

**INSTITUTO BIOLÓGICO**

**PÓS-GRADUAÇÃO**

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO  
VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA NO ESTADO DE SÃO  
PAULO, BRASIL.**

LETICIA CARRÃO SILVA

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade Animal, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Orientadora: Profa. Dra. Edviges Maristela Pituco

**São Paulo**

**2014**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

**Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo**

**Núcleo de Informação e Documentação – IB**

---

Silva, Leticia Carrão.

Prevalência e fatores de risco associados ao vírus da diarreia viral bovina no Estado de São Paulo, Brasil./Leticia Carrão Silva. -- São Paulo, 2014.  
67 p.

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.  
Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.  
Linha de pesquisa: Gestão Sanitária e Ambiental na Produção Animal.

Orientador: Edviges Maristela Pituco.

Versão do título para o inglês: Prevalence and risk factors associated with diarrhoea bovine virus in the state of São Paulo, Brazil.

1. Bovino 2. BVDV 3. Sorologia 4. Virusneutralização 5. Epidemiologia  
I. Silva, Leticia Carrão II. Pituco, Edviges Maristela III. Instituto Biológico (São Paulo). IV. Título

*IB/Bibl./2014/004*

---

**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO**

AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS

INSTITUTO BIOLÓGICO



Pós-Graduação

Av. Cons. Rodrigues Alves 1252

CEP 04014-002 - São Paulo – SP

[secretariagg@biologico.sp.gov.br](mailto:secretariagg@biologico.sp.gov.br)



## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

**Leticia Carrão Silva**

**Título: PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO VÍRUS DA DIARRÉIA BOVINA NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.**

**Orientadora: Profa. Dra. Edviges Maristela Pituco**

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade Animal, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio  
Orientadora: Profa. Dra. Edviges Maristela Pituco

Aprovada em:

Banca Examinadora

Assinatura:

Profª Drª: Edviges Maristela Pituco

Instituição: Instituto Biológico

Assinatura:

Prof. Dr.: Silvio Arruda Vasconcellos

Instituição: Universidade de São Paulo

Assinatura:

Profª Drª: Cláudia Del Fava

Instituição: Instituto Biológico - São Paulo

**Dedico este trabalho à minha mãe, Maria Estela,  
pela compreensão e apoio, estando sempre  
ao meu lado nos momentos em que mais  
precisei.**

## AGRADECIMENTOS

À Deus por estar presente nos momentos mais especiais da minha vida!

Aos meus familiares e amigos, pelo carinho e apoio ao longo desses dois anos.

À minha orientadora, E. Maristela Pituco, que estimo e admiro, pelos ensinamentos e pelas palavras de sabedoria, seja de vida como profissional.

À toda a equipe do LVB, começando pelas pesquisadoras Liria Okuda, Eliana De Stefano, Adriana Nogueira e Claudia Ribeiro pela colaboração neste trabalho e pelos ensinamentos que sempre tem a passar. Aos colegas e estagiários: Michele, Thaís, Maira, Simone, Vivian, Márcia, Randy, Ana Luiza, Camila, Elisângela, Michelle, Israel, pela companhia e convivência diária e porque estiveram envolvidos no desenvolvimento deste trabalho. Aos funcionários do LVB: Marta, Raquel, Teresa, Ivani ("Baiana"), Alisete, Taís e Aída pelo convívio e por sempre estarem dispostas a colaborar para o andamento das atividades do laboratório.

À pós graduação pela colaboração durante essa trajetória. Aos docentes do curso de pós graduação (PG) do Instituto Biológico-SP, em especial ao Prof. Luchini pelo incentivo e por sempre me receber tão bem.

Ao Médico Veterinário Heinz Otto Hellwig, Coordenador da CDA, órgão da Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, responsável pelo planejamento e execução das atividades de campo e por autorizar a utilização desse valioso banco de soros.

À todos os veterinários dos Escritórios de Defesa Agropecuária (EDAs) EDAs/CDA, responsáveis pela colheita de soro e também pela aplicação do questionário epidemiológico nas propriedades amostradas.

À Cláudia Del Fava, primeiramente pela dedicação e brilhante preparo das aulas durante o curso da PG e, posteriormente, pela ajuda e disposição durante a correção e argumentação deste trabalho.

Ao professor Silvio A. Vasconcellos pela disposição e auxílio durante a correção deste trabalho.

Ao professor Vitor S. P. Gonçalves e à sua orientada Ana Lourdes pela recepção e ajuda durante a compilação do banco de dados e análise estatística deste trabalho.

À Eder Pinatti, pesquisador do Instituto de Economia Agrícola (IEA), por ter sido sempre solícito e gentil perante as informações solicitadas.

Ao Professor Giovanni Savini do Instituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G. Caporale de Teramo - Itália, pela elaboração do mapa de distribuição espacial da infecção.

À Roberto, bibliotecário do Instituto Biológico, por estar sempre disposto a ajudar.

À todos os funcionários do IB, seja pelo simples "bom dia" como pela disposição em colaborar.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

**“O futuro pertence àqueles que  
acreditam na beleza de seus  
sonhos”**

**Eleonor Roosevelt**

## RESUMO

SILVA, L. C. - PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS AO VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL. São Paulo. 2014. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é um dos principais patógenos que afetam a produtividade de rebanhos bovídeos em todo o mundo. Realizou-se um estudo para caracterizar a situação epidemiológica da diarreia viral bovina no Estado de São Paulo. Foram examinadas amostras séricas de 12.854 fêmeas bovinas, acima de 24 meses, distribuídas em 1.732 propriedades localizadas em sete circuitos produtores do Estado. A virusneutralização foi o teste empregado para a detecção de anticorpos contra o BVDV. Somente fêmeas acima de 24 meses de idade e não vacinadas para o BVDV foram testadas. Os resultados obtidos revelaram, que no Estado São Paulo a prevalência para o BVDV foi de 47.08% (43.46-50.70 - IC 95%) de fêmeas sororreagentes e 78.21% (76.23-80.19 - IC 95%) das propriedades com pelo menos um animal soropositivo para o BVDV. Com um modelo de regressão logística multivariada ( $p \leq 0,05$ ) os fatores de risco identificados para a infecção pelo BVDV no Estado de São Paulo foram: a-) aquisição de animais, b-) aluguel de pastagens, c-) rebanhos com mais de onze animais e d-) circuito produtor do Estado.

Palavras-chave: bovino, BVDV, sorologia, virusneutralização, epidemiologia.

## ABSTRACT

SILVA, L. C. PREVALENCE AND RISK FATORS ASSOCIETED WITH DIARRHOA BOVINE VIRUS IN THE STATE OF SAO PAULO, BRAZIL. São Paulo. 2014. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

Bovine viral diarrhea virus (BVDV) is one of the most important viruses responsible for production losses in cattle and is endemic in Brazil. This study aimed at estimating the seroprevalence and the risk factors for BVDV in the state of Sao Paulo, Brazil, with a view to provide a knowledge base for the state veterinary services' planning. A total of 12.854 serum samples from 1.732 farms were tested against BVDV antibodies using the virusneutralization method. Only females older than 24 months and unvaccinated for BVDV were tested. Results showed that BVDV is highly prevalent, as elsewhere in the country: 47.08% (43.46-50.70 -IC 95%) of the cows were seropositive, whereas herd-prevalence was 78.21% (76.23-80.19-IC 95%) of the properties. The risk factors ( $p \leq 0,05$ ) identified through a logistic regression multivariable model were: a-) purchase of breeding stock, b-)renting of pastures, C-) herd sizes of 11 or more animals and d-) region within the state.

Keywords: cattle, BVDV, serology, virusneutralization, epidemiology

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Inquéritos sorológicos para o vírus da BVDV em rebanhos de bovinos de diversos estados brasileiros efetuados no período de 2003 a 2011 segundo o autor, estado, tipo de amostragem, método imunodiagnóstico utilizado e o resultado obtido. ....	22
Quadro 2. Dados censitários da população bovina por circuito produtor do Estado de São Paulo 2010-2011 e as respectivas amostras examinadas para o BVDV (São Paulo, 2014).....	32
Quadro 3. Distribuição dos títulos de anticorpos para BVDV-1 e BVDV-2 nos circuitos produtores 1 e 2 do Estado de São Paulo, 2011 (São Paulo, 2014).....	46

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Genoma do BVDV e a origem do biótipo não citopatogênico.....	18
Figura 2. Perdas reprodutivas relacionadas à infecção pelo BVDV de fêmeas prenhes não imunes. ....	20
Figura 3. Divisão do Estado de São Paulo em relação à área de atuação de seus Escritórios de Desenvolvimento Agropecuário (EDA). ....	30
Figura 4. Mapa do estado de São Paulo e a divisão em seus circuitos produtores. No detalhe, a localização do Estado de São Paulo no Brasil. ....	30
Figura 5. Ilustração de uma placa de triagem de soros da virusneutralização.....	37
Figura 6. Ilustração de uma placa de titulação da virusneutralização.....	38
Figura 7. Distribuição espacial das propriedades com bovinos reagentes (em vermelho) e não reagentes (em verde) para BVDV no estado de São Paulo em 2011. Em detalhe, a localização do Estado de São Paulo na América do Sul (São Paulo, 2014).....	42
Figura 8. Distribuição da bovinocultura de corte segundo o número de cabeças no rebanho no Estado de São Paulo nos anos de 2007-2008.....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de bezerros que apresentaram sinais clínicos sobre o total de expostos ao Hobi-like virus e às espécies de alta e baixa virulência do BVDV.....	19
Tabela 2. Prevalência aparente de bovinos reagentes para o BVDV por circuito produtor no Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).....	40
Tabela 3. Prevalência aparente de propriedades sororreagentes para o BVDV por circuito produtor do Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).....	41
Tabela 4. Prevalência intra-rebanho para o BVDV por circuito produtor do Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).....	42
Tabela 5. Frequência de fêmeas bovinas reagentes ao BVDV por faixa etária no Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014). ....	43
Tabela 6. Tamanho do rebanho bovino nas propriedades examinadas no Estado de São Paulo, com base em percentis, no ano de 2011 (São Paulo, 2014). ....	44
Tabela 7. Sororreatividade ao BVDV por tamanho do rebanho bovino no Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).....	45
Tabela 8. Análise univariada (qui-quadrado) dos rebanhos de bovinos reagentes e não reagentes para o BVDV, no Estado de São Paulo, no ano de 2011, considerando as variáveis não estatisticamente significativas ( $p>0,05$ ) (São Paulo, 2014).....	47
Tabela 9. Análise univariada (qui-quadrado) dos rebanhos de bovinos reagentes e não reagentes para o BVDV, no estado de São Paulo em 2011, considerando as variáveis estatisticamente significativas ( $p\leq 0,05$ ) (São Paulo, 2014).....	48
Tabela 10. Modelo final da regressão logística multivariada de fatores de risco ( <i>odds ratio</i> ) para a BVD em bovinos do Estado de São Paulo, no ano de 2010 (São Paulo, 2014).....	50

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. Frequência de fêmeas bovinas reagentes (%) para o BVDV por idade (anos). ... 44
- Gráfico 2. Titulação das amostras de soro de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses frente ao BVDV-1 e BVDV-2 nos circuitos produtores 1 e 2 do Estado de São Paulo, no ano de 2010-2011 (São Paulo, 2014). ..... 46

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% = por cento

et al. = e colaboradores

EDA = Escritório de Defesa Agropecuária

BVDV = Vírus da Diarréia Viral Bovina

BVD = Diarréia Viral Bovina

IC = Intervalo de Confiança

LVB = Laboratório de Vírus de Bovídeos

m = metro

mM = Milimolar

MAPA = Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Min. = minuto de hora

mL = mililitro

RNA = Ácido Ribonucléico

OIE = Organização Mundial de Saúde Animal

CDA = Coordenadoria de Defesa Agropecuária

°C = Grau Celsius

CP = citopático

NCP = não citopático

ELISA = Ensaio Imunoenzimático

UnB = Universidade de Brasília - DF

SFB = Soro Fetal Bovino

USP = Universidade de São Paulo

g = grama

h = hora

ha = alqueire

IBGE = Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IB = Instituto Biológico

