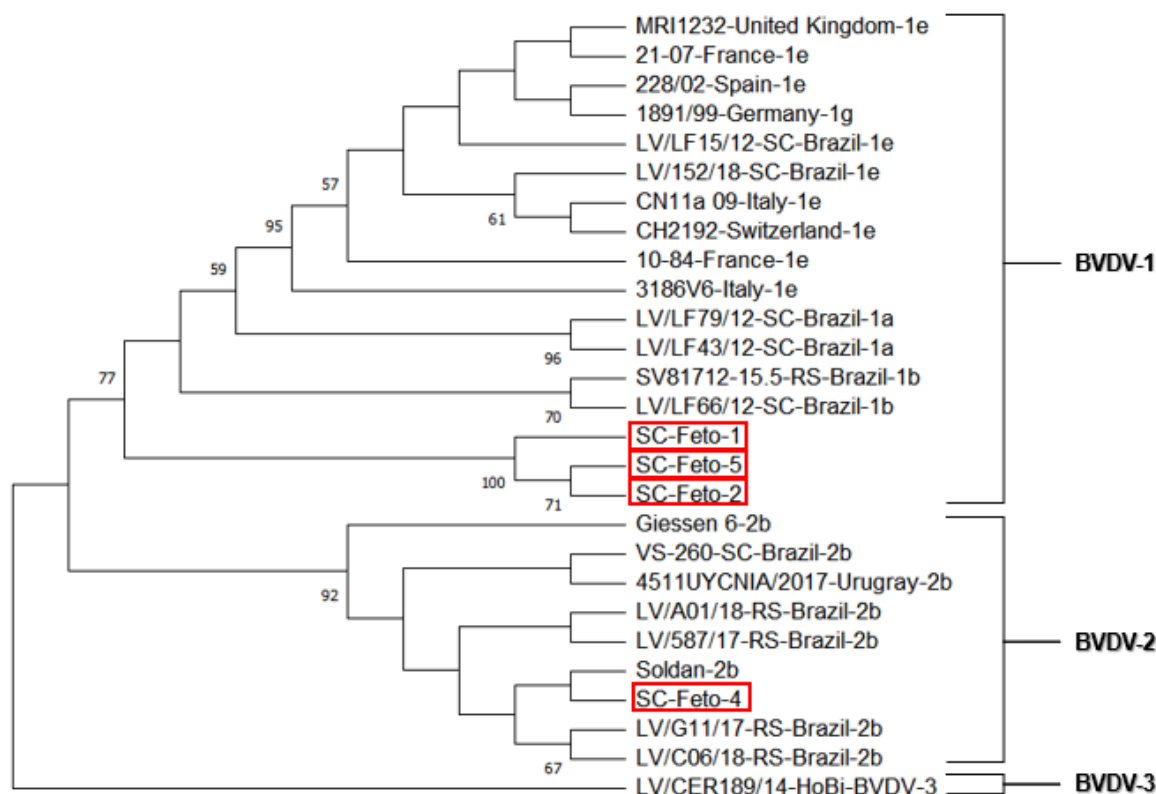
Feto	Idade gestacional	Espécie BVDV	Subgenótipo BVDV
1	4	BVDV – 1	e
2	5	BVDV – 1	e
3	3	-	-
4	7	BVDV – 2	b
5	4	BVDV – 1	e

(-): não identificado.

Fonte: o próprio autor, 2022.

A árvore filogenética resultante (Figura 6) ficou subdividida em três braços, correspondendo ao BVDV-1, BVDV-2 e vírus do tipo HoBi (BVDV-3). A cepa (SC-Feto-4) referente ao feto 4, agrupou-se no braço correspondente ao BVDV-2, mostrando relação próxima com cepas de subgenótipo 2b, compartilhando o mesmo nodo terminal com a cepa Soldan (U94914.1). As cepas dos fetos 1 (SC-Feto-1), 2 (SC-Feto-2) e 5 (SC-Feto-5), agruparam-se no braço atribuído ao BVDV-1. As três cepas inicialmente caracterizadas como BVDV-1e apresentaram sequências de bases diferentes em relação a todas às demais utilizadas como referência e formaram um *cluster* único, com ancestral evolutivo distante em relação às cepas pertencentes aos subgeótipos 1a, 1b, 1e e 1g presentes na árvore, inclusive com uma cepa de BVDV-1e também identificada em Santa Catarina. As cepas do feto 2 e 5 compartilharam o mesmo nodo terminal e, a cepa do feto 1, apresentou um ancestral próximo em relação aos dois anteriores. A análise evolutiva realizada pelo programa MEGA11 entre sequências de aminoácidos da região 5'UTR dos *Pestivirus* de ruminantes, obtidos de fetos bovinos com sequências contidas do *GenBank*, estão dispostas no Apêndice II. Baixa divergência evolutiva foi observada entre as cepas encontradas nos fetos 1 (SC-Feto-1), 2 (SC-Feto-2) e 5 (SC-Feto-5), no entanto, houve divergência significativa com as demais cepas pertencentes ao BVDV-1 e BVDV-2, inclusive as pertencentes ao subgenótipos 1e. As sequências de aminoácidos obtidas do feto 4 (SC-Feto-4) mostraram-se bastante similares às demais sequências de cepas de BVDV-2b, principalmente, com a cepa Soldan.

Figura 6. Árvore filogenética baseada na região 5'UTR do genoma viral dos pestivírus. Relação entre sequências brasileiras e internacionais de BVDV-1 e BVDV-2, recuperadas do banco de dados do GenBank, com as novas sequências obtidas dos fetos bovinos de Santa Catarina, Brasil.



Fonte: o próprio autor, 2022.

7.4 Exames complementares para diagnósticos diferenciais

Amostras encefálicas de três fetos (1, 2, e 3) apresentaram positividade para *N. caninum* através da PCR. Para *T. gondii*, todos os fetos foram negativos.

Devido a maior ocorrência de lesões histológicas por diversos órgãos, as amostras do feto 4 submetidas a PCR para *Leptospira* spp., bem como o cultivo bacteriano aeróbico, apresentaram resultados negativos para o envolvimento de agentes bacterianos.

7.5 Caracterização das propriedades positivas

A investigação epidemiológica demonstrou a ocorrência fatores facilitadores à introdução do BVDV nas propriedades, principalmente, relacionados ao manejo reprodutivo, contactantes vizinhos e trânsito de animais. As características gerais de cada estão dispostas na Tabela 4.

Tabela 4. Caracterização epidemiológica das propriedades com fetos bovinos positivos para o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em Santa Catarina, Brasil.

Características	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5
Área (Ha)	13ha	12,4ha	80ha	NI	25ha
Total animais	36	6	220	53	11
Aptidão	Leite	Leite	Leite	Leite	Corte
Método de criação	Semiextensivo	Extensivo	Semiextensivo	Semiextensivo	Extensivo
Tempo de criação	1,5 anos	30 anos	7 anos	30 anos	20 anos
Reposição dos animais	Mista (própria e externa)	Própria	Mista	Própria	Própria
Reposição fêmeas prenhes	Sim	-	Sim	Não	Não
Isolamento de animais externos	Não	Não	Não	-	Não
Contato com vizinhos	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Uso de touro	Não	Sim	Não	Não	Sim
Origem do touro	-	De vizinhos	-	-	De compra
Uso de Inseminação artificial	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
Média doses/prenhez	1,5	2	4	2	-
Origem das doses	Comercial	Comercial	Comercial	Comercial	-
Vacinas reprodutivas	Sim	Não	Sim	Sim	Não
Tipo da vacina	Inativada	-	Inativada	Inativada	-
Repetição de cio	Sim. Intervalos irregulares	Sim. Intervalos irregulares	Sim. Intervalos regulares e irregulares	Sim. Intervalos regulares	Não
Nascimento bezerros fracos	Não	Não	Sim. 3.	Não	Não
Bezerros malformados	Não	Não	Sim. 1.	Não	Não
Retardo crescimento	Não	Sim	Sim	Não	Sim
Incidência abortos/ano	10%	16%	15%	10%	9%
Época predominante dos abortos	2º trimestre	1º trimestre	Todas as épocas	2º e 3º trimestre	2º trimestre
Fetos mumificados	Não	Sim	Sim	Não	Não

Vacas com fetos positivo para BVDV

Origem	Criação própria	Criação própria	Externa	Criação própria	Criação própria
Origem da mãe	Criação própria	Criação própria	-	Criação própria	Criação própria
Origem do pai	Touro de vizinho	Touro vizinho	-	IA	Touro
Contato com recém chegados	Sim	Não	Sim	Não	Sim
Número de gestações	1	4	4	3	1
Repetição de cio	Não	Sim	Não	Sim	Não
Abortos anteriores	0	0	2	0	0
Origem da gestação feto +	IA	IA	IA	IA	Touro próprio

Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

8 DISCUSSÃO

No presente estudo, 5,74% dos fetos foram positivos para o BVDV. O resultado obtido neste trabalho difere dos demais relatos de abortamentos por BVDV em bovinos no Brasil, que abordam casos isolados de abortos diagnosticados pela RT-PCR (BIANCHI et al. 2011; FRITZEN et al. 2021). Nos Estados Unidos, estudos de rebanho revelaram índices de 1,5% de diagnóstico de abortamento por BVDV através do isolamento viral e molecular (ANDERSON et al. 1990), bem como surto de abortamentos tardios e natimortaliade pelo vírus em aproximadamente 50% das novilhas de um único rebanho (BLANCHARD et al. 2010). Na Argentina, um estudo utilizando RT-PCR e ELISA captura de antígeno evidenciou o envolvimento do vírus em 34% dos abortamentos ocorridos (SPETTER et al. 2020). Neste estudo, a coinfeção fetal entre BVDV e *N. caninum* ocorreu em 60% dos fetos. A ocorrência concomitante entre BVDV e diferentes agentes potencialmente causadores de abortamentos já foi relatada, especialmente com *N. caninum* (STAHL et al. 2006; ANTONIASSI et al. 2013; SPETTER et al. 2020).

A idade dos fetos analisados apresentou variações entre os três trimestres gestacionais, corroborando com a afirmativa de que BVDV pode ocasionar morte fetal em qualquer período da gestação (GROOMS, 2005). A idade da maioria dos fetos deste trabalho correspondeu ao segundo trimestre, diferente do observado em outros estudos, em que maior ocorrência de abortamentos foi no terceiro trimestre gestacional (BLANCHARD et al. 2010; SPETTER et al. 2020).

As alterações macroscópicas comumente associadas ao BVDV incluem malformações, especialmente, quando há infecção materna pelo vírus entre 80 e 150 dias de gestação (BAKER, 1995), sendo caracterizadas por alterações ósseas, como o bragnatismo mandibular, além malforações envolvendo o sistema nervoso, compostas por hidrocefalia e hipoplasia cerebelar (BLANCHARD et al. 2010; SPETTER et al. 2020). No entanto, o achado macroscópico de maior importância neste estudo foi a mumificação fetal, ocorridas em um feto aos 3 meses de gestação, concomitantemente infectado por BVDV e *N. caninum*. O envolvimento do BVDV na mumificação fetal foi verificado em estudos experimentais envolvendo pequenos ruminantes (BROADDUS et al. 2009; PASSLER et al. 2014;) e ruminantes selvagens (PASSLER et al. 2007), bem como de forma espontânea em bovinos leiteiros

(FRITZEN et al. 2021). *Neospora caninum* já foi associado à mumificação fetal de ocorrência natural em ovinos (WITHOEFT, 2021) e bovinos (COSTA, 2020; GHANEM et al. 2009). Os demais achados macroscópicos observados nos fetos positivos para BVDV foram, em sua maioria, compostas por lesões inespecíficas comumente observadas em fetos abortados. A presença de líquido serossanguinolento nas cavidades, bem como o edema de subcutâneo, geralmente estão relacionados à migração *post mortem* de líquidos dos órgãos e musculatura adjacente, respectivamente (KIRKIBRIDE et al. 1986). O processo de autólise e o congelamento antes da análise também favorecem a ocorrência de líquidos nas cavidades (PEREZ et al. 2003). Embora tais alterações não possam ser atribuídas a causas infecciosas de abortamento (PEREIRA et al. 2013), tais achados macroscópicos ocorreram com frequência em casos de abortamento por BVDV (MEYERS et al. 2007; SPETTER et al. 2020). A hepatomegalia pode ocorrer devido à congestão passiva, envolvendo também outros órgãos (KIRKIBRIDE et al. 1986). No entanto, as dimensões aumentadas do fígado já foram descritas em fetos abortados por BVDV (KIRKIBRIDE, 1992), embora a evidenciação do padrão lobular não tenha sido relatada. O edema perirrenal observado em um feto deste trabalho, também já foi verificado por Meyers et al. (2007).