IEA = Instituto de Economia Agrícola

LVB = Laboratório de Vírus de Bovídeos

MAPA = Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MDBK = “Madin-Darby Bovine Kidney”

® = Marca Registrada

MEM = Meio Essencial Mínimo de Eagle

mL = mililitro

µL = microlitro

RT-PCR = Reação em cadeia pela polimerase combinada à transcrição reversa

s = segundos

R\$ = reais (valor monetário)

USDA = Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

US\$ = Dólar (moeda americana)

VN = virusneutralização

VPA = Valor da Produção Agrícola

x g = Força Centrífuga

DICT<sub>50</sub>/mL = Dose infectante a 50% da cultura de tecidos

PI = Persistentemente infectado

2-ME = 2-Mercapto-Etanol

ATT = Antígeno Acidificado Tamponado

IPX = Imunoperoxidase

STATA = “Stata Statistical Software”

IHQ = Imunohistoquímica

IFD = Imunofluorescência direta

BoHV-1 = Herpesvírus bovino tipo 1

PI-3 = Parainfluenza bovina tipo 3

BRSV = Vírus respiratório sincicial bovino

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 O VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA.....	17
2.2 ETIOLOGIA .....	17
2.3 PATOGENIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	18
2.4 EPIDEMIOLOGIA .....	21
2.5 DIAGNÓSTICO .....	24
2.6 TRATAMENTO.....	25
2.7 PREVENÇÃO E CONTROLE .....	26
3. OBJETIVOS .....	28
3.1 OBJETIVO GERAL.....	28
3.1.2 Objetivos específicos.....	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	29
4.1 AMOSTRAGEM E ANÁLISE DE DADOS .....	29
4.2 SORODIAGNÓSTICO .....	34
4.2.1 Cultivo celular .....	34
4.2.2 Replicação da estirpe viral.....	35
4.2.4 Teste de Virusneutralização (VN) .....	36
4.2.4 Validação do teste .....	39
5. RESULTADOS .....	40
5.1 PREVALÊNCIA DE ANIMAIS .....	40
5.2 PREVALÊNCIA DE REBANHOS.....	40
5.4 PREVALÊNCIA INTRA-REBANHO .....	42
5.5 SORORREATIVIDADE POR FAIXA ETÁRIA .....	43
5.6 TAMANHO DO REBANHO E SORORREATIVIDADE .....	44
5.7 TITULAÇÃO DE ANTICORPOS .....	45
5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA UNIVARIADA .....	47
5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA .....	49
6. DISCUSSÃO .....	51
7. CONCLUSÃO.....	59
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui 211,28 milhões de cabeças de bovinos, sendo o maior rebanho comercial e o segundo maior efetivo mundial, ficando atrás somente da Índia, cuja criação de bovinos embora tenha sua significativa importância, não se dá de forma comercial como ocorre no Brasil (IBGE, 2012).

Nos últimos vinte anos, a produção brasileira de carne bovina cresceu 62% chegando a 9,3 milhões de toneladas em 2012 quando ocupou o segundo lugar entre os países produtores, perdendo apenas dos EUA, com 12,04 milhões de toneladas. Isto representa mais de 15% do total produzido no mundo (LIVESTOCK, 2013). No quesito produção de leite, o Brasil ocupa a sexta posição, ficando atrás da União Européia, Índia, Estados Unidos, China e Rússia (DAIRY, 2013).

No Estado de São Paulo a pecuária vem cedendo espaço para a cultura de cana de açúcar. No entanto, o Estado é responsável por 30% das exportações de carne bovina e seus derivados (ABRAFRIGO, 2013), fazendo desse o segundo produto em Valor de Produção Agropecuária (VPA) para o Estado ao contabilizar 6,31 bilhões (10,9%) dos R\$ 57,6 bilhões totalizados pela agropecuária paulista (IEA, 2013).

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) é um dos principais patógenos que afetam a produtividade de rebanhos bovídeos em todo o mundo. Ao restringir a qualidade e a quantidade da oferta de proteína animal, essa enfermidade acarreta sérios prejuízos sócio-econômicos à pecuária dos países onde é registrada. Apesar de, na atualidade, muitos países europeus já terem erradicado ou estarem em fase de erradicação da doença, no Brasil ainda faltam muitas informações sobre a sua epidemiologia e até o presente nenhuma forma de combate foi oficialmente dirigida para o seu controle. Portanto, a diarreia viral bovina (BVD) é praticamente desconhecida pela maioria dos criadores de bovinos do país.

O conhecimento da prevalência da infecção pelo BVDV e dos fatores de risco a ela associados é o ponto de partida para o estabelecimento de prioridades e delineamento de estratégias racionais dirigidas para seu combate. As projeções realizadas por diversas instituições de pesquisa revelam que, para os próximos anos, espera-se que o crescimento da população mundial e de sua respectiva renda aumentarão, consideravelmente, a demanda por alimentos. Portanto, se não forem implantados procedimentos técnicos e efetuados os investimentos necessários para incrementar e qualificar a produção e oferta de

produtos de origem animal como a carne bovina, isso poderá resultar na perda de competitividade internacional e a estagnação do agronegócio brasileiro (BRASIL, 2009).

Ante a pouca abrangência de informações e a necessidade de futuras investigações para a avaliação da extensão das perdas econômicas e sociais que a infecção pelo vírus da BVD ocasiona, o presente trabalho foi delineado para estimar a prevalência de fêmeas bovinas portadoras de anticorpos contra o BVDV e os fatores de risco associados a sua ocorrência em rebanhos do Estado de São Paulo.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

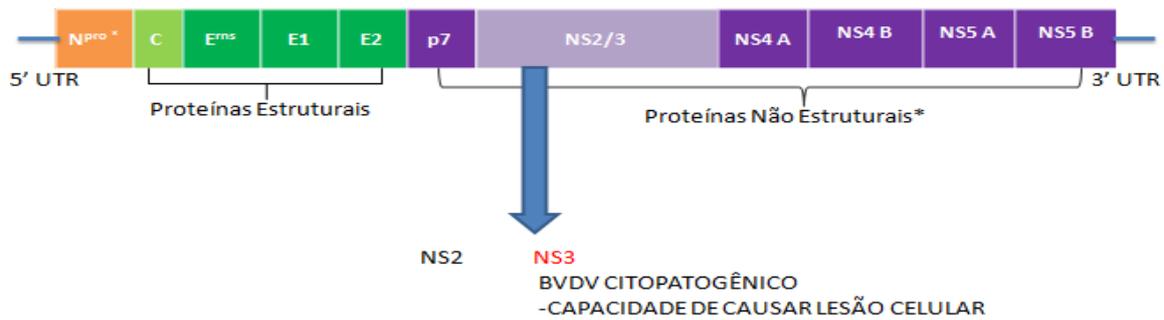
### 2.1 O VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA

### 2.2 ETIOLOGIA

O BVDV pertence à família *Flaviviridae* e ao gênero *Pestivirus*, juntamente com os vírus da peste suína clássica (CFSV) e da doença da fronteira de ovinos (BVD) (FLORES, 2007). São reconhecidas duas espécies de BVDV: tipo 1 e tipo 2, com diferenças genéticas e antígenicamente bem estabelecidas entre elas e suas subespécies (RIDPATH, 2010). Contudo, novas análises filogenéticas do genoma viral de BVDV indicam uma nova espécie provisoriamente chamada de "Hobi-like" Vírus ou "BVDV tipo 3" (BAUERMAN et al., 2012).

O efeito observado pelo BVDV em cultivo celular permite a sua classificação em dois biótipos, independentemente da espécie envolvida: a) causador da lise e vacuolização das células (citopáticos - CP) ou, b) a integridade celular é mantida (não citopáticos - NCP). A maioria das infecções naturais é causada pelo BVDV não citopático (RADOSTITS et al., 2002).

Os pestivírus tem como material genético uma fita única de RNA (Figura 1), que está constantemente sofrendo mutações e recombinações genéticas, provável mecanismo que originou o "Hobi-like" Vírus (BAUERMAN et al., 2013). A origem do vírus CP da BVD também pode ser explicada por alterações na região do gene NS2-3 (proteína não estrutural) que deram origem a uma nova proteína (NS3) encontrada apenas nesse biótipo (RIDPATH, 2010).



**Figura 1.** Genoma do BVDV e a origem do biótipo não citopatogênico

**Fonte:** RIDPATH, 2010.

Por ser um vírus envelopado, o BVDV é rapidamente inativado por solventes orgânicos (éter e clorofórmio), detergentes e desinfetantes comuns, como fenóis e clorexidine (GROOMS et al., 2006).

### 2.3 PATOGENIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A transmissão do BVDV ocorre principalmente pelo contato direto focinho-focinho entre animais infectados e animais não imunes ao BVDV. Porém, outras formas de contato direto (coito) e indireto (transplacentária, inseminação artificial, transferência de embrião, insetos hematófagos, fômites ou materiais contaminados) também podem estar envolvidas na transmissão viral. Em animais virêmicos, transitórios ou persistentes, o vírus da BVD pode ser eliminado no sangue, saliva, corrimento nasal, lágrimas, urina, fezes e sêmen (RADOSTITIS, 2002). Após contato com o vírus, o animal permanece sororreagente (SALIKI & DUBOVI, 2004).

A maioria das infecções pelo BVDV em animais imunocompetentes são subclínicas (FLORES et al., 2005). Quando foi descrita pela primeira vez em 1946 por OLAFSON et al., a BVD caracterizava-se como uma enfermidade aguda, acompanhada de leucopenia, febre alta, depressão, diarreia, anorexia, erosões no trato gastrointestinal e hemorragias. Posteriormente, outras formas foram observadas com variações quanto aos índices de mortalidade e morbidade, que passaram a ser denominadas de doença das mucosas (DM) e de síndrome hemorrágica (RIDPATH, 2010). A DM é uma doença rara e letal, que acomete apenas animais persistentemente infectados (PI) infectados pelo biótipo CP do BVDV. Já a síndrome hemorrágica foi observada em surtos na América Norte no final do anos 80 e início dos anos 90, acometendo animais de diferentes faixas etárias que apresentaram febre, diarreia sanguinolenta, hemorragias e tempo de coagulação retardado (FLORES, 2007).

Devido a seu efeito imunossupressor, a infecção aguda pelo BVDV pode predispor o animal a infecções secundárias, potencializando casos de enfermidade respiratória por outros agentes virais (herpesvírus bovino tipo 1, vírus respiratório sincicial bovino) e bacterianos (*Pasteurella haemolytica*) (RADOSTITIS, 2002; FLORES, 2007).

RIDPATH et al. (2013) compararam a sintomatologia clínica da infecção aguda e experimental de bezerros com o “Hobi-like” Vírus e BVDV de baixa (BV) e alta (AV) virulência (2013) (Tabela 1). Em todos os três grupos foi observada leucopenia. Somente os animais infectados com a espécie de AV do BVDV apresentaram trombocitopenia. Hipertermia foi observada em todos os animais infectados pelo BVDV de BV e AV e, em apenas três dos seis animais expostos ao “Hobi-like” vírus. Em relação à sua duração, foi detectada em apenas um dia (Hobi-like vírus), de um a treze dias (BVDV de BV) e de sete a treze dias (BVDV de AV). Somente os bezerros infectados com BVDV de BV e AV apresentaram quadros de diarreia.

**Tabela 1.** Número de bezerros que apresentaram sinais clínicos sobre o total de expostos ao Hobi-like virus e às espécies de alta e baixa virulência do BVDV.

	Leucopenia	Trombocitopenia	Normotermia	Hipertermia			Diarreia
				39.4°– 40.0° C	40.0°– 41.1° C	> 41.1° C	
“Hobi-like” virus	Sim	Não	3/6	2/6	0/6	0/6	0/6
BVDV BV	Sim	Não	0/6	2/6	4/6	0/6	2/6
BVDV AV	Sim*	Sim	0/6	0/6	4/6	2/6	6/6

Valores reportados: nº de bezerros afetados/nº de expostos. A hipertermia foi definida como um aumento da temperatura retal >0,6°C em relação à temperatura média observada nos animais entre os dois dias antes (-2) e o dia da infecção (dia 0). \*O grupo infectado com BVDV de AV apresentou maior redução no número de leucócitos sanguíneos.

Fonte: RIDPATH et al., (2013).

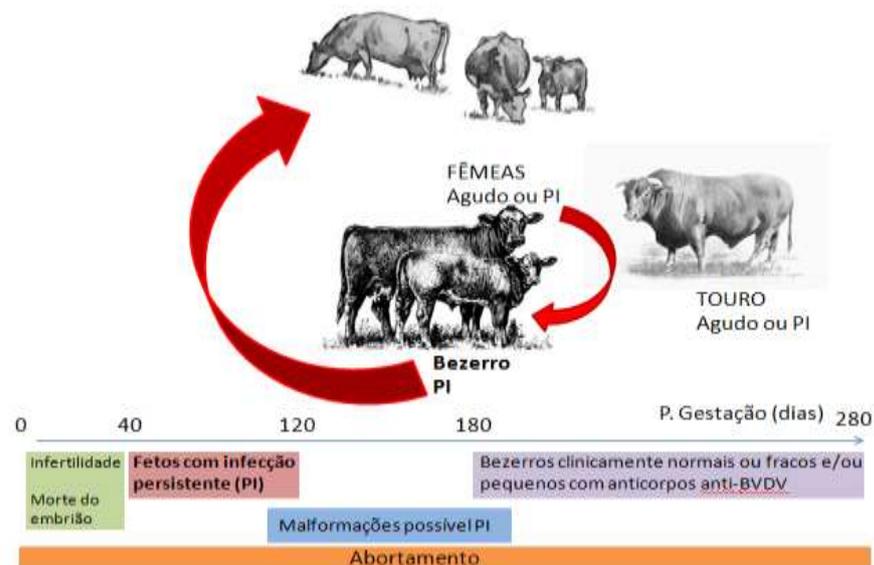
Ainda segundo o mesmo estudo, dependendo da espécie viral envolvida o período de viremia iniciou-se no 3° ou 4° dia e persistiu até o 9° dia (“Hobi-like” Vírus), 10° dia (BVDV de BV) e 14° dia (BVDV de AV) pós-infecção.

Em coelhos experimentalmente infectados pelo BVDV por diferentes vias foram detectados anticorpos por virusneutralização a partir do quinto (intravenosa), oitavo (oro-nasal) e 14° dia (digestória- feno contaminado) pós-infecção. Nenhum animal apresentou sinais clínicos de infecção pelo BVDV. Entretanto, após a necropsia desses animais foi observada alterações histológicas típicas de infecções transitórias por BVDV, caracterizadas

como leve a severa depleção linfóide em órgãos intestinais associados a tecido linfóide (BACHOFEN et al., 2014).

Decorrido um período de viremia transitório pelo BVDV, alguns bovinos passam a albergar o vírus em determinados locais onde permanecem protegidos do sistema imune (sistema nervoso central, células do sistema imune, folículos ovarianos, túbulos seminíferos do testículo) (GIVENS; MARLEY, 2013). VOGES et al. (1998) descreveram pela primeira vez um animal jovem, provavelmente infectado pelo BVDV durante a sua puberdade, com anticorpos detectáveis e a presença do vírus limitada aos seus testículos. Neste caso, a eliminação viral via sêmen foi observada por pelo menos 11 meses.

Dependendo do período de gestação, do estado imune e da espécie viral envolvida, a infecção de fêmeas bovinas prenhes pelo BVDV, seguida de transmissão transplacentária ao feto ou embrião, ocasiona perdas reprodutivas graves (Figura 2): repetições de cio (efeitos na fertilização, implantação ou morte do embrião), abortamentos, má formações congênitas, nascimento de bezerros normais, fracos ou pequenos sororreagentes, bem como bezerros PI (FLORES, 2007).



**Figura 2.** Perdas reprodutivas relacionadas à infecção pelo BVDV de fêmeas prenhas não imunes.

**Fonte:** FLORES, 2007.

Os fetos bovinos ao se infectarem antes do desenvolvimento completo de seu sistema imune (40 a 120 dias de gestação) não são capazes de produzir anticorpos contra o BVDV, tornando-se imunotolerantes e PI, o que lhes confere a capacidade de eliminar o BVDV por toda a sua vida (GROOMS, 2004, RIDPATH, 2010). Os animais PI podem apresentar crescimento retardado, má formações congênitas ou ser aparentemente

saudáveis. A maioria morre nos primeiros meses de vida, no entanto, podem sobreviver até dois anos ou mais, sendo principal fonte de infecção nos rebanhos e alvo dos programas de controle e erradicação do BVDV (HOUE, 1999; HOUE et al., 1995). Se sobreviverem até a idade adulta podem se tornar reprodutores e transmitir o vírus para sua progênie (fêmeas) ou pelo sêmen (machos), tornando a doença cíclica no rebanho (FLORES, 2007).

A ocorrência de má formações congênitas é um achado comum em rebanhos em consequência da infecção fetal pelo BVDV entre os 100 e 150 dias de gestação. Os principais achados são: hipoplasia cerebelar, microcefalia, hidrocefalia, mielinização deficiente da medula espinhal, atrofia ou aplasia de retina, catarata, microftalmia, aplasia tímica, braquignatismo e artropogripose. Abortamentos em qualquer fase da gestação podem ser atribuídos ao BVDV. Fetos infectados no terço final da gestação frequentemente nascem normais, livres de vírus e sororreagentes (FLORES, 2007).

## **2.4 EPIDEMIOLOGIA**

O BVDV possui distribuição mundial e a sua presença no território brasileiro é conhecida desde a década de 60 (FLORES et al., 2005), circulando de forma endêmica que sua ocorrência varia de 18% à quase 100% entre a população bovina e está presente em pelo menos 26% dos rebanhos brasileiros (Quadro 1).

**Quadro 1.** Inquéritos sorológicos para o vírus da BVDV em rebanhos de bovinos de diversos estados brasileiros efetuados no período de 2003 a 2011 segundo o autor, estado, tipo de amostragem, método imunodiagnóstico utilizado e o resultado obtido.

<b>Autor</b>	<b>Estado</b>	<b>Amostragem</b>	<b>Imunodiagnóstico</b>	<b>% Animais Reagentes</b> (Reagentes/ Total examinado)	<b>% Rebanhos Reagentes</b> (Reagentes/Total examinado)
NORONHA; CAMPOS;SAR DI (2003)	BA	Delineamento estatístico	Virusneutralização	56% (123/ 220)	100% (8/8)
THOMPSON et al. (2006)	PB	Delineamento estatístico	Virusneutralização	22,2% (520/2.343)	88,9% (64/72)
SOUSA et al. (2009)	MA	Delineamento estatístico	Elisa indireto	67,30% (105/156)	100% (16/16)
CHAVES et al. (2012)		Delineamento estatístico	Elisa indireto	65,66% (604/920)	94,57% (84/92)
RIBEIRO (2009)	MS	Conveniência	Virusneutralização	99,60% (497 /499)	-
BRITO et al. (2010)	GO	Delineamento estatístico	Virusneutralização	64% (784 /3.533)	88,3% (784/888)
SAMARA et al. (2004)	MG	Conveniência	Elisa indireto	57,56% (141 /245)	100% (5/5)
RIBEIRO (2009)		Conveniência	Virusneutralização	71,87% (373/ 519)	-
SAMARA et al. (2004)	SP	Conveniência	Elisa indireto	56,49% (74/131)	100% (5/5)
RIBEIRO (2009)		Conveniência	Virusneutralização	47,51% (229/482)	-
POLETTO et al. (2004)	RS	Delineamento estatístico	Virusneutralização	29,41% (60/204)	67,85% (19/28)
QUINCOZES et al. (2007)		Delineamento estatístico	Virusneutralização	66,32% (1.150/ 1.734)	82.35% (70/85)
STURZA et al. (2011)		Delineamento estatístico	Virusneutralização	18,12% (139/767)	-
ALMEIDA et al. (2013)		Delineamento estatístico	Elisa indireto	-	43% (129/300)

Na Argentina, Uruguai, Venezuela, Colômbia, Peru, Chile, Equador e México, as prevalências de infecção por BVDV em bovinos variam de 6,3% a 74% entre os indivíduos e de 16 a 100% de rebanhos (CARBONERO et al., 2011; GUARINO et al., 2008; OBANDO et

al., 1999; ORJUELA et al., 1991; STAHL et al., 2008; MELÉNDEZ & DONOVAN, 2003; SAA et al., 2012; SOLIS-CALDERON; SEGURA-CORREA; SEGURA-CORREA, 2005).

No Equador, a altitude e a área ocupada pelas propriedades, quando associadas a alguma forma de contato entre rebanhos, foram consideradas potenciais fatores de risco para o BVDV (SAA et al., 2012). O compartilhamento de pasto foi observado com maior frequência em propriedades situadas em elevadas altitudes (maior ou igual a 2.338 m do nível do mar) quando comparada a propriedades localizadas em altitudes baixas. Já áreas densamente povoadas (>70%), tiveram mais chance de contato entre rebanhos vizinhos, que uma vez infectados, podem ter atuado como a fonte de transmissão do BVDV a rebanhos suscetíveis.

ORJUELA et al. (1991), na Costa Norte da Colômbia, detectaram anticorpos contra o BVDV em apenas 6,3% (174/2.760) dos animais examinados. No entanto, 48% (49/102) dos rebanhos foram reagentes. Isto indica que o vírus esteve presente na região estudada, mas as condições locais não favoreceram a sua transmissão entre os animais.

As diferenças no tipo de exploração (corte, leite ou mista) e criação (extensiva ou semi-extensiva) podem explicar as variações nas frequências encontradas nos diversos inquéritos epidemiológicos da BVD efetuados no Brasil e no exterior, contudo, as maiores prevalências têm sido encontradas nas propriedades mais simples e menos tecnificadas que aparentemente tomariam poucos cuidados, com a introdução e manejo de animais infectados no rebanho (SOUSA et al., 2009; SAMARA et al., 2004). Outro aspecto a ser considerado são diferenças climáticas e ambientais entre os locais, que poderiam ainda contribuir para essa diversidade (SAA et al. 2012).

O “HoBi-like” vírus foi identificado pela primeira vez na Europa em 2004 a partir de um soro fetal bovino importado do Brasil (BAUERMANN et al., 2013). Contudo sua circulação entre rebanhos ainda é pouco conhecida (RIDPATH et al., 2013; DECARO et al., 2013), o que preocupa a comunidade científica de muitos países quanto a emergência de uma nova infecção. A baixa reatividade cruzada entre os vírus da BVD e o Hobi-like vírus pode interferir não só na acurácia de testes diagnósticos como também na eficácia de vacinas que estão voltados para o BVDV (BAUERMANN; FLORES; RIDPATH, 2012; RIDPATH et al., 2013).

Apesar dos bovinos serem os hospedeiros naturais do BVDV, a infecção já foi diagnosticada em outras espécies biunguladas como lhamas, alpacas, camelos, ovelhas e suínos nos quais foram registrados casos sintomáticos e não sintomáticos (EVERMANN, 2006; JULIÁ et al., 2009; DENG et al., 2012). No entanto, a capacidade de transmissão do vírus tanto intra como entre estas espécies ainda é pouco conhecida (FLORES, 2007).

## 2.5 DIAGNÓSTICO

A BVD é uma doença com múltiplas formas de apresentação, que podem variar de infecções subclínicas e inaparentes (mais comuns) à aquelas com sinais clínicos comuns ao causado por outros vírus, bactérias, protozoários, micotoxinas (GROOMS, 2006), e até mesmo por falhas de manejo zootécnico e nutricional. Neste sentido, o diagnóstico definitivo da BVD é realizado por testes laboratoriais aliado a informes de ordem epidemiológica (quando existentes) (SANDVIK, 2004).

O estudo da prevalência do BVDV em rebanhos bovinos não vacinados pode ser realizado com o emprego de métodos indiretos de diagnóstico (sorodiagnóstico). A alta prevalência de anticorpos anti-BVDV evidencia a presença de animais PI no rebanho.

A utilização de métodos diretos tanto genotípicos (moleculares) quanto fenotípicos (morfologia do vírus, estrutura antigênica-identificação sorológica) é o segundo passo para a identificação de animais PI (DUBOVI, 2013). O PI é persistentemente virêmico e geralmente, não apresenta anticorpos contra o vírus (não reagente). Contudo, pode passar a produzir anticorpos (reagente) ao se infectar com uma nova espécie de BVDV, para a qual não é imunotolerante (BAKER, 1995).