As lesões histológicas fetais ocasionadas por BVDV tendem a ser leves, caracterizadas por respostas inflamatórias não supurativas, predominantemente, linfocitária, em diversos órgãos (BIELEFELDT-OHMANN et al. 2008; SPETTER et al. 2020), ou inexistentes, mesmo com marcação imuno-histoquímica (SCHERER et al. 2001). Grande parte dos achados histológicos observados no presente estudo já foram relacionados à infecção por BVDV anteriormente, principalmente, a ocorrência de infiltração linfoplasmocitária no coração, mais especificamente em epicárdio e miocárdio, e nos pulmões, com padrão interalveolar (MURRAY, 1991; BIELEFELDT-OHMANN et al. 2008; SPETTER et al. 2020). As lesões inflamatórias cardíacas e musculares observadas são comumente visualizadas em infecções fetais *N. caninum* (COSTA, 2020; WITHOEFT, 2021; MELENDEZ et al. 2020), embora tais alterações tenham ocorrido em dois fetos nos quais o envolvimento do agente foi descartado. No coração, o quadro lesional de maior importância em todos os fetos envolveu o epicárdio, de acordo com o observado por Spetter et al (2020) em fetos infectados por

BVDV. Não foram observadas quaisquer lesões em encéfalo, consideradas predominantes em abortamentos pelo protozoário (COBERLINI et al. 2006; PESCADOR et al. 2007; CABRAL et al. 2009; COSTA, 2020). Estudos experimentais indicam a placenta como um dos locais de escolha para a replicação do BVDV (SNOWDON et al. 1975; SCHERER et al. 2001). Nas placentas avaliadas, foram observadas lesões condizentes com mineralização, além de infiltrado linfoplasmocitário, ambas relatadas por Murray (1991), sendo a última também descrita em abortamentos de caprinos infectados por BVDV (BROADDUS et al. 2009). Apesar de já ter sido observada em outros casos de abortamentos envolvendo BVDV, a mineralização na placenta é considerada um processo fisiológico que ocorre durante a gestação e após o parto (BOTTA et al. 2019).

O feto 4, acometido por BVDV-2b, apresentou quadro lesional particular, além das lesões cardíacas e pulmonares já descritas (MURRAY, 1991; BIELEFELDT-OHMANN et al. 2008; SPETTER et al. 2020). Em fígado, a necrose e o infiltrado de linfoplasmocitário, bem como a degeneração hepatocelular, foram descritos anteriormente em fetos abortados por BVDV (MURRAY, 1991; MEYERS et al. 2007). Em medula espinhal também havia inflamação linfoplasmocitária, sendo uma das lesões observadas por Spetter et al. (2020) no sistema nervoso central de fetos positivos para o vírus. Necrose de medula óssea também foi observada neste feto, no entanto, tal achado havia sido descrito apenas em infecções agudas envolvendo bezerros jovens infectados tanto naturalmente (SCRUGGS et al. 1995), quanto experimentalmente (ELLIS et al. 1998), ambos acometidos por BVDV-2.

No rins foi detectada necrose tubular acompanhada de infiltrado linfoplasmocitário intersticial, também descritos em fetos e bezerros PI (SCHMITZ, 2006; SANTOS et al. 2011). A hemorragia em pulmão e timo pode ser consequência da infecção pelo vírus. Quadros de síndrome hemorrágica pós-natais foram atribuídas ao BVDV, resultante da trombocitopenia (HAMERS et al. 2000; BLANCHARD et al. 2010). Hemorragia extensa por vários órgãos foi observada em fetos bovinos apresentando-se de forma discreta (SPETTER et al. 2020) e acentuada (FULTON et al. 2017). Na imuno-histoquímica, a distribuição multissistêmica do BVDV já foi demonstrada em células trofoblásticas e mononucleares da placenta, sendo associado ao quadro inflamatório local (BASZLER et al. 1995), bem como em células

mononucleares em medula óssea, fígado, coração, determinadas regiões do sistema nervoso, meninges, além células epiteliais dos pulmões e túbulos renais (BIELEFELDT-OHMANN et al. 2008).

Fetos bovinos são capazes de produzir imunidade contra BVDV a partir dos 160-200 dias de gestação (BRAUN et al. 1973), no entanto, o feto 4 foi abortado aos 7 meses de gestação, o equivalente a 210 dias. A ocorrência do abortamento, bem como de lesões anatomopatológicas em diversos órgãos podem estar relacionadas ao envolvimento do BVDV-2. Maior patogenicidade já foi atribuída a algumas cepas do tipo 2, que pode atravessar a barreira placentária e infectar numerosas células, sendo evidenciadas com maior intensidade nos tecidos fetais pela imuno-histoquímica em comparação às cepas de BVDV-1 (BIELEFELDT-OHMANN et al. 2008).

A RT-PCR foi utilizada neste estudo para detecção do BVDV nos fetos, sendo considerada uma técnica diagnóstica de eleição em tecidos fetais (GRAHAM et al. 2009). A detecção de BVDV nesse tipo de tecido pode ser dificultosa, principalmente no que se refere à qualidade da coleta e armazenamento dos tecidos, bem como o nível de autólise tecidual e consequente degradação do RNA viral (GROOMS, 2005; RIDPATH et al. 2014). A análise molecular evidenciou infecção concomitante de *N. caninum* e BVDV em 3 fetos, sendo uma técnica diagnóstica frequentemente utilizada para pesquisa do protozoário (CABRAL et al. 2009 COSTA, 2020). Coinfecções envolvendo BVDV são favorecidas pelo efeito imunossupressor ocasionado pelo vírus, capaz predispor a infecções subsequentes, reativar infecções latentes (BAKER, 1995), ou ainda facilitar a recrudescência de infecções crônicas por *N. caninum* (HALL et al. 2005).

A análise filogenética evidenciou a ocorrência de BVDV-1 e BVDV-2 em fetos provenientes de três mesorregiões do estado catarinense. Assim como no Rio Grande do Sul, estado vizinho onde a ocorrência e caracterização do BVDV foram amplamente estudadas (CANAL et al. 1998; WEBER et al. 2014; WEBER et al. 2017), em Santa Catarina, a detecção e tipificação do BVDV tipo 1 e 2, ocorreu com menor expressão (MOSENA et al. 2022). Com relação aos subgenótipos, a comparação de sequências dos fetos através do *nucleotide* BLAST com sequências depositadas no GenBank inicialmente indicou alta semelhança com cepas nacionais e internacionais de BVDV-1e e 2b. O Brasil é o país com maior número de relatos envolvendo BVDV-

2b no mundo, sendo considerado um dos subgenótipos predominantes no território nacional e de alta concentração no Rio Grande do Sul (WEBER et al. 2014; SILVEIRA et al. 2015; YESILBAG et al. 2017). Em Santa Catarina, este subgenótipo já foi verificado anteriormente, ainda na década de 90 (GIL et al. 1998).

O BVDV-1e possui distribuição restrita no mundo, com grande concentração de relatos em países europeus como Suíça, Itália, França e Alemanha. Jamais foi descrito na Ásia, África e Oceania, sendo a América do Sul o único continente, além da Europa, onde o BVDV-1e já foi detectado (YESILBAG et al. 2017). Todos os relatos envolvendo o subgenótipo 1e, no continente e no Brasil, ocorreram no estado de Santa Catarina, com duas cepas indetificadas em 2012 e 2018 (MOSENA et al. 2022). O motivo pelo qual o estado catarinense é o único local além da Europa com a presença do subgenótipo 1e ainda é incerto, no entanto, sua introdução através da importação de raças europeias como Simental e Pardo Suíço, deve ser considerada. Na Suíça, um estudo sobre a relação entre as duas principais raças bovinas do país, bem como a distribuição territorial, evidenciou forte correlação entre BVDV-1e e a raça Simental (STALDER et al. 2018).

A árvore filogenética demonstrou relação evolutiva próxima entre a cepa correspondente ao BVDV-2b identificada neste estudo com as demais 2b utilizadas como referência, relacionando-se a grande incidência desse subgenótipo no país (WEBER et al. 2014; SILVEIRA et al. 2015; YESILBAG et al. 2017). Apesar das semelhanças apontadas pela análise *nucleotide* BLAST das três cepas fetais inúmeras cepas internacionais também de BVDV-1e, as cepas isoladas de dois fetos também mostraram semelhança de até 100% com uma cepa de BVDV-1g. Além disso, o alinhamento dessas sequências evidenciou bases bastante distintas das demais sequências de cepas referência, contribuindo para a formação de um *cluster* isolado e ancestral longínquo. Dessa forma, afirmação de que o genótipo envolvido nos abortamentos se trata do 1e, pode ser questionada.

As incongruências observadas em relação a definição do subgenótipo podem estar relacionadas à diversos fatores. Primeiramente, o BVDV é um vírus RNA altamente propenso a mutações genéticas (DOMINGO et al. 1985). Vilcek et al. (2001) relataram maior variabilidade dentro do grupo 1e devido a presença de vários *outliers*, o que poderia referir-se a outros subgenótipos. Outro fator importante refere-se a

utilização da região 5'UTR para genotipagem e filogenia, por se tratar de uma região altamente conservada do genoma viral (YESILBAG et al. 2017). Entretanto, sua utilização isolada pode ser limitada devido à baixa diversidade e comprimento restrito de sequências, interferindo na formação dos ramos da árvore e relação entre subgenótipos. Dessa forma, a utilização das regiões Npro e E2 pode ser mais confiável para organização de cepas de BVDV em subgenótipos conhecidos (CHERMICK et al. 2014; YESILBAG et al. 2017).

Vários fatores epidemiológicos estão relacionados ao estabelecimento de BVDV e à ocorrência de doença aguda, crônica e persistente, comprometendo a saúde dos animais de imediato e a longo prazo (SORENSEN et al. 1995). As propriedades com positividade para o vírus avaliadas neste estudo, possuíam rebanhos de tamanho pequeno a moderado. O número de animais interfere na ocorrência e circulação do vírus. A manutenção do agente é favorecida em rebanhos maiores devido as chances aumentadas de serem abertos e possibilitarem a entrada de animais de origem externa (ERSBOLL et al. 2010). No entanto, a densidade animal observada nas propriedades variou de média a elevada, o que contribuiu para maior contato entre os animais, favorecendo a disseminação do vírus (VEGA et al. 1997).

O sistema de produção leiteira predominou entre as propriedades, com somente um feto positivo oriundo de um rebanho destinado ao corte. Rebanhos leiteiros ou mistos estão mais propensos a alta soroprevalência, distúrbios reprodutivos, bem como surgimento de animais PI, se comparados aos rebanhos de corte (SARRAZIN et al. 2013). Isso pode ser atribuído a intensidade de manejo ao qual o gado leiteiro é submetido e ao risco em potencial de carreamento do vírus devido a maior frequência de visitas, envolvendo veterinários, inseminadores, caminhões de ração e leiteiros, além dos demais trabalhadores que transitam entre diferentes propriedades (BRENANN et al. 2008).