Devido ao curto período de viremia (duas semanas) recomenda-se que o diagnóstico da forma aguda da BVD seja realizado pela pesquisa de anticorpos em que espera-se que haja a soroconversão em um intervalo mínimo de 21 dias entre as duas colheitas (OIE, 2008).

Dos métodos indiretos, a virusneutralização (VN) é o teste padrão de referência (OIE, 2008). A sensibilidade da VN é significativamente influenciada pela homologia entre a espécie viral predominante a campo e a utilizada pelos laboratórios diagnósticos (SANDVIK, 2004). A vantagem da VN é que pode ser utilizada para o diagnóstico da BVDV em qualquer espécie animal (DUBOVI, 2013). Em laboratório com cultivo celular, a VN é preferível aos “kits” comerciais de ensaio imunoenzimático (ELISA), normalmente caros. No entanto, é uma técnica laboriosa e demorada (DUBOVI, 2013).

O ELISA indireto é uma técnica simples e rápida de diagnóstico, sensível e específica, normalmente utilizada para detecção de anticorpos contra o BVDV em amostras de soro individuais, bem como coletivas obtidas em tanques de leite de expansão (triagem) (DUBOVI, 2013). Contudo a adequação dos métodos de diagnóstico, como o desenvolvimento de novos “kits” comerciais de ELISA, faz-se necessário devido ao

surgimento de novas espécies como o “Hobi-like” Vírus, evitando assim resultados falso-negativos (BAUERMANN; FLORES; RIDPATH, 2012).

Dos métodos diretos, o isolamento viral (IV) em cultivo celular é recomendado pela OIE (2008) devido às vantagens que apresenta. Trata-se de um teste agente independente, que permite a identificação de outros vírus que não o BVDV e que poderiam não fazer parte da suspeita clínica inicial ou ainda, possibilita identificar vírus que não sejam ainda conhecidos na região (DUBOVI, 2013). O material de eleição é o sangue, especialmente a capa leucocitária, muito rica em vírus (FLORES, 2007). Por outro lado, esse é um método demorado (cerca de 30 dias) e como a VN, exige um cultivo celular. Além disso, o vírus deve se manter viável para ser possível o seu isolamento, e devido ao efeito não citopatogênico observado na maioria das espécies de BVDV circulantes, a identificação viral é seguida de outros métodos diretos como, imunoperoxidase (IPX), ELISA, imunofluorescência (IF) e transcrição reversa combinada à reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) (DUBOVI, 2013).

A RT-PCR é uma técnica de diagnóstico rápida, capaz de detectar concentrações mínimas e até mesmo de material genético do vírus não viável. Ela tem sido utilizada para estudar a origem, evolução e epidemiologia do BVDV pelo sequenciamento de seu genoma. Por ser considerada uma técnica sensível, o diagnóstico de animais PI pode ser realizado no exame de “pools” de amostras sanguíneas ou de tanques de leite de expansão, o que contribui para redução do seu custo (PILZ, D.; ALFIERI, F.A.; ALFIERI, A.A, 2005; LANYON et al., 2013; DUBOVI, 2013). No entanto, para a confirmação exige-se a repetição do teste em uma segunda colheita com intervalo mínimo de três semanas.

O ELISA para como método direto que detecta a estrutura antigênica (fenótipo) do vírus pode ser considerado um teste simples e rápido de diagnóstico para a detecção de animais PI. Sua sensibilidade e especificidade variam de 67% a 100% e de 98,8% a 100%, respectivamente, quando comparado ao isolamento viral (LANYON et al., 2013).

Nos Estados Unidos, a imunohistoquímica (IHQ) é um método muito utilizado para detecção de animais PI no exame de biópsias de pele da orelha. Sua sensibilidade diagnóstica chega a 100% quando comparada ao isolamento viral. No entanto, é uma técnica laboriosa e que exige pessoal experiente (LANYON et al., 2013).

## **2.6 TRATAMENTO**

Não há um tratamento específico para a BVD. Em casos de diarreia não severa,

pode-se utilizar antibióticos (infecções secundárias), e o tratamento sintomático com antidiarreicos e hidratação intensa. O prognóstico para os casos graves com diarreia aquosa e profusa e lesões orais acentuadas é mau, e por isso o abate para aproveitamento ou a eutanásia devem ser considerados (RADOSTITS, 2000). Portanto, a melhor forma de se combater a doença é com sua prevenção e controle.

## 2.7 PREVENÇÃO E CONTROLE

A prevalência de animais PI em um rebanho infectado pelo BVDV varia de 0,5 a 2% (RIDPATH, 2010; HOUE, 1999). Contudo o seu papel na manutenção dos focos é fundamental pois eliminam continuamente o vírus em suas secreções e excreções, e se atingirem a idade adulta poderão infectar a sua progênie. Deste modo, particular atenção deverá ser tomada com estes animais quando da realização de programas de combate à doença.

Em países que possuem sistemas de defesa sanitária animal bem estruturados e extensão territorial limitada foi possível a redução da prevalência da infecção pelo BVDV em um período de tempo muito curto (dois anos). Na Suíça, a ajuda de custo do poder público para com os voluntários no controle da doença foi fundamental para que se conseguisse uma significativa redução de animais PI, de 1,8% para menos de 0,2% no rebanho (PRESI et al., 2011). Na Suécia, o tempo consumido para essa redução foi maior pois o combate empregou apenas o monitoramento e não adotou a vacinação (GREISER-WILKE; GRUMMER; MOENNIG, 2003).

O emprego da imunoprofilaxia no combate à BVD com vacina viva atenuada ou inativada deve ser encarado como uma medida complementar e nunca como uma estratégia única. A vacina ideal é aquela que confere a proteção contra todas as estirpes de BVDV, inclusive proteção fetal, para impedir nascimento de PI e assim romper o ciclo da doença (DUBOVI, 1992). No entanto a maioria das vacinas não confere proteção fetal devido às implicações da diversidade genética e baixa imunogenicidade do BVDV (RIDPATH, 2005). No Brasil, a prática da vacinação é voluntária e apenas as vacinas inativadas estão liberadas para uso (FLORES et al., 2005).

Na Dinamarca, foram investidos US\$ 27 milhões ao longo de três anos em programas de combate ao BVDV. O mesmo agente acarretava ao país um prejuízo anual estimado em 20 milhões de dólares (HOUE, 1999). Por isso, desde que não surjam novas reinfecções, a adoção do programa é justificada (HOUE, 1999). Nos últimos anos, o mesmo

país pode ser considerado praticamente livre do BVDV com apenas relato de casos isolados (STÅHL; ALENIUS, 2012).

BRITO et al.(2010) sugerem como estratégias de combate ao BVDV: a remoção gradual de animais PI, a separação de animais infectados de forma transitória do restante do rebanho, a realização de quarentena no ingresso de bovinos na propriedade associados ao monitoramento sorológico anual. A utilização de sêmen livre de BVDV e de vacinas, que poderiam fornecer imunidade aos animais suscetíveis, também deve ser considerada. Em todas essas etapas, o diagnóstico laboratorial pode ser empregado tanto para monitoramento da situação epidemiológica da região (avaliar se a infecção ocorre e em que proporção na fase de implantação do programa de combate à doença) como nas atividades de vigilância pelo Serviço Veterinário para manutenção e consolidação de áreas livres, prevenindo o surgimento de novas infecções (DUBOVI, 2013).

Na Bélgica, apesar de 47,4% (351/770) dos rebanhos apresentarem anticorpos contra o BVDV, e destes, 60% dos animais terem sido expostos ao vírus, apenas 8% dos proprietários quando questionados, relataram algum problema relacionado ao BVDV (SARRAZIN et al., 2013), o que demonstra que muitas vezes a infecção está presente nos rebanhos, porém não é identificada.

As perdas econômicas em um rebanho com surto de BVDV dependem do estado imune inicial, do período de gestação em que as fêmeas são infectadas e da virulência da espécie viral envolvida (HOUE, 1999). A importância econômica e os resultados das estratégias de controle da doença devem ser avaliados em relação ao custo-benefício para a sociedade (HOUE, 1999).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

- Estimar a prevalência de rebanhos e de animais reagentes para o BVDV no Estado de São Paulo, no ano de 2011.

#### **3.1.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar as práticas zootécnicas e sanitárias das propriedades de bovinos do Estado de São Paulo, no ano de 2011;
- Caracterizar os fatores de risco associados às propriedades de bovinos reagentes para BVDV no estado de São Paulo, no ano 2011;
- Caracterizar a distribuição espacial das propriedades amostradas e propriedades reagentes para BVDV no estado de São Paulo, no ano 2011.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 AMOSTRAGEM E ANÁLISE DE DADOS**

O material utilizado foi referente ao utilizado no inquérito epidemiológico para a brucelose bovina no Estado de São Paulo, realizado no período de Novembro de 2010 a Outubro de 2011. O Estudo foi planejado e delineado por epidemiologistas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), da Universidade de São Paulo (USP) e de Brasília (UnB) em colaboração com os Médicos Veterinários da Coordenadoria de Defesa Agropecuária do estado de São Paulo (CDA), serviço veterinário oficial responsável pela defesa sanitária animal no estado de São Paulo.

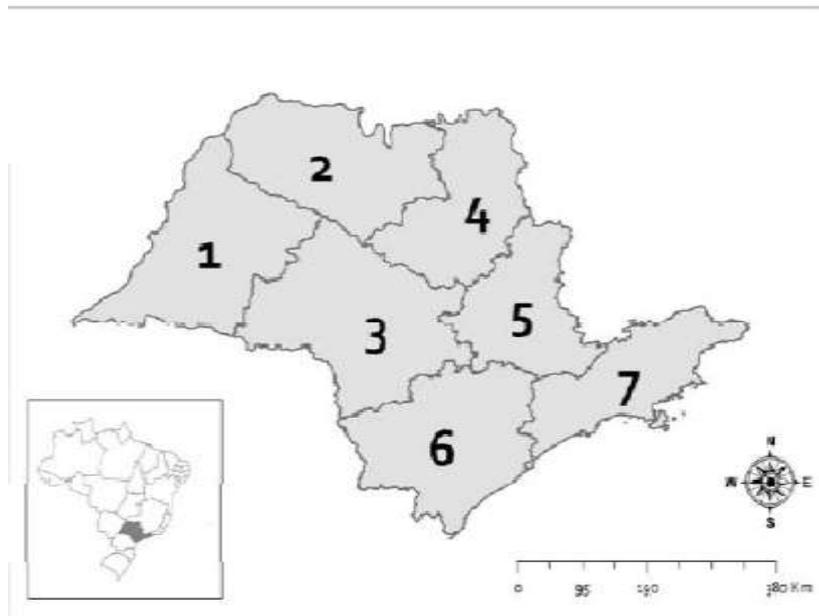
A CDA é um órgão da administração pública direta do Governo do Estado de São Paulo, vinculada à Secretaria da Agricultura e Abastecimento do estado de São Paulo, possui em seu organograma 40 unidades regionais denominados Escritórios de Defesa Agropecuária (EDAs) (Figura 3), que são unidades técnico-administrativas de planejamento, execução e avaliação de atividades de defesa agropecuária. Os veterinários dos EDAs foram responsáveis pela colheita de soro e também pela aplicação do questionário epidemiológico nas propriedades amostradas.

O estado de São Paulo foi dividido em sete circuitos pecuários (Figura 4), de acordo com os sistemas de produção e comercialização, práticas de manejo dos animais, finalidade de exploração e tamanho médio de rebanhos. A divisão do Estado em regiões correspondentes a circuitos produtores também levou em conta a capacidade operacional e logística do serviço veterinário oficial do Estado para a realização das atividades de campo, baseando-se nas áreas de atuação de suas unidades regionais (DIAS et al., 2009) (Figura 3).



**Figura 3.** Divisão do Estado de São Paulo em relação à área de atuação de seus Escritórios de Desenvolvimento Agropecuário (EDA).

**Fonte:** CDA, 2011.



**Figura 4.** Mapa do estado de São Paulo e a divisão em seus circuitos produtores. No detalhe, a localização do Estado de São Paulo no Brasil.