A maioria das fazendas deste estudo repõe o plantel de matrizes de forma mista, ou seja, com novilhas próprias, mas também novilhas adquiridas de outras criações, geralmente prenhes. Apenas uma das cinco matrizes que originaram fetos positivos para o vírus possuía origem externa, sendo as demais todas nascidas dentro propriedade. O método de reposição externa pode ser considerado uma das principais vias de introdução do vírus em rebanhos livres e aumento da carga viral nos rebanhos

não livres, considerando o risco em potencial ao adquirir as chamadas “Vacas de Troia”, caracterizadas por matrizes prenhes gestando um produto PI (REARDON et al. 2018). A possibilidade de contato direto com animais de propriedades vizinhas foi verificada em todas as fazendas envolvidas neste estudo. O contato com animais transitoriamente ou persistentemente infectados de outros rebanhos através de cercas limitiformes, principalmente entre pequenas e fragmentadas propriedades, é outro fator facilitador da entrada do BVDV nos rebanhos (TALAFHA et al. 2008).

A inseminação artificial foi considerada uma prática comum em praticamente todas as fazendas, sendo utilizada parcial ou totalmente. O uso de touros foi identificado em duas propriedades, sendo que uma, havia o compartilhamento do reprodutor com rebanhos vizinhos. Nos touros, o BVDV se replica em glândulas sexuais acessórias e podem eliminar o vírus através do sêmen em infecções persistentes (GONZALEZ-ALTAMIRANDA et al. 2012) e, transitórias, havendo disseminação do vírus por longos períodos após a viremia (KIRKLAND et al. 1991). Considerando a origem do sêmen, a transmissão via IA não pode ser descartada, visto que a detecção de BVDV em rebanhos bovinos inseminados com doses de touros coletados durante infecção transitória já foi demonstrada (RIKULA et al. 2008). Neste trabalho, quatro dos cinco fetos abortados eram oriundos de inseminação artificial utilizando sêmen criopreservado de touros provenientes de centrais de inseminação. A OIE atribui às centrais de coleta uma série de exigências a respeito dos touros para que a contaminação por BVDV não seja possível (GARD et al. 2007), o que diminui a possibilidade da transmissão ter ocorrido via sêmen comercial.

O uso regular de vacinas reprodutivas foi relatado em três dos cinco rebanhos. A vacinação antes da reprodução é uma ferramenta importante para limitar as perdas econômicas relacionadas à disseminação do vírus e desenvolvimento de animais PI (DAMMAN et al. 2015). Situação semelhante a observada neste estudo já foi demonstrada por Dezen et al. (2013), em que a circulação viral foi verificada através da RT-PCR de soro sanguíneo em um rebanho regularmente vacinado contra BVDV. Bolin et al. (2009) observaram o surgimento de animais PI acometidos por subgenótipos de BVDV diferentes dos contidos em vacinas aplicadas no rebanho. Tais afirmativas relacionam-se com existência de diferentes espécies de BVDV, bem como a diversidade de subgenótipos e variantes antigênicas, que podem dificultar os

mecanismos de imunidade cruzada e ocasionar falha vacinal, principalmente relacionados à proteção fetal (FLORES et al. 2002). A utilização de vacinas do tipo inativada ocorreu entre todas as propriedades que praticam a vacinação. No Brasil, a grande maioria das vacinas disponíveis no mercado são inativadas, as quais podem induzir resposta imune de baixa a média magnitude frente às diferentes cepas de BVDV (VOGEL et al. 2002; SILVA et al. 2021), o que pode ter permitido a viremia materna, infecção fetal e abortamento nas propriedades deste estudo.

Além dos abortamentos, outros distúrbios reprodutivos como repetição de cio, nascimento de bezerros fracos, subdesenvolvidos e malformados foram relatados, sinalizando possível circulação prévia do vírus nesses rebanhos. O retorno ao estro em bovinos pode ter origem multifatorial, como manejo, fatores ambientais e alterações hormonais (GUSTAFFSON & EMANUELSON, 2002; ASADUZZAMAN et al. 2016). Todavia, agentes infecciosos estão frequentemente ligados à ocorrência deste distúrbio (MCGOWAN & KIRKLAND, 1995; LIBONATI et al. 2018). O BVDV é capaz de promover uma variedade de alterações celulares, induzir respostas inflamatórias e causar desníveis hormonais que tendem a comprometer a fertilização e o desenvolvimento embrionário inicial (FRAY et al. 2002; GROOMS, 2004). O BVDV tem sido associado a animais com subdesenvolvimento, principalmente por interferir na modelagem de ossos longos (WEBB et al. 2012), bem como em casos de malformações congênitas (BLANCHARD et al. 2010; AGERHOLM et al. 2015), sobretudo quando a infecção ocorre até os 150 dias de gestação (BROWN et al. 1974).

9 CONCLUSÕES

Este estudo evidenciou a ocorrência de abortamentos causados por BVDV-1 e BVDV-2 em bovinos de corte e de leite no estado de Santa Catarina, manifestando-se através de casos isolados em três mesorregiões distintas. A análise anatomopatológica demonstrou que alterações macro e microscópicas podem ser atribuídas ao vírus e, associada à RT-PCR, foi essencial para identificar e caracterizar do quadro de abortamentos em bovinos. O sequenciamento genético e a análise filogenética possibilitaram identificar e categorizar as cepas virais envolvidas nos abortamentos, auxiliando na compreensão da atividade e distribuição do vírus no estado, servindo de alerta para o estabelecimento de estratégias de prevenção e controle da enfermidade nos rebanhos. A investigação epidemiológica nas propriedades revelou fatores predisponentes à ocorrência e manutenção do agente nos rebanhos, relacionados principalmente ao trânsito de animais e manejo reprodutivo.

10 REFERÊNCIAS

- AGERHOLM, J. S., HEWICKER-TRAUTWEIN, M., PEPERKAMP, K., & WINDSOR, P. A. Virus-induced congenital malformations in cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57(1), 1-14, 2015.
- ALTAMIRANDA, E. G., KAISER, G. G., MUCCI, N. C., VERNA, A. E., CAMPERO, C. M., ODEÓN, A. C. Effect of bovine viral diarrhea virus on the ovarian functionality and in vitro reproductive performance of persistently infected heifers. *Veterinary microbiology*, 165(3-4), 326-332, 2013.
- ALTAMIRANDA, E. G., KAISER, G. G., WEBER, N., LEUNDA, M. R., PECORA, A., MALACARI, D. A., ODEÓN, A. C. (2012). Clinical and reproductive consequences of using BVDV-contaminated semen in artificial insemination in a beef herd in Argentina. *Animal reproduction science*, 133(3-4), 146-152, 2012.
- ANDERSON, M. L., BLANCHARD, P. C., BARR, B. C., & HOFFMAN, R. L. A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2(4), 283-287, 1990.
- ANTONIASSI, N. A., JUFFO, G. D., SANTOS, A. S., PESCADOR, C. A., CORBELLINI, L. G., DRIEMEIER, D. Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(2), 155-160, 2013.
- ARENHART, S., BAUERMANN, F. V., OLIVEIRA, S. A., WEIBLEN, R., & FLORES, E. F. Excreção e transmissão do vírus da diarréia viral bovina por bezerros persistentemente infectados. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29(9), 736-742, 2009.
- ASADUZZAMAN, K. M., BHUIYAN, M. M. U., RAHMAN, M. M., & BHATTACHARJEE, J. Prevalence of repeat breeding and its effective treatment in cows at selected areas of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 14(2), 183-190, 2016.
- AVALOS-RAMIREZ R., ORLICH M., THIEL H.J. & BECHER P. Evidence for the presence of two novel pestivirus spe-cies. *Virology*. 286: 456-465, 2001.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 425-445, 1995.
- BASZLER, T. V., EVERMANN, J. F., KAYLOR, P. S., BYINGTON, T. C., & DILBECK, P. M. Diagnosis of naturally occurring bovine viral diarrhea virus infections in ruminants using monoclonal antibody-based immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 32(6), 609-618, 1995.
- BEAUDEAU, F., FOURICHON, C., ROBERT, A., JOLY, A., SEEGER, H. Bulk milk somatic cell counts and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in 7252 dairy herds in Brittany (western France). *Preventive veterinary medicine*, 72(1-2), 163-167, 2005.
- BHUDEVI, B., WEINSTOCK, D. Detection of bovine viral diarrhea virus in formalin fixed paraffin embedded tissue sections by real time RT-PCR (Taqman). *Journal of Virological Methods*, v. 109, p. 25-30, 2003.
- BIANCHI, E., MARTINS, M., WEIBLEN, R., & FLORES, E. F. (2011). Perfil genotípico e antigênico de amostras do vírus da diarréia viral bovina isoladas no Rio Grande do Sul (2000-2010). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31(8), 649-655.
- BIANCHI, M.V., KONRADT, G., DE SOUZA, S. O., BASSUINO, D. M., SILVEIRA, S.,; MÓSENA, A. C. S.; DRIEMEIER, D. Natural outbreak of BVDV-1d-induced mucosal disease lacking intestinal lesions. *Veterinary Pathology*, v. 54, p. 242-248, 2017.
- BIELEFELDT-OHMANN, H. The pathologies of bovine viral diarrhoea virus infection. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*, v. 11, p. 447-476, 1995.

- BIELEFELDT-OHMANN, H., TOLNAY, A. E., REISENHAEUSER, C. E., HANSEN, T. R., SMIRNOVA, N., & VAN CAMPEN, H. Transplacental infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus types 1b and 2: viral spread and molecular neuropathology. *Journal of comparative pathology*, 138(2-3), 72-85, 2008.
- BLANCHARD, P. C., RIDPATH, J. F., WALKER, J. B., & HIETALA, S. K. An outbreak of late-term abortions, premature births, and congenital deformities associated with a bovine viral diarrhoea virus 1 subtype b that induces thrombocytopenia. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 22(1), 128-131, 2010.
- BOLIN, S. R. The pathogenesis of mucosal disease. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*, v. 11, p. 489–500, 1995.
- BOLIN, S. R., & RIDPATH, J. F. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea viruses in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 53(11), 2157-2163, 1992.
- BOLIN, S. R., GROOMS, D. L. Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 20, p. 51-68, 2004.
- BOLIN, S. R., LIM, A., GROTELUESCHEN, D. M., MCBETH, W. W., & CORTESE, V. S. Genetic characterization of bovine viral diarrhoea viruses isolated from persistently infected calves born to dams vaccinated against bovine viral diarrhoea virus before breeding. *American journal of veterinary research*, 70(1), 86-91, 2009.
- BOTTA, C., PELLEGRINI, G., HÄSSIG, M., PESCH, T., PRÄHAUSER, B., WUNDERLIN, S., BOREL, N. Bovine fetal placenta during pregnancy and the postpartum period. *Veterinary pathology*, v. 56, p. 248-258, 2019.
- BOOTH, R. E., BROWNLIE, J. Establishing a pilot bovine viral diarrhoea virus eradication scheme in Somerset. *Veterinary Record*, v. 170, p. 29–35, 2012.
- BRENNAN, M. L., KEMP, R., & CHRISTLEY, R. M. Direct and indirect contacts between cattle farms in north-west England. *Preventive veterinary medicine*, 84(3-4), 242-260, 2008.
- BROADDUS, C. C., LAMM, C. G., KAPIL, S., DAWSON, L., & HOLYOAK, G. R. Bovine viral diarrhoea virus abortion in goats housed with persistently infected cattle. *Veterinary Pathology*, 46(1), 45-53, 2009.
- BROWN T.T., DELAHUNTA A., BISTNER S.I. Pathogenetic studies of infection of the bovine fetus with bovine viral diarrhoea virus, I: cerebellar atrophy. *Vet Pathol.* 11: 486–505, 1974.
- BROWNLIE, J., CLARKE, M. C., HOWARD, C. J. Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. *The Veterinary Record*, v. 114, p. 535-536, 1984.
- BROWNLIE, J.; CLARKE, M. C.; HOWARD, C. J. Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. *Research in veterinary science*, v. 46, p. 307-311, 1989.
- BURGSTALLER, J., OBRITZHAUSER, W., KUCHLING, S., KOPACKA, I., PINIOR, B., & KÖFER, J. The impact of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and management factors on fertility in dairy herds: two case-control studies in the province of Styria, Austria. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 129, 103-10, 2016.
- CABRAL, A. D., CAMARGO, C. N., GALLETTI, N. T. C., OKUDA, L. H., PITUCO, E. M., DEL FAVA, C. Diagnosis of *Neospora caninum* in bovine fetuses by histology, immunohistochemistry, and nested-PCR. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 18, 14-19, 2009.