**Fonte:** DIAS et al., 2009.

O delineamento amostral foi realizado em duas etapas. Na primeira foi sorteado, aleatoriamente, um número pré-estabelecido de propriedades com atividade reprodutiva, que são as unidades primárias de amostragem (1.743 propriedades) com base no cadastro

de propriedades rurais com atividade reprodutiva de bovinos. Na segunda, foi sorteado um número preestabelecido de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses, que são as unidades secundárias de amostragem (12.956 animais).

Nas propriedades rurais onde havia mais de um rebanho bovino, foi escolhido o de maior importância econômica, no qual os animais estavam submetidos ao mesmo manejo, ou seja, sob os mesmos fatores de risco. A propriedade sorteada que não pôde ser visitada foi substituída pela próxima da relação do cadastro.

O número de propriedades selecionadas por circuito foi estimado pela fórmula para amostras simples aleatórias (THRUSFIELD, 2007). Os parâmetros adotados para o cálculo foram: nível de confiança de 0,95, prevalência estimada de propriedade e de animais de 10% (no caso, para a brucelose bovina) e erro de 0,05.

Para a estimativa do número mínimo de animais a serem examinados por propriedade foi utilizado o conceito de sensibilidade e especificidade agregadas (DOHOO et al., 2003), que permitiu classificar a propriedade como foco ou não de doença. Para efeito dos cálculos foram adotados os valores de 95% e 99,5%, respectivamente, para a sensibilidade e a especificidade do protocolo de testes utilizados para brucelose bovina (FLETCHER et al., 1998) e 10% para a prevalência intra rebanho estimada (também para a brucelose bovina). Nesse processo foi utilizado o programa Herdacc versão 3, e o tamanho da amostra escolhido foi aquele que permitiu valores de sensibilidade e especificidade de rebanho iguais ou superiores a 90%. Assim, nas propriedades com até dez fêmeas com idade superior a 24 meses, todas foram examinadas, naquelas com até 99 fêmeas foram amostrados dez animais e nas que possuíam 100 ou mais fêmeas, foram amostrados quinze animais. A escolha das fêmeas dentro das propriedades foi casual sistemática.

As amostras de soro juntamente com as fichas de requisição e a planilha com as respostas do questionário foram recebidas no Laboratório de Vírus do Instituto Biológico (LVB) do Instituto Biológico de São Paulo para avaliação da situação epidemiológica do BVDV no estado de São Paulo. Os soros permaneceram estocados em freezer à -20°C até a realização das análises. Após a realização dos exames foi realizada checagem dos dados da planilha original (delineamento), para excluir propriedades e animais que por problemas inerentes a colheita não foram colhidas amostras de sangue. Esta revisão da planilha serviu de base para a eliminação das inconsistências em relação ao delineamento original, bem como para excluir rebanhos vacinados para BVDV e amostras que não foi possível analisar devido contaminações, toxicidade ou insuficientes.

Do total de amostras recebidas no LVB (12.956) foram excluídas 102 por problemas de toxicidade ou insuficientes ou provenientes de animais vacinados para o BVDV. Portanto,

foram examinadas para pesquisa de anticorpos contra o BVDV 12.854 de amostras de soro de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses provenientes de 1.732 propriedades com atividade reprodutiva distribuídas no Estado de São Paulo. O total de propriedades com atividade reprodutiva e de fêmeas bovinas assim como o número de amostras examinadas para o BVDV por circuito produtor do Estado de São Paulo em 2010-2011 encontram-se no Quadro 2.

**Quadro 2.** Dados censitários da população bovina por circuito produtor do Estado de São Paulo 2010-2011 e as respectivas amostras examinadas para o BVDV (São Paulo, 2014).

Circuito produtor	Total de propriedades com atividade reprodutiva	Propriedades examinadas para o BVDV	Total de fêmeas com idade $\geq 24$ meses	Fêmeas examinadas para o BVDV
1	28.943	246	1.193.467	2.156
2	25.343	267	823.073	2.058
3	23.599	259	984.312	1.955
4	9.732	236	264.744	1.622
5	15.881	249	364.848	1.693
6	17.976	227	392.063	1.556
7	13.037	248	308.948	1.813
Total	134.511	<b>1.732</b>	4.331.455	<b>12.854</b>

Fonte: Dados da CDA, 2011 ; comunicação pessoal.

Os cálculos da prevalência de rebanhos reagentes, de animais e intra rebanho para o BVDV por circuito produtor e no Estado e os respectivos intervalos de confiança foram efetuados de forma ponderada conforme DEAN et al. (1994) e DOHOO et al. (2003).

O peso por propriedade ( $P_1$ ) (quadro 2) no cálculo da prevalência de rebanhos reagentes para o BVDV no Estado foi dado por

$$P_1 = \frac{\text{propriedades no circuito produtor}}{\text{propriedades examinadas para o BVDV no circuito}}$$

O peso por animal ( $P_2$ ) no cálculo da prevalência de fêmeas bovinas reagentes para o BVDV no Estado foi dado por

$$P_2 = \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses na propriedade}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses examinadas na propriedade}} \times \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses no circuito}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses nas propriedades examinadas no circuito}}$$

As informações obtidas por meio dos questionários e consideradas relevantes para o estudo epidemiológico do BVDV foram:

- Tipo de exploração (corte leite e mista);
- tipo de criação (extensivo, semi-confinado e confinado);
- uso de inseminação artificial (IA);
- raça bovina predominante;
- presença de animais domésticos (ovinos e/ou caprinos, equídeos, aves, cão e gato);
- presença de animais silvestres (capivara, felídeos, macaco, cervídeo, marsupial e outros);
- aquisição e venda de bovinos com finalidade reprodutiva;
- abate de adultos;
- aluguel de pastagens;
- presença de áreas alagadiças;
- concentração de bovinos no rebanho;
- ocorrência de abortamento;
- presença de piquete separado para fêmeas bovinas na fase de parto e/ou pós parto;
- compartilha aguadas/bebedouros com animais de outras propriedades;
- compartilha insumos, equipamentos ou funcionários com outras propriedades;
- pasto comum entre as propriedades;
- assistência veterinária;
- classificação da propriedade (rural clássica, assentamento, periferia urbana, aldeia indígena);

- tamanho do rebanho;
- idade.

Para o estudo dos fatores de risco associados ao BVDV, as variáveis do questionário epidemiológico foram submetidas, primeiramente, à análise exploratória de dados pelo teste de qui-quadrado (univariada). As variáveis com nível de significância igual ou superior a 80% ( $p \leq 0,20$ ) foram adicionadas, uma a uma, ao modelo final de regressão logística multivariada. Foram considerados fatores de risco para o BVDV as variáveis com nível de significância superior ou igual a 95% ( $p \leq 0,05$ ) no modelo final. Quando necessário, realizou-se a recategorização dessas variáveis e a categoria de menor risco foi considerada como base para a comparação das demais. As variáveis quantitativas foram recategorizadas em percentis. Os dados foram analisados no programa “Stata Statistical Software” versão 12.0 (STATA Corp 2011, College Station, Texas, EUA).

Durante as visitas às propriedades, levantaram-se as coordenadas geográficas (latitude e longitude) em graus, minutos e segundos, utilizando-se aparelhos de posicionamento global por satélite que foram plotadas no mapa dos circuitos produtores, através do programa ArcGIS® ArcMap 10.

## **4.2 SORODIAGNÓSTICO**

Os procedimentos descritos a seguir seguem os parâmetros determinados pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), presentes no “Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals” (OIE, 2012), e seguidos pelo Laboratório de Viroses de Bovídeos (LVB), Instituto Biológico de São Paulo, Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

### **4.2.1 Cultivo celular**

As células epiteliais utilizadas para a produção do estoque viral, titulação do vírus e reação de virusneutralização pertencem à linhagem de rim bovino (“Madin Darby Bovine Kidney” – MDBK), em sua 120ª passagem e foram adquiridas da “American Type Culture

Collection” (Manassas, EUA). Todo o processamento celular foi realizado no setor de cultivo celular, laboratório com infraestrutura adequada para manipulação asséptica das culturas.

Para manutenção celular foram utilizadas garrafas plásticas (Biosystems<sup>®</sup>, Curitiba, Paraná), de 175 cm<sup>2</sup> de área, contendo Meio Essencial Mínimo de Eagle (Eagle MEM - Nutricell<sup>®</sup>, Campinas, Brasil), acrescido de 0,2% de bicarbonato de sódio (Merck<sup>®</sup>, Darmstadt, Alemanha), tamponado com 25 mM de ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazineetanossulfônico (HEPES<sup>®</sup> – Biosolve, Westford, EUA) e suplementado com 5% de SFB livre de anticorpos contra e do próprio Pestivirus (Nutricell<sup>®</sup>, Campinas, Brasil) e mantidas em estufa a temperatura de 37°C. Os subcultivos foram realizados a cada 72 horas, utilizando uma solução Tripsina-Versene (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, Steinheim, Alemanha) para desagregação das células. O inóculo celular foi constituído de 2 x 10<sup>5</sup> células/mL e a contagem realizada em câmara de Neubauer (Optik Labor<sup>®</sup>, Friedrichshofen, Alemanha).

As células e o SFB foram controlados periodicamente para a presença de *Pestivirus* por reação de IPX, ELISA direto (IDEXX<sup>®</sup>, Westbrook, EUA) e RT-PCR.

#### 4.2.2 Replicação da estirpe viral

Foram utilizadas as estirpe virais: BVDV-1 (NADL), citopática, fornecida pela Instituto de Virologia da Escola Superior de Medicina Veterinária de Hannover, Alemanha e BVDV-2 (Lote B140-99), citopática, fornecida pela Ford Dodge Saúde Animal, Brasil.

A replicação viral foi realizada em garrafa plástica, 75 cm<sup>2</sup> de área, com monocamada de células da linhagem MDBK pré formada (2 x 10<sup>5</sup> células/mL) e incubada com um dia de antecedência em estufa úmida a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. O meio de origem da garrafa foi retirado e inoculado 1mL do vírus em estoque. A garrafa foi acondicionada novamente em estufa nas mesmas condições, para adsorção. Uma garrafa controle foi preparada nas mesmas condições.

Após uma hora de incubação, foi adicionado 25 mL de meio de manutenção (MEM com 5% SFB). A garrafa foi acondicionada novamente em estufa nas mesmas condições, até obtenção de efeito citopático em aproximadamente 90% da monocamada de células.

A suspensão viral foi recolhida e centrifugada em tubo Falcon<sup>®</sup> (Biogen, Ribeirão Preto, São Paulo), estéril, a 600 x g por 15 minutos a 4°C (IEC, International Centrifuge, modelo PR-2, Needham, EUA). Após centrifugação, a suspensão viral foi distribuída em tubos de criogenia (TPP<sup>®</sup>, Techno Plastic Products AG, Switzerland), estéreis, identificados com o tipo de vírus, partida e data. Os tubos foram armazenados em freezer a -80°C até

confirmação da titulação e a seguir transferidos para botijões com nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.2.3 Titulação Viral

O título viral foi determinado, com no mínimo duas repetições de cada partida viral, realizando-se nove diluições seriadas do vírus ( $10^{-1}$  a  $10^{-9}$ ) a partir de 0,5mL do puro (ampola viral) em 4,5 mL de meio MEM.

A placa de titulação foi preparada utilizando 100 $\mu\text{L}$  dessas diluições, distribuídas em microplacas de fundo chato contendo 96 cavidades (TPP<sup>®</sup>, Techno Plastic Products AG, Switzerland). A coluna 10 da placa permaneceu vazia (branco). As colunas 11 e 12 serviram para controle de célula, recebendo 100 $\mu\text{L}$  de meio MEM. Da coluna 9 ( $10^{-9}$ ) até a coluna 1 ( $10^{-1}$ ) foi adicionado as diluições virais. Em seguida, 50 $\mu\text{L}$  de suspensão de células MDBK, na concentração  $3 \times 10^5$  células/mL, foi distribuída por cavidade, exceto na coluna de número 10 que permaneceu vazia.