- CANAL, C. W., STRASSER, M., HERTIG, C., MASUDAB, A., & PETERHANS, E. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. *Veterinary Microbiology*, 63(2-4), 85-97, 1998.
- CASTRUCCI, G., FRIGERI, F., OSBURN, B. I., FERRARI, M., SAWYER, M. M., & ALDROVANDI, V. A study of some pathogenetic aspects of bovine viral diarrhoea virus infection. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 13(1), 41-49, 1990.
- CHARLESTON, B., FRAY, M. D., BAIGENT, S., CARR, B. V., & MORRISON, W. I. Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with a failure to induce type I interferon. *Journal of General Virology*, 82(8), 1893-1897, 2001.
- CHASE, C. C. The impact of BVDV infection on adaptive immunity. *Biologicals*, 41(1), 52-60, 2013.
- CHERNICK, A., GODSON, D. L., & VAN DER MEER, F. Metadata beyond the sequence enables the phylodynamic inference of bovine viral diarrhoea virus type 1a isolates from Western Canada. *Infection, Genetics and Evolution*, 28, 367-374, 2014.
- COLLINS, M. E., HEANEY, J., THOMAS, C. J., & BROWNLIE, J. Infectivity of pestivirus following persistence of acute infection. *Veterinary Microbiology*, 138(3-4), 289-296, 2009.
- COLLINS, M. E.; DESPORT, M.; & BROWNLIE, J. Bovine viral diarrhoea virus quasispecies during persistent infection. *Virology*, v. 259, p. 85-98, 1999.
- CORAPI, W. V., FRENCH, T. W., & DUBOVI, E. J. Severe thrombocytopenia in young calves experimentally infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Virology*, 63(9), 3934-3943. 1989.
- CORBELLINI, L. G., PESCADOR, C. A., FRANTZ, F., WUNDER, E., STEFFEN, D., SMITH, D. R., & DRIEMEIER, D. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: importance, repeated abortion, and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. *The Veterinary Journal*, 172, 114-120, 2006.
- CORNISH, T. E., VAN OLPHEN, A. L., CAVENDER, J. L., EDWARDS, J. M., JAEGER, P. T., VIEYRA, L. L., O'TOOLE, D. Comparison of ear notch immunohistochemistry, ear notch antigen-capture ELISA, and buffy coat virus isolation for detection of calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 17, p. 110-117, 2005.
- COSTA, L. S. Neosporose como causa de abortamento em bovinos do estado de Santa Catarina: caracterização anatomopatológica, molecular e sorológica. 2020. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.
- DABAK, M., KARAPINAR, T., GULACTI, I., BULUT, H., KIZIL, O., AYDIN, S. Hemorrhagic Syndrome-Like Disease in Calves with Bovine Viral Diarrhoea and Mucosal Disease Complex. *Journal of veterinary internal medicine*, 21(3), 514-518, 2007.
- DAMMAN, A., VIET, A. F., ARNOUX, S., GUERRIER-CHATELLET, M. C., PETIT, E., & EZANNO, P. Modelling the spread of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in a beef cattle herd and its impact on herd productivity. *Veterinary Research*, 46(1), 1-14, 2015.
- DE OLIVEIRA FIGUEIREDO, P., DE OLIVEIRA, D. B., FIGUEIREDO, L. B., COSTA, G. B., ALVES, P. A., GUEDES, M. I. M. C., ... & DE SOUZA TRINDADE, G. Molecular detection and phylogeny of bovine viral diarrhoea virus 1 among cattle herds from Northeast, Southeast, and Midwest regions, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(2), 571-577, 2019.

DEZEN, S., OTONEL, R. A., ALFIERI, A. F., LUNARDI, M., & ALFIERI, A. A. Perfil da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em um rebanho bovino leiteiro de alta produção e com programa de vacinação contra o BVDV. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33, 141-147, 2013.

DIAS FILHO, M. B. Diagnóstico das pastagens no Brasil. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 38 p. 2014. (Documentos, 402).

DIAS, F. C., MÉDICI, K. C., DE SOUSA, R. L. M., ALFIERI, A. A., SAMARA, S. I. Caracterização genética do vírus da diarreia bovina detectada em bovinos do Sul de Minas Gerais, Brasil, persistentemente infectados. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 49, p. 452, 2013.

DOMINGO, E., MARTÍNEZ-SALAS, E., SOBRINO, F., DE LA TORRE, J. C., PORTELA, A., ORTÍN, J., HOLLAND, J. The quasispecies (extremely heterogeneous) nature of viral RNA genome populations: biological relevance—a review. *Gene*, 40(1), 1-8, 1985.

DONIS, R. O. Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interactions with the host. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 393-423, 1995.

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

ELLIS, J. A., WEST, K. H., CORTESE, V. S., MYERS, S. L., CARMAN, S., MARTIN, K. M., HAINES, D. M. Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhea virus-type II. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 62(3), 161, 2009.

ERSBOLL, A. K., ERSBOLL, B. K., HOUE, H., ALBAN, L., & KJELDSEN, A. M. Spatial modelling of the between-herd infection dynamics of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in dairy herds in Denmark. *Preventive veterinary medicine*, 97(2), 83-89, 2010.

EVANS, C. A., PINIOR, B., LARSKA, M., GRAHAM, D., SCHWEIZER, M., GUIDARINI, C., GATES, M. C. Global knowledge gaps in the prevention and control of bovine viral diarrhoea (BVD) virus. *Transboundary and emerging diseases*, v. 66, p. 640-652, 2019.

EVERMANN, J. F., & RIDPATH, J. F. Clinical and epidemiologic observations of bovine viral diarrhea virus in the northwestern United States. *Veterinary microbiology*, 89(2-3), 129-139, 2002.

FÁVERO, J. F.; DE ARAÚJO, H. L.; LILENBAUM, W.; MACHADO, G.; TONIN, A. A.; BALDISSERA, M. D.; DA SILVA, A. S. Leptospirose bovina: Prevalência, fatores de risco associados para infecção e sua relação causa-efeito. *Patogênese Microbiana*, v. 107, p. 149-154, 2017.

FERREIRA NETO, J. S.; SILVEIRA, G. B.; ROSA, B. M.; GONÇALVES, V. S. P.; GRISI-FILHO, J. H. H.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA, F.; HEINEMANN, M. B.; TELLES, E. O.; LAGE, A. P. Analysis of 15 years of the National Program for the Control and Eradication of animal Brucellosis and Tuberculosis, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 37, p. 3385-3402, 2016.

FINO, T. C. M. Anticorpos contra herpesvírus bovino tipo 1 (HVB-1) e vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em rebanhos da Raça Crioula lageana no planalto catarinense. 2011. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia, Universidade de Brasília, Brasília.

FIRTH, C., BHAT, M., FIRTH, M. A., WILLIAMS, S. H., FRYE, M. J., SIMMONDS, P., LIPKIN, W. I. Detection of zoonotic pathogens and characterization of novel viruses carried by commensal *Rattus norvegicus* in New York City. *MBio*, 5(5), e01933-14, 2014.

FLORES, E. F. Virologia Veterinária. Ed. 1. Santa Maria: editora UFSM, 2007.

FLORES, E. F., GIL, L. H. G. V., BOTTON, S. A., WEIBLEN, R., RIDPATH, J. F., KREUTZ, L. C., WENDELSTEIN, A. C. Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. *Veterinary Microbiology*, 77(1-2), 175-183, 2000.

FLORES, E. F., RIDPATH, J. F., WEIBLEN, R., VOGEL, F. S., GIL, L. H. Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhoea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2. *Virus research*, 87(1), 51-60, 2002.

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

FLORES, E. F.; CARGNELUTTI, J. F.; MONTEIRO, F. L.; BAUERMANN, F. V.; RIDPATH, J. F.; WEIBLEN, R. A genetic profile of bovine pestiviruses circulating in Brazil (1998–2018). *Animal health research reviews*, v. 19, p.134-141, 2018.

FRAY, M. D., MANN, G. E., BLEACH, E. C. L., KNIGHT, P. G., CLARKE, M. C., & CHARLESTON, B. Modulation of sex hormone secretion in cows by acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Reproduction-cambridge*, 123(2), 281-289, 2002.

FRAY, M. D., PATON, D. J., & ALENIUS, S. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Animal Reproduction Science*, 60, 615-627, 2000.

FRAY, M. D., PRENTICE, H., CLARKE, M. C., & CHARLESTON, B. Immunohistochemical evidence for the localization of bovine viral diarrhoea virus, a single-stranded RNA virus, in ovarian oocytes in the cow. *Veterinary pathology*, 35(4), 253-259, 1998.

FREDRIKSEN, B., PRESS, C. M., SANDVIK, T., ODEGAARD, S. A., & LOKEN, T. Detection of viral antigen in placenta and fetus of cattle acutely infected with bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary pathology*, 36(4), 267-275, 1999.

FREITAS, B. B.; CORREA, A. M.; VALOTTO, A. A.; MARCOM, N. N.; PAULINO, L. R.; BRUM, J. S.; BARROS, I. R. Prevalence of bovines persistently infected with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in dairy cattle herds in Paraná State, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 41, 2021.

FRITZEN, J. T., MORETTIN, A. B., LORENZETTI, E., ALFIERI, A. F., & ALFIERI, A. A. Bovine viral diarrhoea virus subgenotype 1a in a mummified fetus from a Brazilian dairy cattle herd. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 33(5), 966-968, 2021.

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

FULTON, R. W., CONFER, A. W., SORESENSEN, N. J., RIDPATH, J. F., BURGE, L. J. Bovine viral diarrhoea virus 1b fetal infection with extensive hemorrhage. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 29, 880-884, 2017.

GARCIA, D. C. C., SÁ, C. V. G. C. D., MCMANUS, C. M., MELO, C. B. D. Impactos do surto de febre aftosa de 2005 sobre as exportações de carne bovina Brasileira. *Ciência Animal Brasileira*, v. 16, p. 525-537, 2015.

GARD, J. A., GIVENS, M. D., & STRINGFELLOW, D. A. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV): epidemiologic concerns relative to semen and embryos. *Theriogenology*, 68(3), 434-442, 2007.

GATES, M. C., WOOLHOUSE, M. E. J., GUNN, G. J., & HUMPHRY, R. W. Relative associations of cattle movements, local spread, and biosecurity with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) seropositivity in beef and dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 112(3-4), 285-295, 2013.

- GHANEM, M. E., SUZUKI, T., AKITA, M., NISHIBORI, M. *Neospora caninum* and complex vertebral malformation as possible causes of bovine fetal mummification. *The Canadian Veterinary Journal*, 50(4), 389, 2009.
- GIAMMARIOLI, M., CEGLIE, L., ROSSI, E., BAZZUCCHI, M., CASCIARI, C., PETRINI, S., & DE MIA, G. M. Increased genetic diversity of BVDV-1: recent findings and implications thereof. *Virus genes*, 50(1), 147-151, 2015.
- GIL, L.H.V.G. Seqüenciamento, análise filogenética e caracterização de polipeptídeos não-estruturais de amostras do vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV). Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1998, 69p. (Dissertação, Mestrado).
- GIVENS, M. D., HEATH, A. M., CARSON, R. L., BROCK, K. V., EDENS, M. S. D., WENZEL, J. G. W., STRINGFELLOW, D. A. Analytical sensitivity of assays used for detection of bovine viral diarrhea virus in semen samples from the Southeastern United States. *Veterinary microbiology*, 96(2), 145-155, 2003.
- GIVENS, M. D., MARLEY, M. S. Immunology of chronic BVDV infections. *Biologicals*, 41(1), 26-30, 2013.
- GOENS, S. D. The evolution of bovine viral diarrhea: a review. *The Canadian Veterinary Journal*, 43(12), 946, 2002.
- GRAHAM, D. A., BEGGS, N., MAWHINNEY, K., CALVERT, V., CUNNINGHAM, B., ROWAN-LAYBERRY, L., & MCLAREN, I. (2009). Comparative evaluation of diagnostic techniques for bovine viral diarrhoea virus in aborted and stillborn fetuses. *The Veterinary Record*, 164(2), 56, 2009.
- GRAHN T. C., FAHNINGM. L. & ZEMJANISR. Nature of early reproductive failure by bovine viral diarrhea virus. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 185, 429–432, 1984.
- GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEON, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 23, p. 150-156, 2014.
- GROOMS, D. L. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20(1), 5-19, 2004.
- GROOMS, D. L., & BOLIN, C. A. Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhea virus and *Leptospira* spp. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 21(2), 463-472, 2005.
- GUSTAFSSON, H., & EMANUELSON, U. Characterisation of the repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43(2), 1-11, 2002.
- HAMERS, C., COUVREUR, B., DEHAN, P., LETELLIER, C., LEWALLE, P., PASTORET, P. P., KERKHOF, P. Diferenças na virulência experimental de cepas virais de diarréia viral bovina isoladas de síndromes hemorrágicas. *The Veterinary Journal*, 160, 250-258, 2000.
- HANSEN, T. R., SMIRNOVA, N. P., VAN CAMPEN, H., SHOEMAKER, M. L., PTITSYN, A. A., & BIELEFELDT-OHMANN, H. Maternal and fetal response to fetal persistent infection with bovine viral diarrhea virus. *American journal of reproductive immunology*, 64(4), 295-306, 2010.
- HAUSE, B. M.; COLLIN, E. A.; PEDDIREDI, L.; YUAN, F.; CHEN, Z.; HESSE, R. A.; GAUGER, P. C.; CLEMENT, T.; FANG, Y.; ANDERSON, G. Discovery of a novel putative atypical porcine pestivirus in pigs in the USA. *Journal of General Virology*, v. 96, p. 2994–2998, 2015.
- HILBE, ARQUINT, SCHALLER, ZLINSZKY, BRAUN, PETERHANS, EHRENSPERGER. Immunohistochemical diagnosis of persistent infection with bovine viral diarrhea virus (BVDV) on skin biopsies. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, v. 149, p. 337-344, 2007.

HOPPE, I. B. A. L., DE SOUZA-POLLO, A., DE MEDEIROS, A. S. R., SAMARA, S. I., CARVALHO, A. A. B. HoBi-like pestivirus infection in an outbreak of bovine respiratory disease. *Research in Veterinary Science*, 126, 184-191, 2019.

HOUE, H., LINDBERG, A., MOENNIG, V. Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18, 427-436, 2006.

JOKAR, M., RAHMANIAN, V., FARHOODI, M., ABDOUS, A., SHAMS, F., & KARAMI, N. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle population in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Tropical Animal Health and Production*, 53(5), 1-12, 2021.

KELLING, C. L. Evolution of bovine viral diarrhoea virus vaccines. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v. 20, p. 115-129, 2004.

KIM, S. G., DUBOVI, E. J. A novel simple one-step single-tube RT-duplex PCR method with an internal control for detection of bovine viral diarrhoea virus in bulk milk, blood, and follicular fluid samples. *Biologicals*, v. 31, p. 103-106, 2003.

KIRKBRIDE, C. A. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 4(4), 374-379, 1992.

KIRKBRIDE, C. A., JOHNSON, M. W. Serologic examination of aborted ovine and bovine fetal fluids for the diagnosis of border disease, bluetongue, bovine viral diarrhoea, and leptospiral infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1(2), 132-138, 1989.

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

KIRKLAND, P. D., MACKINTOSH, S. G. & MOYLE, A. M. The outcome of widespread use of semen from a bull persistently infected with pestivirus. *Veterinary Record* 135, 527-9, 1994.

KIRKLAND, P. D., RICHARDS, S. G., ROTHWELL, J. T., & STANLEY, D. F. Replication of bovine viral diarrhoea virus in the bovine reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. *The Veterinary Record*, 128(25), 587-590, 1991.

KISH, G. F., KHODAKARAM-TAFTI, A., MOHAMMADI, A. Serological survey of bovine viral diarrhoea virus by antigen capture ELISA in dairy herds in Fars Province, Iran. *Bulg. J. Vet. Med*, 16, 217-222, 2013.

KOMMISRUUD, E., VATN, T., LANG-REE, J. R., & LOKEN, T. (1996). Bovine virus diarrhoea virus in semen from acutely infected bulls. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 37(1), 41-47, 1996.

LANG-REE JR, VATN T, KOMMISRUUD E, LOKEN T: Transmission of bovine viral diarrhoea virus by rectal examination. *Vet. Rec*, 135, 412-413, 1994.

LANYON, S. R.; HILL, F. I.; REICHEL, M. P.; BROWNLIE, J. Bovine viral diarrhoea: pathogenesis and diagnosis. *The Veterinary Journal*, v. 199, p. 201-209, 2014.

LARSSON, B., NISKANEN, R., & ALENIUS, S. Natural infection with bovine virus diarrhoea virus in a dairy herd: A spectrum of symptoms including early reproductive failure and retained placenta. *Animal Reproduction Science*, 36(1-2), 37-48, 1994.

LEE, S. R., NANDURI, B., PHARR, G. T., STOKES, J. V., PINCHUK, L. M. Bovine viral diarrhoea virus infection affects the expression of proteins related to professional antigen presentation in bovine monocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, v. 1794, p. 14-22, 2009.

- LIBONATI, H. A., SANTOS, G. B., SOUZA, G. N., BRANDÃO, F. Z., & LILENBAUM, W. Leptospirosis is strongly associated to estrus repetition on cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 50(7), 1625-1629, 2018.
- LIEBLER-TENORIO, E. M., KENKLIES, S., GREISER-WILKE, I., MAKOSCHEY, B., POHLENZ, J. F. Incidence of BVDV1 and BVDV2 infections in cattle submitted for necropsy in Northern Germany. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 53, p363-369, 2006.
- LINDBERG, A., HOUE, H. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhea virus (BVDV) of relevance to control. *Preventive Veterinary Medicine*, 72, 55-73, 2005.
- LUNARDI, M.; HEADLEY, S. A.; LISBÔA, J. A. N.; AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. A. Surto de diarreia viral bovina aguda em bovinos de corte brasileiros: achados clínico-patológicos e caracterização molecular de uma cepa de BVDV tipo selvagem subtipo 1b. *Research in Veterinary Science*, v. 85, p. 599-604, 2008.
- MARQUES, A. L. A.; MAIA, L. A.; AGUIAR, G. M. N.; WEBER, M. N.; SIMÕES, S. V. D.; AZEVEDO, S. S. Detecção do vírus 'HoBi'-like (BVDV-3) em bovino no semiárido do Estado da Paraíba. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 36, p. 1081-1086, 2016.
- MCCLURKIN, A. W., LITTLEDIKE, E. T., CUTLIP, R. C., FRANK, G. H., CORIA, M. F., BOLIN, S. R. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus. *Canadian journal of comparative medicine*, 48(2), 156M 1984.
- MCGOWAN, M. R., & KIRKLAND, P. D. Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *British Veterinary Journal*, 151(3), 263-270, 1995.
- MCGOWAN, M. R., KAFI, M., KIRKLAND, P. D., KELLY, R., BIELEFELDT-OHMANN, H., OCCHIO, M. D., JILLELLA, D. Studies of the pathogenesis of bovine pestivirus-induced ovarian dysfunction in superovulated dairy cattle. *Theriogenology*, 59(3-4), 1051-1066, 2003.
- MELENDEZ, P., ILHA, M., WOLDEMESKEL, M., GRAHAM, J., COARSEY, M., BAUGHMAN, D., NAIKARE, H. An outbreak of *Neospora caninum* abortion in a dairy herd from the State of Georgia, United States. *Veterinary Medicine and Science*, 7, 141-147, 2021.
- MENDEZ, E., RUGGLI, N., COLLETT, M. S., & RICE, C. M. Infectious bovine viral diarrhea virus (strain NADL) RNA from stable cDNA clones: a cellular insert determines NS3 production and viral cytopathogenicity. *Journal of virology*, 72(6), 4737-4745, 1998.
- MEYERS, G., EGE, A., FETZER, C., VON FREYBURG, M., ELBERS, K., CARR, V., SCHÜRMANN, E. M. Bovine viral diarrhea virus: prevention of persistent fetal infection by a combination of two mutations affecting Erns RNase and Npro protease. *Journal of virology*, 81(7), 3327-3338, 2007.
- MOENNIG, V., LIESS, B. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 11(3), 477-487, 1995.
- MOENNIG, V., YARNALL, M. J. The Long Journey to BVD Eradication. *Pathogens*, 10(10), 1292, 2021.
- MONTEIRO, F. L., CARGNELUTTI, J. F., BRAUNIG, P., FOLGUERAS-FLATSCHART, A. V., SANTOS, N. C., PITUCO, E. M., FLORES, E. F. Detecção e identificação genética de Pestivirus em lotes brasileiros de soro fetal bovino coletado de 2006 a 2014. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(3), 387-392, 2018.
- MOSENA, A. C. S., WOLF, J. M., PAIM, W. P., BAUMBACH, L. F., DA SILVA, M. S., SILVEIRA, S., CANAL, C. W. Temporal analysis of bovine pestivirus diversity in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-8, 2022.

MOURA, R.L.S., CARVALHO, F.S., O'DWYER, H.N.S. Identificação de *Toxoplasma gondii* em leite de ovelhas do Sul da Bahia. In: 38º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2011.

MÜLLER, N., ZIMMERMANN, V., HENTRICH, B. Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection by PCR and DNA hybridization immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology*, v.34, p. 2850-2852, 1996.

MURRAY, R. D. Lesions in aborted bovine fetuses and placenta associated with bovine viral diarrhoea virus infection. In *Ruminant Pestivirus Infections* (pp. 217-224). Springer, Vienna, 1991.

NEILL, J. D. Molecular biology of bovine viral diarrhea virus. *Biologicals*, 41(1), 2-7, 2012.

NISKANEN, R., & LINDBERG, A. Transmission of bovine viral diarrhoea virus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens. *The Veterinary Journal*, 165(2), 125-130, 2003.

NISKANEN, R., EMANUELSON, U., SUNDBERG, J., LARSSON, B., & ALENIUS, S. Effects of infection with bovine virus diarrhoea virus on health and reproductive performance in 213 dairy herds in one county in Sweden. *Preventive Veterinary Medicine*, 23(3-4), 229-237, 1995.

NJAA, B. L., CLARK, E. G., JANZEN, E., ELLIS, J. A., HAINES, D. M. Diagnosis of persistent bovine viral diarrhea virus infection by immunohistochemical staining of formalin-fixed skin biopsy specimens. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 12, p. 393-399, 2000.

OGUEJIOFOR, C. F., THOMAS, C., CHENG, Z., & WATHES, D. C. Mechanisms linking bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection with infertility in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 20(1), 72-85, 2019.

OGUZOGLU, T. Ç., KOÇ, B. T., COŞKUN, N., DOGAN, F., & DURAN-YELKEN, S. Endless variety for bovine virus diarrhea viruses: new members of a novel subgroup into Pestivirus A from Turkey. *Tropical animal health and production*, 51(5), 1083-1087, 2019.

OGUZOGLU, T.C., TAN, M.T., TOPLU, N., DEMIR, A.B., BILGE-DAGALP, S., KARAOGLU, T., OZKUL, A., ALKAN, F., BURGU, I., HAAS, L., GREISER-WILKE, I. Border disease virus (BDV) infections of small ruminants in Turkey: a new BDV subgroup? *Vet. Microbiol*, 2009.

OTONEL, R. A. A., ALFIERI, A. F., DEZEN, S., LUNARDI, M., HEADLEY, S. A., ALFIERI, A. A. The diversity of BVDV subgenotypes in a vaccinated dairy cattle herd in Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, v. 46, p. 87-92, 2014.