A placa de titulação foi incubada à  $37^{\circ}\text{C}$  com 5% de  $\text{CO}_2$  e umidade controlada. A leitura foi realizada no quinto dia da incubação, em microscópio de luz invertido. O título viral de trabalho ( $10^{5,5}$  DCID<sub>50</sub>/mL) foi calculado com o método de Reed & Muench (1938).

#### 4.2.4 Teste de Virusneutralização (VN)

A reação de virusneutralização dividiu-se em duas etapas: a triagem e a titulação de anticorpos anti-BVDV.

Todos os soros examinados foram inativados em banho-maria a  $56^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos, tempo mínimo necessário para inativar o sistema complemento, que possui ação neutralizante inespecífica e pode interferir nos resultados de virusneutralização.

Todos os testes foram realizados em microplacas de fundo chato com 96 cavidades, devidamente esterilizadas e manuseadas em cabine de segurança biológica.

A análise qualitativa, triagem das amostras, permitiu classificar os animais em reagentes e não reagentes ao BVDV-1, estirpe NADL. Nessa etapa, todas as amostras foram testadas em quadruplicata e com diluição final 1:10 (após adição do vírus). Esta é a diluição considerada ponto de corte do teste, pois diferencia um animal reagente de um não reagente, com uma margem de erro aceita de  $\pm 0,3$  ( $\log_2$ ).

No total, foram examinados 22 soros por placa (S1-S22). A coluna de número um serviu como controle de célula e recebeu 100 µL de meio MEM. A partir da segunda coluna da placa, as cavidades da primeira (A) e quinta (E) linha receberam 160µL de meio MEM e 40µL de soro teste. As cavidades correspondentes às linhas que seguiram abaixo da primeira (B,C e D) e quinta (F, G e H) linha receberam 50µL de meio MEM e 50µL da diluição anterior (Figura 5).

	A	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
C	↓		1:10									
D	↓		1:10									
N	↓		1:10									
T	↓		1:10									
R	↓		1:10									
C	↓		1:10									
L	↓		1:10									
E	↓		1:10									
D	↓	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22
E	↓		1:10									
C	↓		1:10									
É	↓		1:10									
L	↓		1:10									
U	↓		1:10									
L	↓		1:10									
A	↓		1:10									

Figura 5. Ilustração de uma placa de triagem de soros da virusneutralização.

Todos os testes contaram com: a-) uma placa de retrotitulação para confirmação do título viral de trabalho, b-) uma placa controle de doses, no intervalo de diluições em base logarítmica 2 ( $1,95$  a  $10^3$  DCID<sub>50</sub>/mL) ; e c-) uma placa de soros controle (negativo e reagente) com titulação conhecida.

A solução de preparo para a placa de retrotitulação seguiu o padrão de diluição visto no item anterior para titulação viral. Nesta, foram depositados 100µL das diluições  $10^{-6}$  a  $10^{-3}$  DICT<sub>50</sub>/mL. As colunas 5 e 10 permaneceram vazias (branco). As colunas 11 e 12 foram destinadas ao controle de célula.

As doses virais foram preparadas em diluições seriadas ( $1,95$  a  $1.000$  DICT<sub>50</sub>/mL) a partir da solução de preparo do vírus ( $2.000$  DICT<sub>50</sub>/mL) em 2mL de meio MEM. Cada cavidade da placa controle de doses recebeu 100µL dessas diluições. As colunas 11 e 12 foram destinadas ao controle de célula e receberam 100 µL de meio MEM.

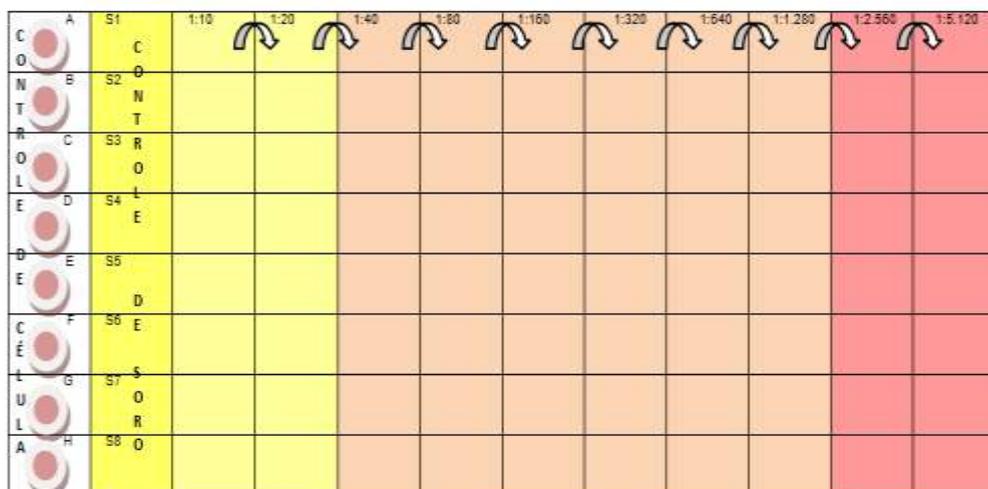
A coluna de número um da placa de soros controle foi destinada ao controle celular, recebendo 100µL de meio MEM. As colunas de número dois e três receberam 80µL de meio MEM e 20µL de cada soro controle. As colunas de números quatro a doze receberam 50µL de MEM. A partir da coluna três, os soros controle foram diluídos na base logarítmica 2 (1:10 até 1:5.120). Estes foram testados em duplicata.

Foram adicionados 50µL da solução de preparo do vírus ( $2 \times 10^3$  DICT<sub>50</sub>/mL) nas placas teste, com exceção da coluna um (controle de célula). A placa de soros controle recebeu a mesma solução viral a partir da coluna três.

Todas as placas do teste, com exceção da placa de retrotitulação, foram incubadas por uma hora em estufa a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub> e umidade adequada. A placa de retrotitulação permaneceu em refrigerador a 4°C.

Após uma hora de incubação, foi adicionado 50µL por cavidade da suspensão de células MDBK ( $3 \times 10^5$  células/mL) em todas as placas do teste. As placas retornaram à incubadora nas mesmas condições, onde permaneceram até o determinado dia para leitura (quinto dia da incubação).

Para a titulação de anticorpos (teste quantitativo), as amostras foram diluídas em meio MEM na base logarítmica 2 (da diluição 1:10 até 1:5.120). A coluna de número um de cada placa teste foi destinada ao controle celular, recebendo 100µL de meio MEM, a de número dois ao controle de toxicidade do soro e as colunas de números três a doze às diluições em série de cada amostra. No total foram examinados oito soros por placa (S1-S8) (Figura 6).



**Figura 6.** Ilustração de uma placa de titulação da virusneutralização.

Também foram incluídas em cada prova quantitativa uma placa de soros controles, uma placa de retrotitulação e uma placa de controle de doses virais como descrito para o teste qualitativo da VN.

Nas placas teste e soros controle foram adicionados, a partir da coluna de número três, 50 µL da solução de preparo do vírus ( $2 \times 10^3$  DICT<sub>50</sub>/mL).

Todas as placas do teste, com exceção da placa de retrotitulação, foram incubadas em estufa a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub> e umidade adequada. A placa de retrotitulação permaneceu em refrigerador a 4°C.

Após uma hora de incubação, foram distribuídos 50µL da suspensão de células MDBK ( $3 \times 10^5$  células/mL) em todas as placas. Estas, retornaram à incubadora, nas mesmas condições, onde permaneceram até o determinado dia para leitura (quinto dia da incubação).

Como títulos de anticorpos neutralizantes foram considerados as recíprocas das maiores diluições do soro capazes de inibirem a replicação viral e a consequente produção de ECP de BVDV.

#### **4.2.4 Validação do teste**

A validação dos testes de virusneutralização considerou:

- Controle celular sem a presença de alterações morfológicas;
- Confirmação do título da viral empregada pelo método de Reed-Müench (1938), com variação aceita de  $\pm 0,3$  (log<sub>2</sub>);
- Determinação das doses infectantes por Spearman-Kärber (FINNEY, 1964), que deve abranger a faixa de validação do teste entre 30 e 421 DCID<sub>50</sub>/50µL (OIE, 2008);
- Confirmação da titulação de soros controle: negativo (não reagente, título <10), fraco positivo (título 40 = 1,6 log), médio positivo (título 320 = 2,5 log) e forte positivo (título 5.120 = 3,7 log) com variações aceitas de  $\pm 0,3$  (log<sub>2</sub>);
- Os soros examinados com título  $\geq 10$  (1,0 log) foram considerados reagentes e aqueles com título inferior a 10 (1,0 log), não reagentes;
- Quando os parâmetros de controle e validação não foram atendidos, as mesmas amostras foram submetidas a reteste.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 PREVALÊNCIA DE ANIMAIS

A prevalência de bovinos com anticorpos anti-BVDV no Estado de São Paulo foi 47,08% (5.441 reagentes dos 12.854 animais examinados). A prevalência de reagentes ao BVDV por circuito produtor e seus respectivos intervalos de confiança são apresentados na tabela 2.

**Tabela 2.** Prevalência aparente de bovinos reagentes para o BVDV por circuito produtor no Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).

Circuito Produtor	Animais		Prevalência (%)	IC (95%)
	Testados	Reagentes		
1	2.156	1.022	43,87	[37,57 – 50,17]
2	2.058	1.237	64,33	[58,73 – 69,93]
3	1.955	768	46,74	[38,29 – 55,19]
4	1.622	707	46,96	[38,13 – 55,79]
5	1.694	739	41,49	[29,23 – 53,74]
6	1.556	513	45,20	[26,97 – 63,42]
7	1.813	455	23,75	[18,70 – 28,80]
Total	12.854	5.441	47,08	[43,46 – 50,70]

IC: Intervalo de Confiança.

### 5.2 PREVALÊNCIA DE REBANHOS

Em São Paulo, das 1.732 propriedades amostradas com fêmeas bovinas em atividade reprodutiva, 78,21% (1.325) apresentaram pelo menos um animal reagente ao exame para a BVD (Tabela 3).

**Tabela 3.** Prevalência aparente de propriedades sororreagentes para o BVDV por circuito produtor do Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).

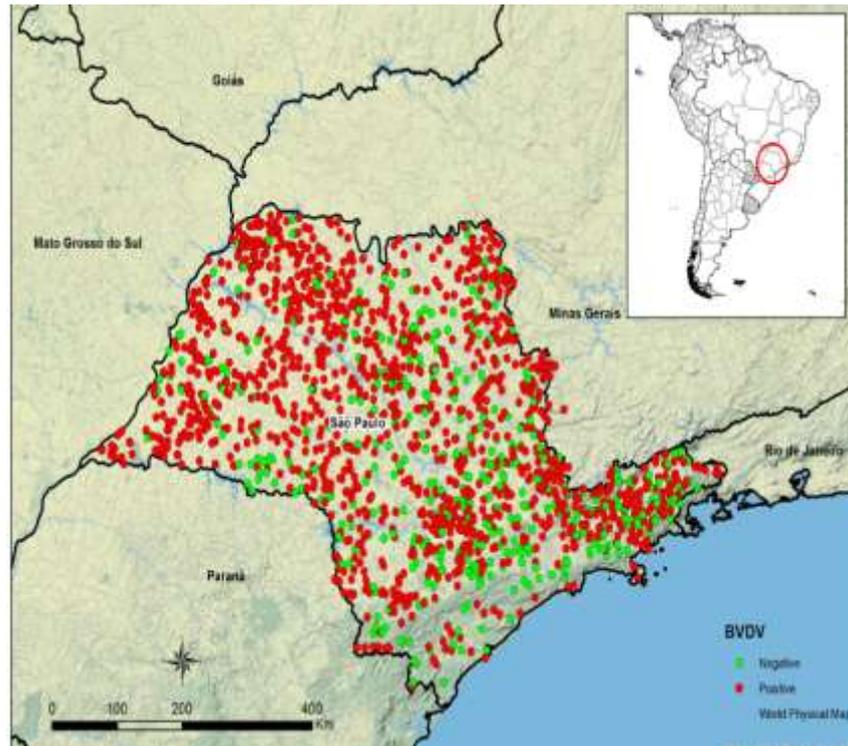
Circuito Produtor	Propriedades		Prevalência (%)	CI (95%)
	Testadas	Reagentes		
1	246	217	88,21	[84,18-92,24]
2	267	238	89,14	[85,40-92,90]
3	259	189	72,97	[67,56-78,39]
4	236	184	77,97	[72,67-83,26]
5	249	187	75,10	[69,72-80,48]
6	227	152	66,96	[60,83-73,08]
7	248	158	63,70	[57,72-69,70]
Total	1.732	1.325	78,21	[76,23-80,19]

IC: Intervalo de Confiança.