PALFI, V., HOUE, H., PHILIPSEN, J. Studies on the Decline of Bovine Virus Diarrhoea Virus (BVD V) Maternal Antibodies and Detectability of BVDV in Persistently Infected Calves. *Acta veterinaria scandinavica*, v. 34, p. 105-107, 1993.

PASQUALOTTO, W., SEHNEM, S., WINCK, C. A. Incidência de rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD) e leptospirose em bovinos leiteiros da região Oeste de Santa Catarina-Brasil. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, v. 8, p. 249-270, 2015.

PASSLER, T., RIDDELL, K. P., EDMONDSON, M. A., CHAMORRO, M. F., NEILL, J. D., BRODERSEN, B. W., WALZ, P. H. Infecção experimental de cabras grávidas com vírus da diarréia viral bovina (BVDV) 1 ou 2. *Veterinary Research*, 45, 1-10, 2014.

PASSLER, T., WALZ, P. H., DITCHKOFF, S. S., GIVENS, M. D., MAXWELL, H. S., BROCK, K. V. Experimental persistent infection with bovine viral diarrhea virus in white-tailed deer. *Veterinary microbiology*, 122(3-4), 350-356, 2007.

PEDRERA, M., GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C., RISALDE, M. A., MOLINA, V., SANCHEZ-CORDON,

- P. J. Characterisation of apoptosis pathways (intrinsic and extrinsic) in lymphoid tissues of calves inoculated with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus genotype 1. *Journal of Comparative Pathology*, v. 146, p. 30–39, 2012.
- PEDRERA, M., GOMEZ-VILLAMANDOS, J. C., ROMERO-TREVEJO, J. L., RISALDE, M. A., MOLINA, V., & SANCHEZ-CORDON, P. J. Apoptosis in lymphoid tissues of calves inoculated with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus genotype 1: activation of effector caspase-3 and role of macrophages. *Journal of general virology*, 90(11), 2650-2659, 2009.
- PEREZ, A.L., MORENO, B., ADURIZ, G. Necropsia y toma de muestras de abortos ovinos. *Revista Ovis: Tratado de Patología y Producción Ovina*, n.86, p.65-67, 2003.
- PESCADOR, C. A., CORBELLINI, L. G., OLIVEIRA, E. C., RAYMUNDO, D. L., DRIEMEIER, D. Histopathological and immunohistochemical aspects of *Neospora caninum* diagnosis in bovine aborted fetuses. *Veterinary Parasitology*, 150(1-2), 159-163, 2007.
- PINIÖR, B., & KÖFER, J. The effect of bovine viral diarrhoea virus on fertility in dairy cows: two case-control studies in the province of Styria, Austria. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 129(3/4), 103-110, 2016.
- POCOCK, D. H., HOWARD, C. J., CLARKE, M. C., & BROWNLIE, J. Variation in the intracellular polypeptide profiles from different isolates of bovine virus diarrhoea virus. *Archives of virology*, 94(1), 43-53, 1987.
- QI, L., BEAUNÉE, G., ARNOUX, S., DUTTA, B. L., JOLY, A., VERGU, E., & EZANNO, P. Neighbourhood contacts and trade movements drive the regional spread of bovine viral diarrhoea virus (BVDV). *Veterinary research*, 50(1), 1-15, 2019.
- RAMÍREZ VÁSQUEZ, N. F., VILLAR ARGAIZ, D., FERNÁNDEZ SILVA, J. A., LONDOÑO PINO, J., CHAPARRO GUTIÉRREZ, J. J., & OLIVERA ÁNGEL, M. E. Seroprevalence and risk factors of several bovine viral diseases in dairy farms of San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 11(1), 15-25, 2016.
- REARDON, F., GRAHAM, D. A., CLEGG, T. A., TRATALOS, J. A., O'SULLIVAN, P., & MORE, S. J. Quantifying the role of Trojan dams in the between-herd spread of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in Ireland. *Preventive veterinary medicine*, 152, 65-73, 2018.
- RICHTER, V., LEBL, K., BAUMGARTNER, W., OBRITZHAUSER, W., KÄSBOHRER, A., PINIÖR, B. A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. *The Veterinary Journal*, v. 220, p. 80-87, 2017.
- RIDPATH, J. F. Bovine viral diarrhoea virus: global status. The Veterinary clinics of North America. *Food animal practice*, v. 26, n. 1, p. 105–121, 2010.
- RIDPATH, J. F. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. *Biologicals: journal of the International Association of Biological Standardization*, 31, 127-131, 2003.
- RIDPATH, J. F., NEILL, J. D., CHIANG, Y. W., WALDBILLIG, J. Stability of Bovine viral diarrhoea virus 1 nucleic acid in fetal bovine samples stored under different conditions. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26(1), 6-9, 2014.
- RIKULA, U., NUOTIO, L., LAAMANEN, U. I., SIHVONEN, L. Transmission of bovine viral diarrhoea virus through the semen of acutely infected bulls under field conditions. *Veterinary Record*, 162(3), 79-81, 2008.

SANTMAN-BERENDS, I. M. G. A., MARS, M. H., VAN DUIJN, L., VAN SCHAIK, G. Evaluation of the epidemiological and economic consequences of control scenarios for bovine viral diarrhoea virus in dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v. 98, p. 7699-7716, 2015.

SANTOS, A. S., ANTONIASSI, N. A., BOABAID, F. M., BITENCOURT, A. P., ALMEIDA, L. L., CANAL, C. W., DRIEMEIER, D. Aspectos clínicos, patológicos, imuno-histoquímicos e virológicos em cinco bezerros persistentemente infectados com o vírus da diarréia viral bovina em uma propriedade do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31, 885-892, 2011.

SANTOS, R. L., MARTINS, T. M., BORGES, A. M., PAIXÃO, T. A. Economic losses due to bovine brucellosis in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 6, p. 759-764, 2013.

SARRAZIN, S., VELDHUIS, A., MÉROC, E., VANGEEL, I., LAUREYNS, J., DEWULF, J., VAN DER STEDE, Y. Serological and virological BVDV prevalence and risk factor analysis for herds to be BVDV seropositive in Belgian cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 108(1), 28-37, 2013.

SCHARNBÖCK, B., ROCH, F. F., RICHTER, V., FUNKE, C., FIRTH, C. L., OBRITZHAUSER, W., PINIOR, B. A meta-analysis of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevalences in the global cattle population. *Scientific reports*, 8(1), 1-15, 2018.

SCHERER, C. F. C., FLORES, E. F., WEIBLEN, R., CARON, L., IRIGOYEN, L. F., NEVES, J. P., MACIEL, M. N. Infecção experimental de ovelhas gestantes com o vírus da diarréia viral bovina tipo 2 (BVDV-2): efeitos na gestação e no feto. *Veterinary Microbiology*, 79 (4), 285-299, 2001.

SCHMITZ, M. Caracterização patológica e imuno-histoquímica da infecção pelo vírus da diarréia viral bovina. 2006. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

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

SCOTT, F. W., KAHRS, R. F., DE LAHUNTE, A., BROWN, T. T., MCENTEE, K., & GILLESPIE, J. H. Virus induced congenital anomalies of the bovine fetus. I. Cerebellar degeneration (hypoplasia), ocular lesions and fetal mummification following experimental infection with bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus. *The Cornell Veterinarian*, 63(4), 536-560, 1973.

SCRUGGS, D. W., FLEMING, S. A., MASLIN, W. R., & WAYNE, G. A. Osteopetrosis, anemia, thrombocytopenia, and marrow necrosis in beef calves naturally infected with bovine virus diarrhoea virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7(4), 555-559, 1995.

SILVA, P. H. H. S. Sobre a necessidade de inclusão de *Pestivirus*HOBILIKE em vacinas respiratórias e reprodutivas para bovinos. 2021. 58f. Dissertação (Mestrado em Sanidade e Reprodução Animal). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

SILVA, P. H. H., WEIBLEN, R., FLORES, E. F. About the necessity of including HoBi-like pestiviruses in bovine respiratory and reproductive viral vaccines. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 41, 2021.

SILVEIRA, S., WEBER, M. N., MÓSENA, A. C. S., DA SILVA, M. S., STRECK, A. F., PESCADOR, C. A., CANAL, C. W. Genetic diversity of Brazilian bovine pestiviruses detected between 1995 and 2014. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 64, p. 613-623, 2015.

SIMMONDS, P., BECHER, P., BUKH, J., GOULD, E. A., MEYERS, G., MONATH, T., CONSORTIUM, I. R. ICTV virus taxonomy profile: Flaviviridae. *The Journal of general virology*, 98(1), 2, 2017.

SIMMONDS, P., BECHER, P., COLLET, M.S., GOULD, E.A., HEINZ, F.X., MEYERS, G., MONATH, T., PLETNEV, A., RICE, C.M., STIANSKY, K., THIEL, H.J., WEINER, A., BUKHET, J. Flaviviridae. In: King,

A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J. (Eds.), *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, San Diego, pp. 1003–1020, 2011.

SORENSEN, J. T., ENEVOLDSEN, C., & HOUE, H. A stochastic model for simulation of the economic consequences of bovine virus diarrhoea virus infection in a dairy herd. *Preventive Veterinary Medicine*, 23(3-4), 215-227, 1995.

SPETTER, M. J., LOUGE URIARTE, E. L., ARMENDANO, J. I., MORRELL, E. L., CANTÓN, G. J., VERNA, A. E., ... & GONZÁLEZ ALTAMIRANDA, E. A. Detection methods and characterization of bovine viral diarrhoea virus in aborted fetuses and neonatal calves over a 22-year period. *Brazilian journal of microbiology*, 51(4), 2077-2086, 2020.

STAHL, K., BJORKMAN, C., EMANUELSON, U., RIVERA, H., ZELADA, A., MORENO-LOPEZ, J. A prospective study of the effect of *Neospora caninum* and BVDV infections on bovine abortions in a dairy herd in Arequipa, Peru. *Preventive veterinary medicine*, 75, 177-188, 2006.

STALDER, H., BACHOFEN, C., SCHWEIZER, M., ZANONI, R., SAUERLÄNDER, D., & PETERHANS, E. Traces of history conserved over 600 years in the geographic distribution of genetic variants of an RNA virus: Bovine viral diarrhoea virus in Switzerland. *PloS one*, 13(12), e0207604, 2018.

STOKSTAD, M., & LOKEN, T. Pestivirus in cattle: experimentally induced persistent infection in calves. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 49(10), 494-501, 2002.

TALAFHA, A. Q., HIRCHE, S. M., ABABNEH, M. M., & AL-MAJALI, A. M. Prevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds in Jordan. *Tropical animal health and production*, 41(4), 499-506, 2009.

TAUTZ, N., TEWS, B. A., & MEYERS, G. The molecular biology of pestiviruses. *Advances in virus research*, 93, 47-160, 2015.

TAUTZ, N., THIEL, H. J. Cytopathogenicity of Pestiviruses: cleavage of bovine viral diarrhoea virus NS2-3 must occur at a defined position to allow viral replication. *Archives of Virology*, v. 148, p. 1405-1412, 2003.

THABTI, F., LETELLIER, C., HAMMAMI, S., PÉPIN, M., RIBIÈRE, M., MESPLÈDE, A., KERKHOFS, P., RUSSO, P. Detection of a novel border disease virus subgroup in Tunisian sheep. *Arch. Virol.* 150, 215–229, 2005.

THOMPSON J.D., HIGGINS D.G. & GIBSON T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. 22: 4673-4680, 1994.

THURMOND, M. C. Virus transmission. *Bovine viral diarrhoea virus: diagnosis, management and control*, 1, 91-104, 2005.

VALLE, P. S., MARTIN, S. W., TREMBLAY, R., & BATEMAN, K. Factors associated with being a bovine-virus diarrhoea (BVD) seropositive dairy herd in the Møre and Romsdal County of Norway. *Preventive Veterinary Medicine*, 40(3-4), 165-177, 1999.

VANROOSE, G., NAUWYNCK, H., SOOM, A. V., VANOPDENBOSCH, E., KRUIF, A. D. Replication of Cytopathic and Noncytopathic Bovine Viral Diarrhoea Virus in Zona-Free and Zona-Intact In Vitro-Produced Bovine Embryos and the Effect on Embryo Quality. *Biology of reproduction*, 58(3), 857-866, 1998.

VEGA, S., BAYON, M.C., JIMINEZ, T., ASENSIO, A., MIRAT, F., CID, D., DE LA FUENTE, R. 1997. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus in the cattle population of Comunidad de Madrid (Spain). In S. Edwards, D. J. Paton, and G. Wensvoort (Eds.), *Proc. 3rd ESVV Symp Pestivirus Infections*, Lelystad, The Netherlands, 19–20, p. 116–119, 1996.

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

VILCEK, S., HERRING, A. J., HERRING, J. A., NETTLETON, P. F., LOWINGS, J. P., PATON, D. J. Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Archives of virology*, 136(3), 309-323, 1994.

VILCEK, S., PATON, D. J., DURKOVIC, B., STROJNY, L., IBATA, G., MOUSSA, A., PALFI, V. Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. *Archives of virology*, 146(1), 99-115, 2001.

VOGEL, F. S. F., FLORES, E. F., WEIBLEN, R., MAYER, S. V., QUADROS, V. L. D., OLDONI, I. Magnitude, duração e especificidade da resposta sorológica em bovinos vacinados contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV). *Ciência Rural*, 32, 83-89, 2002.

VOGES, H., YOUNG, S., NASH, M. Direct adverse effects of persistent BVDV infection in dairy heifers – A retrospective case control study. *VetScript*, v. 19, p. 22–25, 2006.

WEBB, B. T., NORRDIN, R. W., SMIRNOVA, N. P., CAMPEN, H. V., WEINER, C. M., ANTONIAZZI, A. Q., HANSEN, T. R. Bovine viral diarrhea virus cyclically impairs long bone trabecular modeling in experimental persistently infected fetuses. *Veterinary pathology*, v. 49, p. 930-940, 2012.

WEBER, M. N., BAUERMANN, F. V., CANAL, C. W., BAYLES, D. O., NEILL, J. D., RIDPATH, J. F. Temporal dynamics of ‘HoBi’-like pestivirus quasispecies in persistently infected calves generated under experimental conditions. *Virus research*, 227, 23-33, 2017.

WEBER, M. N., SILVEIRA, S., MACHADO, G., GROFF, F. H. S., MÓSENA, A. C. S., BUDASZEWSKI, R. F., Canal, C. W. High frequency of bovine viral diarrhea virus type 2 in Southern Brazil. *Virus research*, 191, 117-124, 2014.

WHITE, I. R.; RUSSEL, A. J.; WRIGHT, I. A.; WHYTE, T. K. Real-time ultrasonicscanning in the diagnosis of pregnancy and the estimation of gestational-age in cattle. *Veterinary Record*, v.117, n. 1, p. 5-8, 1985.

WHITMORE, H. L., ZEMJANIS, R. OLSON, J. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 178, 1065, 1981.

WILHELMSSEN, C. L., BOLIN, S. R., RIDPATH, J. F., CHEVILLE, N. F., & KLUGE, J. P. Experimental primary postnatal bovine viral diarrhea viral infections in six-month-old calves. *Veterinary Pathology*, 27(4), 235-243, 1990.

WITHOEFT, J. A. Ocorrência de abortamentos ovinos por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* no estado de Santa Catarina: caracterização anatomopatológica, molecular e epidemiológica. 2021. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

WU, R., VAN DER HOEK, K. H., RYAN, N. K., NORMAN, R. J., ROBKER, R. L. Macrophage contributions to ovarian function. *Human reproduction update*, 10(2), 119-133, 2004.

WU, Z.; REN, X.; YANG, L.; HU, Y.; YANG, J.; HE, G.; ZHANG, J.; DONG, J.; SUN, L.; DU, J.; LIU, L.; XUE, Y.; WANG, J.; YANG, F.; ZHANG, S.; JIN, Q. Virome analysis for identification of novel mammalian viruses in bat species from Chinese provinces. *Journal of Virology*, v. 86, p. 10999–1012, 2012.

YAMANE, D., KATO, K., TOHYA, Y., AKASHI, H. The double stranded RNA induced apoptosis pathway is involved in the cytopathogenicity of cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus. *Journal of General Virology*, v. 87, p. 2961–2970, 2006.

YAMANE, D., NAGAI, M., OGAWA, Y., TOHYA, Y., AKASHI, H. Enhancement of apoptosis via an extrinsic factor, TNF alpha in cells infected with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Microbes and Infection*, v. 7, p. 1482–1491, 2005.

YESILBAG, K., ALPAY, G., & BECHER, P. Variability and global distribution of subgenotypes of bovine viral diarrhea virus. *Viruses*, 9(6), 128, 2017.

YITAGESU, E., JACKSON, W., KEBEDE, N., SMITH, W., & FENTIE, T. Prevalence of bovine abortion, calf mortality, and bovine viral diarrhea virus (BVDV) persistently infected calves among pastoral, peri-urban, and mixed-crop livestock farms in central and Northwest Ethiopia. *BMC veterinary research*, 17(1), 1-10, 2021.

11 APÊNDICE I



BVDV COMO CAUSA DE ABORTO EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA

Responsável: Lucas Marian

Orientador: Profª Renata Assis Casagrande

Identificação da propriedade: _____

Localização: _____

CARACTERÍSTICAS GERAIS

1. Qual a área total da propriedade? _____
- 1.1 Qual a área utilizada na criação? _____
- 1.3 Qual a distância de outras propriedades? _____
2. Tipo de exploração:
 - ☐ Corte
 - Quantas vacas em cria? _____
 - Quantos bezerros desmamados? _____
 - Faz recria de machos/fêmeas? _____
 - ☐ Leite
 - Quantas vacas em lactação? _____
 - Quantas primíparas? _____
 - Quantas múltiparas? _____
- 2.1 Qual o número total de animais? _____
- 2.2 Raças presentes: _____
- 2.3 Possui funcionários fixos ou colaboradores temporários?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim
3. Tipo de criação
 - ☐ Confinamento
 - ☐ Semi-confinado
 - ☐ Extensivo
 - ☐ Semi-extensivo
4. Há quanto tempo desenvolve a atividade pecuária nesta propriedade? _____
5. A propriedade tem assistência veterinária?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim. Qual frequência?
 - ☐ Anual ☐ Semestral ☐ Mensal ☐ Quando solicitado
6. Além da bovinocultura, há alguma outra atividade?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim. Qual?
 - ☐ Suinocultura ☐ Ovinocultura ☐ Agricultura ☐ Outra _____
- 6.1 Bovinos dividem instalações, piquetes ou fontes de alimento e água com outras espécies?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim. Com que frequência? _____



BIOSSEGURIDADE

7. Já levou os bovinos para eventos de aglomeração (feiras, exposição, leilão) nos últimos 5 anos?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim. Quantos por ano? _____
8. Qual a origem dos animais do rebanho?
 - ☐ Reposição própria
 - ☐ Compra e/ou troca
 - ☐ Mista (reposição própria e compra/troca)
- 8.1 Em caso de compra/troca de animais, quando foi a última? _____
- 8.2 Em que época do ano costuma adquirir novos animais? _____
- 8.3 Os animais adquiridos por compra/troca são provenientes de quantas outras propriedades?
 - ☐ Uma ☐ Três
 - ☐ Duas ☐ Mais. Quantas? _____
- 8.4 Compra fêmeas de reposição com que idade principalmente?
 - ☐ Menos de 1 ano
 - ☐ Até 2 anos
 - ☐ Adultos
- 8.5 Adquire fêmeas de reposição já prenhes?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim. Com que frequência? _____
- 8.6 Animais provenientes de compra/troca são isolados antes de serem introduzidos no rebanho?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim. Quanto tempo? _____
- 8.7 Em caso de compra/troca, já observou alterações de saúde e reprodutivas no rebanho após a inserção dos novos animais?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim. Quais? _____

REPRODUÇÃO

9. Qual o intervalo entre partos médio geral da propriedade? _____
- 9.1 Qual o intervalo médio geral do rebanho entre parto e novo cio? _____
10. Utiliza touros na propriedade?
 - ☐ Não
 - ☐ Sim, somente para repasse
 - ☐ Sim, só utiliza monta natural



BVDV COMO CAUSA DE ABORTO EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA



10.1 Qual a origem desses touros?

- () Nascido na propriedade
() Comprado
() Empréstado

10.2 Em caso de compra/troca/empréstimo, os touros são examinados antes de serem inseridos no rebanho?

- () Não
() Sim. Quais doenças? _____

10.3 Compartilha touros com outras propriedades e rebanhos?

- () Não
() Sim

10.4 Qual a relação touro/vaca? _____

11. Realiza inseminação artificial nos bovinos?

- () Não
() Sim. Qual a porcentagem do rebanho inseminado? _____

11.1 Quantas doses são necessárias para se obter uma prenhez? _____

11.2 Quem executa a inseminação artificial?

- () Proprietário/funcionário da propriedade
() Funcionário da prefeitura/estado
() Funcionário de Cooperativa
() Funcionário de empresa terceirizada

11.3 Os utensílios utilizados na inseminação são higienizados após uso em cada animal?

- () Não
() Sim. Com que frequência? _____

11.4 Qual a origem do sêmen utilizado?

- () Touros próprios
() Touros de propriedades locais
() Touros de centrais de inseminação

12. Realiza transferência de embriões na propriedade?

- () Não
() Sim.

Origem:

- () Doadoras próprias
() Doadoras de propriedades locais
() Doadoras de centrais de reprodução

13. São realizadas técnicas de diagnóstico de gestação nos bovinos?

- () Não
() Sim. Qual? _____

13.1 Para palpação retal e/ou inseminação artificial, costuma-se reutilizar a mesma luva em mais de um animal?

- () Sim () Não () Não se aplica

14. A propriedade possui piquetes maternidade?

- () Sim () Não

15. Possui banco de colostro/mistura de leite de mais de uma vaca para ser fornecido aos terneiros?

- () Sim () Não

DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS

16. Nos últimos tempos tem sido observado aumento na ocorrência de retorno ao cio nos bovinos?

- () Não
() Sim

Qual a característica principal?