Em relação às propriedades reagentes para a BVD por circuito produtor do Estado (Tabela 3), a maior prevalência foi encontrada nos circuitos 1 e 2 (88,21% e 89,14%, respectivamente), seguida dos circuitos 3, 4 e 5 (72,97%, 77,97% e 75,10%, respectivamente) e, por último, a menor prevalência foi encontrada nas propriedades pertencentes aos circuitos 6 e 7 do Estado de São Paulo (66,96% e 63,70%, respectivamente). Agrupando-se os circuitos dessa forma, foi observada diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) entre as três regiões (Noroeste, Centro e Sudeste).

### 5.3 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DO BVDV NO ESTADO DE SÃO PAULO

A distribuição espacial das propriedades reagentes e não reagentes para BVDV no estado de São Paulo em 2011 estão apresentadas na figura 7.



**Figura 7.** Distribuição espacial das propriedades com bovinos reagentes (em vermelho) e não reagentes (em verde) para BVDV no estado de São Paulo em 2011. Em detalhe, a localização do Estado de São Paulo na América do Sul (São Paulo, 2014).

Como pode ser observado na Figura 7, o BVDV está amplamente distribuído nos diversos circuitos produtores do Estado de São Paulo.

#### 5.4 PREVALÊNCIA INTRA-REBANHO

A tabela 4 reúne a prevalência intra-rebanho por circuito produtor do Estado em percentis: 1º quartil ( $Q_1$ ), mediana ou 2º quartil ( $Q_2$ ) e 3º quartil ( $Q_3$ ).

**Tabela 4.** Prevalência intra-rebanho para o BVDV por circuito produtor do Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).

PREVALÊNCIA INTRA-REBANHO (Percentil)								
Circuito Produtor	1	2	3	4	5	6	7	Total
$Q_1$	30,00%	40,00%	30,00%	30,00%	30,00%	22,22%	20,00%	30,00%
Md/ $Q_2$	50,00%	66,67%	50,00%	50,00%	50,00%	40,00%	33,33%	50,00%
$Q_3$	75,00%	90,00%	70,00%	71,43%	80,00%	60,00%	50,00%	75,00%

O circuito de número 2 (região noroeste do Estado de São Paulo) apresentou a maior mediana (Md/Q<sub>2</sub>) dos rebanhos com animais sororreagentes ao BVDV (66,67%) e 25% (Q<sub>3</sub>) dos rebanhos com maior número de animais sororreagentes (90,00%) (Tabela 4). Por outro lado, o circuito 7 (região do Vale do Paraíba) apresentou a menor mediana (Md/Q<sub>2</sub>) de rebanhos com animais sororreagentes ao BVDV (33,33%) e 25% (Q<sub>1</sub>) do menor número de rebanhos com animais sororreagentes (20,00%) (Tabela 4).

## 5.5 SORORREATIVIDADE POR FAIXA ETÁRIA

As frequências de fêmeas reagentes ao BVDV por faixa etária, a partir dos dois anos de idade, no Estado de São Paulo, em 2011, encontram-se na tabela 5.

**Tabela 5.** Frequência de fêmeas bovinas reagentes ao BVDV por faixa etária no Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).

Idade (anos)	Examinados	Não Reagentes	Reagentes (%)
2	951	699	252 (26,50%)
3	2.031	1.425	606 (29,84%)
4	1.824	1.217	607 (33,28%)
5	1.834	1.110	724 (39,48%)
6	1.922	1.012	910 (47,35%)
7	1.340	644	696 (51,94%)
8	1.190	547	643 (54,03%)
9	506	221	285 (56,32%)
10 a 15	1.205	518	687 (57,01%)
Total	12.803	7.393	5.410



**Gráfico 1.** Frequência de fêmeas bovinas reagentes (%) para o BVDV por idade (anos).

No gráfico 1 observa-se uma curva ascendente de sororreatividade ao BVDV com o avançar de idade das fêmeas amostradas.

## 5.6 TAMANHO DO REBANHO E SORORREATIVIDADE

O valor mediano de bovinos encontrados nas propriedades amostradas no estado de São Paulo, no ano de 2011, foi 26 (primeiro quartil: 11; terceiro quartil: 58). A tabela 6 mostra o valor mínimo, 1º quartil ( $Q_1$ ), mediana ou 2º quartil ( $Md/Q_2$ ), 3º quartil ( $Q_3$ ) e valor máximo do tamanho do rebanho bovino nas propriedades amostradas no Estado de São Paulo em 2011.

**Tabela 6.** Tamanho do rebanho bovino nas propriedades examinadas no Estado de São Paulo, com base em percentis, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).

	Mínimo	$Q_1$	$Md/Q_2$	$Q_3$	Máximo
No. animais no rebanho	1	11	26	58	2.908

**Tabela 7.** Sororreatividade ao BVDV por tamanho do rebanho bovino no Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).

SORORREATIVIDADE POR TAMANHO DO REBANHO			
<i>n</i> (animais/rebanho)	Não Reagentes	Reagentes	Total
<11	187 (45,17%)	227 (54,83%) <sup>a</sup>	414 (100,00%)
11-25	90 (20,09%)	358 (79,91%) <sup>b</sup>	448 (100,00%)
≥ 26	130 (14,94%)	740 (85,06%) <sup>b</sup>	870 (100,00%)
Total	407 (23,50%)	1.325 (76,50%)	1.732 (100,00%)

Nota: Letras distintas indicam diferença estatística.

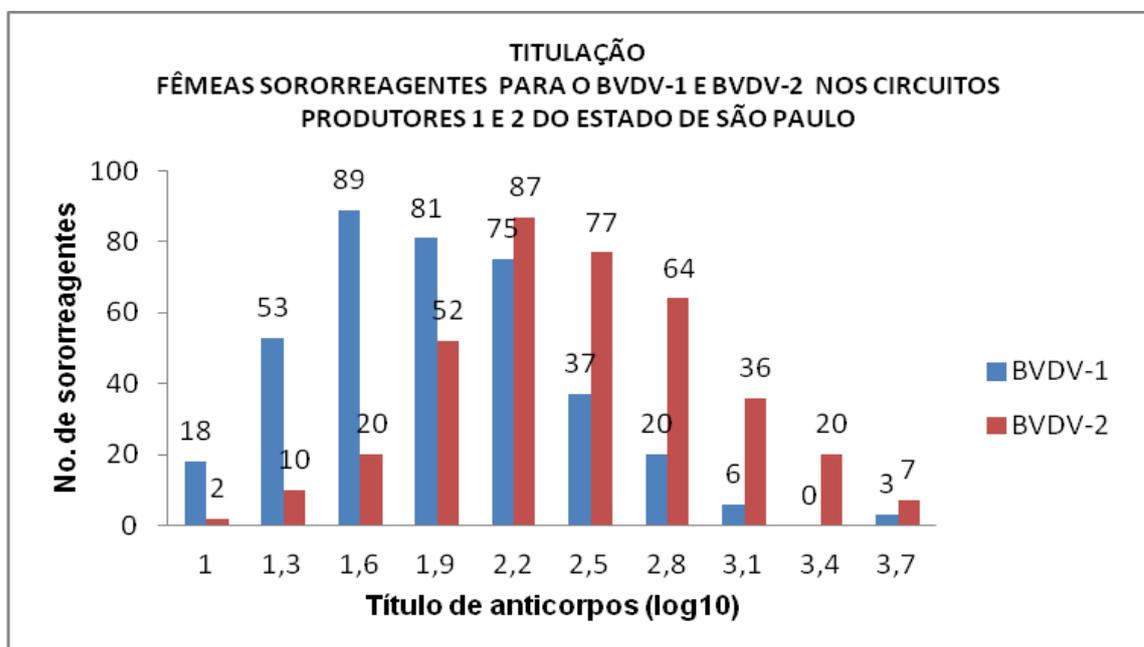
A prevalência de fêmeas sororreagentes foi significativamente ( $p=0,000$ ) menor em rebanhos com menos de 11 animais (54,83%) e, maior em rebanhos com 11 a 25 animais e acima de 26 animais (79,91% e 85,06%, respectivamente) (Tabela 8). Não houve diferença significativa entre rebanhos com mais de 11 animais e, portanto, a variável tamanho do rebanho foi analisada em apenas duas categorias: <11 animais e ≥ 11 animais.

### 5.7 TITULAÇÃO DE ANTICORPOS

Foram quantificados os níveis de anticorpos para o BVDV-1 e o BVDV-2 em 21,79% (382/1.325) das propriedades reagentes na prova de triagem pela virusneutralização. Para este ensaio foi escolhido um animal reagente por propriedade dos circuitos produtores 1 e 2 do Estado, no total 382 propriedades. Com exceção de sete amostras que não foram reagentes (título<1log) para o BVDV-2, foi observada a neutralização cruzada para os dois genótipos virais testados em 375 das propriedades amostradas. Os títulos de anticorpos variaram entre 1 log e 3,7 log na base logarítmica 10 (Quadro 3).

**Quadro 3.** Títulos de anticorpos frente ao BVDV-1 e BVDV-2 nas amostras de soro de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses nos circuitos produtores 1 e 2 do Estado de São Paulo, no ano de 2011 (São Paulo, 2014).

Título (log)	Reagentes ao BVDV-1 (%)	Reagentes ao BVDV-2 (%)
1	18 (4,71%)	2 (0,53%)
1,3	53 (13,87%)	10 (2,67%)
1,6	89 (23,30%)	20 (5,33%)
1,9	81 (21,20%)	52 (13,87%)
2,2	75 (19,63%)	87 (23,20%)
2,5	37 (9,69%)	77 (20,53%)
2,8	20 (5,24%)	64 (17,07%)
3,1	6 (1,57%)	36 (9,60%)
3,4	0	20 (5,33%)
3,7	3 (0,79%)	7 (1,87%)
Total	375 (100%)	375 (100%)



**Gráfico 2.** Titulação das amostras de soro de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses frente ao BVDV-1 e BVDV-2 nos circuitos produtores 1 e 2 do Estado de São Paulo, no ano 2011 (São Paulo, 2014).

## 5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA UNIVARIADA

As variáveis que no teste de qui-quadrado não mostraram associação significativa ( $p > 0,20$ ) quanto ao resultado da sorologia para BVDV (Tabela 8) foram excluídas do modelo final de regressão logística.

**Tabela 8.** Análise univariada (qui-quadrado) dos rebanhos de bovinos reagentes e não reagentes para o BVDV, no Estado de São Paulo, no ano de 2011, considerando as variáveis não estatisticamente significativas ( $p > 0,20$ ) (São Paulo, 2014).

Variável	% (reagentes BVDV)	% (não reagentes BVDV)	Total	$p$
<b>Tipo de exploração</b>				
Corte	75,00% (465)	25,00% (155)	620	0,289
Leite	76,08% (477)	23,92% (150)	627	
Misto	78,97% (383)	21,03% (102)	485	
<b>Tipo de criação</b>				
Extensivo	76,19% (1.133)	23,81% (354)	1.487	0,622
Semi-confinado	78,79% (182)	21,21% (49)	231	
Confinado	71,43% (10)	28,57% (4)	14	
<b>Presença de aves comerciais</b>				
Tem	76,30% (898)	23,70% (279)	1.177	0,769
Não tem	76,94% (427)	23,06% (128)	555	
<b>Presença de cães</b>				
Tem	76,27% (1.048)	23,73% (326)	1.374	0,662
Não tem	77,37% (277)	22,63% (81)	358	
<b>Presença de animais silvestres</b>				
Tem	76,84% (806)	23,16% (243)	1.049	0,685
Não tem	75,99% (519)	24,01% (164)	683	
<b>Presença de marsupiais</b>				
Tem	76,32% (548)	23,68% (170)	718	0,883
Não tem	76,63% (777)	23,37% (237)	1.014	
<b>Compartilha itens com outras propriedades</b>				
Não	75,93% (1.098)	24,07% (348)	1.446	0,210
Sim	79,37% (227)	20,63% (59)	286	
<b>Pasto comum entre propriedades</b>				
Não	76,30% (1.127)	23,70% (350)	1.477	0,640
Sim	77,65% (198)	22,35% (57)	255	
<b>Área de pouso de boiada em trânsito</b>				
Não	76,53% (1.324)	23,47% (406)	1.730	0,376
Sim	50,00% (1)	50,00% (1)	2	
<b>Abortamento nos últimos 12 meses</b>				
Não	76,29% (1.107)	23,71% (344)	1.451	0,554
Sim	75,81% (141)	24,19% (45)	186	
Não sabe	81,05% (77)	18,95% (18)	95	

Já as variáveis que no teste de qui-quadrado mostraram associação significativa ( $p \leq 0,20$ ) quanto ao resultado da sorologia para BVDV (Tabela 9) entraram para o modelo final de regressão logística (Tabela 10).