- () Intervalos regulares (21-21 dias)
() Intervalos irregulares (>18 dias ou >25 dias)

17. Já foi ocorrido nascimento de terneiros fracos?

- () Não
() Sim.
Quanto aproximadamente? _____
Quanto morreram? _____

18. Já ocorreu nascimento de terneiros com malformações?

- () Não.
() Sim. Que tipo? _____
Quanto aproximadamente? _____
Quanto morreram? _____

19. Nos últimos tempos houve aumento da ocorrência de abortos?

- () Não
() Sim. Quantos nos últimos 3 anos?
2019 _____
2020 _____
2021 _____

19.1 Qual o intervalo entre os abortos?

- () Poucos dias de diferença (- 30 dias)
() Meses de diferença (+ 30 dias)

19.2 Em que fase da gestação ocorreram os abortos? _____

19.3 Em qual período os abortos foram mais frequentes?

- () 1º Trimestre () 3º Trimestre
() 2º Trimestre () Todas as fases

19.4 Qual a idade de cada vaca que abortou? Quantos crias cada uma já teve? _____

19.4 Qual a idade predominante das vacas que abortaram?

- () Novilhas () 5 – 6 anos
() 3 – 4 anos () > 6 anos



BVDV COMO CAUSA DE ABORTO EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA



19.5 A(s) vaca(s) com histórico de aborto já apresentaram outras desordens* reprodutivas anteriormente?

() Não

() Sim

Quais? _____

Com que frequência? _____

*repetição de cio, outros abortos, natimortos, bezerras fracas

19.6 A(s) vaca(s) com histórico de aborto são(é) nascida(s) na propriedade?

() Sim. Houve contato delas com animais vizinhos ou trazidos de outras propriedades recentemente? () Sim () Não

() Não. Qual a origem? _____

() Ambos acima

19.7 A(s) vaca(s) com histórico de aborto apresentaram algum sinal clínico de doença como:

() Apatia () Baixa produção de leite

() Baixo apetite () Febre

() Peso baixo () Outro. Qual? _____

() Descarga nasal e ocular

19.8 Alguma vaca da propriedade apresentou retardo no desenvolvimento durante a vida?

() Não

() Sim. Quantas? _____

Ainda estão no rebanho? _____

19.9 Já houve ocorrência de fetos mumificados na propriedade?

() Não

() Sim. Quantos? _____

Em que fase da gestação ocorreu? _____

19.10 Qual(is) a(s) raça(s) da(s) vaca(s) com histórico de aborto? _____

19.11 Em casos de aborto, qual o destino dos restos fetais?

() Enterrados () Fornecidos aos cães

() Incinerados () Compostagem

() Decompõem no ambiente

ORIGEM DO FETO POSITIVO PARA BVDV HISTÓRICO DA VACA

20. Qual a raça da vaca que abortou? _____

20.1 Qual a idade da vaca no momento do aborto? _____

20.2 Quando ocorreu o aborto (mês/ano) _____

20.3 Qual a origem da vaca?

() Nascida da propriedade

() Compra/troca

Caso seja oriunda de compra/troca:

20.4 Já adquiriu outros animais dessa mesma origem?

() Sim () Não

20.5 Estes animais já apresentaram algum problema relacionado à saúde/reprodução?

() Não

() Sim. Quais? _____

20.6 Com que idade chegou à propriedade? _____

20.7 Foi adquirida prenha ou emprenhou após? _____

Caso tenha nascido na propriedade:

20.8 Qual a origem da mãe?

() Nascida na propriedade

() Compra/troca

20.9 Qual a origem do pai?

() Inseminação

() Sêmen de central

() Sêmen de propriedades vizinhas

() Sêmen reprodutores próprios

() Touro

() Nascido na propriedade

() Compra/troca

() Emprestado

20.9 Possui irmãos por parte de mãe e/ou pai?

() Não

() Sim. Quantos? _____

Problemas reprodutivos? _____

Problemas de saúde? _____

Problemas de desenvolvimento? _____

20.10 Como foi o nascimento e desenvolvimento deste animal? Alguma doença ou distúrbio? _____

20.11 Esta vaca apresentou alguma das seguintes alterações de saúde durante a vida?

() Apatia () Baixa produção de leite

() Baixo apetite () Febre

() Peso baixo () Outro. Qual? _____

() Descarga nasal e ocular

20.12 Teve contato com animais recém introduzidos no rebanho?

() Não

() Sim

20.13 Tem contato com animais de propriedades vizinhas?

() Não

() Sim



BVDV COMO CAUSA DE ABORTO EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA



Reprodução

20.14 Com que idade emprenhou e pariu pela primeira vez? _____

20.15 Quantas gestações esta vaca já teve? _____

20.16 Todos nasceram vivos?

() Sim

() Não. Quantos morreram? _____

20.17 Já abortou anteriormente?

() Não

() Sim. Quantas vezes? _____

Em que momento da gestação? _____

20.18 Já apresentou fetos mumificados?

() Não

() Sim. Quantos? _____

Qual idade gestacional? _____

20.19 Já apresentou repetição de cio?

() Não

() Sim. Frequência? _____

Regular ou irregular? _____

Muco límpido ou sujo? _____

20.20 Já apresentou outros problemas/doenças reprodutivos?

() Não

() Sim. Quais? _____

20.21 Esta vaca possui descendentes na propriedade?

() Não

() Sim. Quantos(as)? _____

Algum(a) com alteração no desenvolvimento?

() Não () Sim.

Quantos? _____

Qual(is)? _____

Algum(a) alteração de saúde?

() Não () Sim.

Quantos? _____

Qual(is)? _____

Algum(a) com malformações?

() Não () Sim.

Quantos? _____

Qual(is)? _____

Algum(a) com falha reprodutiva?

() Não () Sim.

Quantos? _____

Qual(is)? _____

20.22 Após o aborto deste feto, a vaca permaneceu em reprodução?

() Sim

() Não. Qual destino? _____

20.23 Já emprenhou novamente?

() Não

() Sim

20.24 Apresentou alguma dificuldade para emprenhar?

() Não

() Sim. Quais? _____

Feto positivo para BVDV

21. Qual a origem desta prenhez?

() Inseminação

() Sêmen de central

() Sêmen de propriedades vizinhas

() Sêmen reprodutores próprios

() Touro

() Nascido na propriedade

() Compra/troca

() Empréstado

21.1 Em que período gestacional ocorreu o aborto?

21.2 Foi expulso do útero de forma:

() Espontânea

() Com auxílio

21.3 Houve retenção de placenta?

() Não

() Sim

CONDIÇÕES SANITÁRIAS

22. As seguintes alterações clínicas já foram observadas em algum animal da propriedade?

() Corrimento nasal

() Secreção ocular

() Salivação excessiva

() Timpanismo crônico

() Feridas (úlceras/erosão) na boca, narinas e/ou entre os cascos, úbere, tetos, vulva

() Diarreia intermitente, podendo conter sangue

23. Já foram observados na propriedade animais com crescimento deficiente, que não engordam e que constantemente ficam doentes?

() Não

() Sim. Quais alterações observadas?

24. São realizadas vacinas reprodutivas no rebanho?

() Não

() Sim. Qual e com que frequência? _____

() Cattle Master () Fertiguard

() Bovigen () Poliguard

() Outra. Qual? _____



BVDV COMO CAUSA DE ABORTO EM BOVINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA



24.1 Já utilizou outra(s) vacina(s) antes?

() Não

() Sim. Qual(is)? _____

24.2 Há quanto tempo vacina o

rebanho? _____

25. Existe a possibilidade de contato físico* entre os bovinos da propriedade com bovinos de propriedades vizinhas?

*contato focinho-focinho, espirro, lambidas

() Não

() Sim. Quantos vizinhos? _____

33. Quando são aplicados medicamentos ou vacinas injetáveis nos bovinos, é comum utilizar a mesma agulha em mais de um animal?

() Não

() Sim

DATA de aplicação: ____/____/____

**LABORATÓRIO DE PATOLOGIA ANIMAL
CAV-UDESC**

Fones

(48) 9 98303975 – Lucas Marian

(49) 9 88238060 – Renata Casagrande

E-mail

lucasmarian94@hotmail.com

renata.casagrande@udesc.br

MANEJO E INSTALAÇÕES

26. Os bovinos são divididos por categoria/idade em diferentes piquetes?

() Não

() Sim

27. No que consiste a alimentação fornecida aos animais?

() Pastagem de inverno Qual _____

() Pastagem de verão Qual _____

() Gramíneas perenes Qual _____

() Suplementação com concentrado e silagem

() Suplementação com sal mineral

28. São Observadas plantas tóxicas nos piquetes frequentados pelos animais?

() Não

() Sim. Que plantas? _____

() Não soube responder

29. Como é feita a ordenha?

() Manual

() Ordenhadeira tipo balde ao pé

() Ordenhadeira mecânica canalizada

30. São realizados registros de nascimentos/mortalidade e práticas de manejo em geral*?

() Não

() Sim

*inseminação, vacinação, tratamentos etc.

31. Qual a frequência de vermifugação dos

animais? _____

31.1. Quais os principais produtos

utilizados? _____

Aplicação de medicamentos

32. Quem faz a aplicação nos animais?

() Funcionários de lojas agropecuárias

() Médico Veterinário

() Leigos (vizinhos, amigos)

() Técnico agrícola

() O próprio produtor

12 APÊNDICE II

Estimativas de divergência evolutiva entre sequências de aminoácidos da região 5'UTR dos *Pestivirus* de ruminantes obtidos de fetos bovinos em Santa Catarina, Brasil, com sequências contidas do GenBank.

CEPAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1. SC-Feto-1																										
2. SC-Feto-2	0,05																									
3. SC-Feto-5	0,04	0,04																								
4. MRI1232-United_Kingdom-1e	1,66	1,93	1,94																							
5. LV/ILF15/12-SC-Brazil-1e	1,66	1,93	1,94	0,00																						
6. LV/152/18-SC-Brazil-1e	1,57	1,79	1,80	0,01	0,01																					
7. CN11a_09-Italy-1e	1,50	1,69	1,70	0,01	0,01	0,01																				
8. CH2192-Switzerland-1e	1,59	1,83	1,84	0,01	0,01	0,00	0,01																			
9. 3186V6-Italy-1e	1,42	1,59	1,54	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08																		
10. 228/02-Spain-1e	1,66	1,93	1,94	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,07																	
11. 21-07-France-1e	1,66	1,93	1,94	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,07	0,00																
12. 1891/99-Germany-1g	1,66	1,93	1,94	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,07	0,00	0,00															
13. 10-84-France-1e	1,59	1,83	1,84	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,08	0,01	0,01	0,01														
14. LV/ILF79/12-SC-Brazil-1a	1,45	1,54	1,63	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,17	0,16	0,16	0,16	0,15													
15. LV/ILF43/12-SC-Brazil-1a	1,32	1,40	1,48	0,12	0,12	0,11	0,12	0,12	0,14	0,12	0,12	0,12	0,11	0,04												
16. LV/ILF68/12-SC-Brazil-1b	1,39	1,50	1,51	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,16	0,13	0,13	0,13	0,12	0,11	0,09											
17. SV81712-15.5-RS-Brazil-1b	1,61	1,76	1,77	0,12	0,12	0,13	0,13	0,13	0,15	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,09	0,03										
18. SC-Feto-4	N/C	N/C	N/C	0,31	0,31	0,29	0,30	0,30	0,35	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,35	0,32	0,33	0,34								
19. Soldan-2b	2,79	3,53	3,22	0,31	0,31	0,29	0,30	0,30	0,35	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,34	0,30	0,29	0,29	0,05							
20. Giessen_6-2b	1,93	1,97	2,05	0,31	0,31	0,31	0,32	0,31	0,32	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,28	0,24	0,24	0,07	0,06						
21. VS-260-SC-Brazil-2b	2,12	2,19	2,30	0,33	0,33	0,33	0,34	0,34	0,35	0,33	0,33	0,33	0,33	0,34	0,30	0,26	0,25	0,06	0,06	0,02						
22. LV/G11/17-RS-Brazil-2b	2,97	3,19	3,53	0,34	0,34	0,32	0,33	0,33	0,35	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,37	0,32	0,29	0,29	0,07	0,05	0,06	0,06				
23. LV/C06/18-RS-Brazil-2b	2,50	2,61	2,78	0,32	0,32	0,30	0,31	0,31	0,33	0,32	0,32	0,32	0,32	0,35	0,31	0,28	0,28	0,05	0,05	0,05	0,06	0,04				
24. LV/A01/18-RS-Brazil-2b	2,39	2,49	2,63	0,31	0,31	0,29	0,30	0,30	0,35	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,33	0,30	0,27	0,26	0,04	0,05	0,04	0,04	0,05	0,04		
25. LV/587/17-RS-Brazil-2b	2,11	2,36	2,28	0,31	0,31	0,29	0,30	0,30	0,35	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,35	0,31	0,28	0,26	0,05	0,06	0,05	0,05	0,06	0,06	0,03	
26. 4511UYCNIA/2017-Uruguay-2b	2,10	2,17	2,28	0,33	0,33	0,33	0,34	0,34	0,35	0,33	0,33	0,33	0,33	0,34	0,30	0,26	0,24	0,06	0,07	0,03	0,03	0,06	0,06	0,04	0,03	
27. LV/CER189/14-HoBi-BVDV-3	1,87	1,95	1,98	0,34	0,34	0,34	0,35	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,34	0,40	0,34	0,34	0,32	0,29	0,27	0,27	0,27	0,26	0,30	0,28	0,27	0,25

Fonte: elaborado pelo autor, 2022.