**Tabela 9.** Análise univariada (qui-quadrado) dos rebanhos de bovinos reagentes e não reagentes para o BVDV, no estado de São Paulo em 2011, considerando as variáveis estatisticamente significativas ( $p \leq 0,20$ ) (São Paulo, 2014).

Variável	%(reagentes BVDV)	% (não reagentes BVDV)	Total	p
<b>Raças bovinas predominantes</b>				
Zebu	82,62 (328)	17,38 (69)	397	0,020
Europeu de Leite	70,97% (66)	29,03% (27)	93	
Europeu de corte	86,67% (13)	13,33% (2)	15	
Mestiço	74,80% (840)	25,20% (283)	1.123	
Outras Raças	75,56% (68)	24,44% (22)	90	
<b>Presença de capivara</b>				
Tem	78,84% (354)	21,16% (95)	449	0,174
Não tem	75,68% (971)	24,32% (312)	1.283	
<b>Presença de felídeos</b>				
Tem	72,40% (160)	27,60% (61)	221	0,124
Não tem	22,90% (346)	77,10% (1.165)	1.511	
<b>Presença de macaco</b>				
Tem	79,50% (318)	20,50% (82)	400	0,107
Não tem	75,60% (1.007)	24,40% (325)	1.332	
<b>Presença de gatos</b>				
Tem	78,86% (552)	21,14% (148)	700	0,057
Não tem	74,90% (773)	25,10% (259)	1.032	
<b>Presença de suínos</b>				
Tem	78,49% (456)	21,51% (125)	581	0,166
Não tem	75,50% (869)	24,50% (282)	1.151	
<b>Presença de ovinos e/ou caprinos</b>				
Tem	82,42% (211)	17,58% (45)	256	0,016
Não tem	75,47% (1.114)	24,53% (362)	1.476	
<b>Presença de equídeos</b>				
Tem	79,89% (1.001)	20,11% (252)	1.253	0,000
Não tem	67,64% (324)	32,36% (155)	479	
<b>Aquisição de bovídeos_reprodução</b>				
Não	71,66% (900)	28,34% (356)	1.256	0,000
Sim	89,29% (425)	10,71% (51)	476	
<b>Venda de reprodutores</b>				
Não	74,82% (1.135)	25,18% (382)	1.517	0,000
Sim	88,37% (190)	11,63% (25)	215	
<b>Abate de animais adultos</b>				
Não	74,09% (912)	17,56% (319)	1.231	0,000
Sim	82,44% (413)	17,56% (88)	501	
<b>Concentra o rebanho</b>				
Não	76,91% (1.229)	23,09% (369)	1.598	0,167
Sim	71,64% (96)	28,36% (38)	134	
<b>Aluguel de pastagens</b>				
Não	74,30% (1.055)	25,70% (365)	1.420	0,000
Sim	86,54% (270)	13,46% (42)	312	
<b>Presença de áreas alagadiças</b>				
Não	74,85% (884)	25,15% (297)	1.181	0,018
Sim	80,04% (441)	19,96% (110)	551	
<b>Piquete parição</b>				
Não	75,18% (1.045)	24,82% (345)	1.390	0,009
Sim	81,87% (280)	18,13% (62)	342	

continua

continua

Variável	%(reagentes BVDV)	%(não reagentes BVDV)	Total	<i>p</i>
<b>Assistência Veterinária</b>				
Não	74,52% (854)	25,48% (292)	1.146	0,007
Sim	80,38% (471)	19,62% (115)	586	
<b>Uso de Inseminação Artificial (IA)</b>				
Não usa IA	75,90% (1.228)	24,10% (390)	1.618	0,082
Usa IA e touro	85,13% (63)	14,87% (11)	74	
Usa só IA	85,00% (34)	15,00% (6)	40	
<b>Compartilha aguadas/bebedouros com outras propriedades</b>				
Não	75,49% (1.087)	24,51% (353)	1.440	0,027
Sim	81,51% (238)	18,49% (54)	292	
<b>Classificação da propriedade</b>				
Rural clássica	76,12% (1.173)	23,88% (368)	1.541	0,033
Assentamento	87,50% (77)	12,50% (11)	88	
Periferia urbana	72,82% (75)	27,18% (28)	103	
<b>Tamanho do rebanho</b>				
<11 animais	54,83% (227)	45,17% (187)	414	0,000
≥11 animais	83,31% (1.098)	16,69% (220)	1.318	
<b>Circuito produtor reagrupado</b>				
1 e 2 (Noroeste)	88,69% (455)	11,31% (58)	513	0,000
3, 4 e 5 (Centro)	75,27% (560)	24,73% (184)	744	
6 e 7 (Sudeste)	65,26% (310)	34,74% (165)	475	

## 5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

As variáveis foram analisadas em conjunto (Tabela 10), usando um modelo de regressão logística para que a interação entre as variáveis pudesse ser incorporada ao modelo e para excluir possíveis fatores de confusão. Permaneceram neste modelo as variáveis com um valor de significância superior ou igual a 95% ( $p \leq 0,05$ ). O *odds ratio* (OR) ou razão de chances traduz a probabilidade de a doença ocorrer ou não na presença da variável em estudo sobre a mesma probabilidade na ausência da variável (THRUSFIELD, 2004).

**Tabela 10.** Modelo final da regressão logística multivariada de fatores de risco (*odds ratio*) para a BVD em bovinos do Estado de São Paulo, no ano de 2010 (São Paulo, 2014).

Variáveis	OR	IC (95%)	Valor – p
<b>Aquisição de bovídeos_reprodução</b>			
Não	-	-	0,000
Sim	2,38	[1,71-3,31]	
<b>Aluguel de pastagens</b>			
Não	-	-	0,000
Sim	1,82	[1,26-2,63]	
<b>Tamanho do rebanho</b>			
< 11 animais	-	-	0,000
≥ 11 animais	3,28	[2,54 - 4,23]	
<b>Circuito produtor</b>			
1 e 2(Noroeste)	3,65	[2,58 – 5,16]	0,000
3, 4 e 5 (Centro)	1,79	[1,37 – 2,35]	
6 e 7 (Sudeste)	-	-	

IC: Intervalo de Confiança. Área sob a curva ROC=0,7424 (Sensibilidade e especificidade do Modelo).

Foram considerados fatores de risco para o BVDV (Tabela 10) a aquisição de animais com finalidade reprodutiva (OR=2,38; IC 95% [1,71-3,31]), o aluguel de pastagens (OR=1,82; IC 95% [1,26-2,63]), os rebanhos com mais de 11 animais (OR=3,28; IC 95% [2,54-4,23]) e, em relação aos circuitos produtores do Estado de São Paulo, a região Noroeste (circuitos 1 e 2) apresentou chance 3,65 vezes (IC 95% [2,58-5,16]) maior e a região Central (circuitos 3, 4 e 5) apresentou 1,79 (IC 95% [1,37-2,35]) maior de terem seus rebanhos infectados pelo vírus da BVD quando comparadas à região Sudeste do Estado (circuitos 6 e 7).

## 6. DISCUSSÃO

A prevalência de bovinos reagentes para o BVDV no Estado neste estudo (47,08%) pode ser considerada similar a outros estudos nas mesmas regiões, observando também diferenças significativas entre os circuitos produtores do Estado. Diversos autores relataram a ocorrência de BVDV em bovinos em regiões do Estado de São Paulo, estes constataram 47,51% (229/482) de bovinos reagentes na região Noroeste (RIBEIRO, 2009) e 56,49% (74/131) na região Nordeste do Estado (SAMARA et al., 2004). Houve diferenças de 16,67% (04/24) a 100% (28/28) de reagentes entre as propriedades amostradas de uma mesma região (SAMARA et al., 2004). No Sul do Rio Grande do Sul, utilizando-se da técnica de VN para detecção de bovinos reagentes ao BVDV, essa prevalência foi de 66,32% (1.150/1.734) (QUIINCOZES et al., 2007). Uma soroprevalência de 64% ao BVDV foi encontrada na população de fêmeas bovinas com mais de 24 meses (n=3.555) no Estado de Goiás (BRITO et al., 2010).

Neste estudo, a prevalência de rebanhos reagentes ao BVDV foi de 78,21%. Apesar do pequeno número de rebanhos amostrados (n=5), SAMARA et al. (2004) observou que todos (100%) apresentaram pelo menos um animal reagente ao BVDV na região Nordeste do Estado de São Paulo. Alta taxa de prevalência, 82,35% (70/85), foi encontrada em rebanhos no Rio Grande do Sul (região Sul) por QUINCOZES et al. (2007). No estado de Goiás, 88,3% das 888 propriedades analisadas foram reagentes ao BVDV (BRITO et al., 2010). Em países da América do Sul e Central, em que menos de 5% dos rebanhos são vacinados e nenhuma outra forma de controle é dirigida ao vírus da BVD, considera-se que a elevada prevalência de rebanhos reagentes, 60% (México), 70% (Argentina), 74% (Equador), 75% (Chile), 96% (Peru) e 100% (Uruguai) (STAHL et al., 2003; MELÉNDEZ; DONOVAN, 2003; SOLIS-CALDERON; SEGURA-CORREA; SEGURA-CORREA, 2005; GUARINO et al., 2008; CARBONERO et al., 2011; SAA et al., 2012) deva-se à exposição natural ao vírus da BVD. A prevalência de animais reagentes por propriedade amostrada (intra-rebanho) para o BVDV, neste estudo, foi muito alta (mediana 50%) em todas as regiões do Estado (Tabela 4).

A proporção de fêmeas sororreagentes ao BVDV aumentou nas categorias com maior idade. Constatou-se que a estrutura etária não tem o mesmo risco, ou seja, as fêmeas jovens apresentaram maior risco de infecção e a probabilidade de serem reagentes aumentou com a idade. SOUSA et al. (2009) encontraram 62% de reagentes ao BVDV na faixa etária entre três a sete anos. Para BRITO et al. (2010) o maior índice de sororreatividade ao BVDV foi encontrado em fêmeas com nove a 17 anos (76,5%) quando

comparado ao encontrado naquelas com dois a oito anos (62,2%). A frequência de fêmeas sororreagentes ao BVDV em um rebanho tende a aumentar com a idade, pois quanto maior a idade do animal também maior é o tempo de exposição ao patógeno, aumentando assim a probabilidade de do mesmo apresentar anticorpos ao agente. (MAINAR-JAIME et al., 2001; THOMPSON et al., 2006; BRITO et al., 2010). Além disso, deve-se considerar que a resposta humoral de bovinos na infecção pelo BVDV é duradoura.

Sabe-se que há neutralização cruzada entre BVDV-1 e BVDV-2, entretanto, os títulos de anticorpos são mais altos quando os vírus são do mesmo genótipo que entre vírus de diferentes genótipos (RIDPATH et al., 2005). Para os anticorpos neutralizantes serem classificados como anti BVDV-1 ou anti BVDV-2 deve haver no mínimo quatro títulos de diferença frente aos vírus testados, sendo que o maior título indica o provável genótipo viral que entrou em contato com o animal. Em nosso estudo essa diferença não foi observada e, portanto, não foi possível a realização da análise comparativa. Houve discordância em sete amostras testadas (2%), que foram reagentes para o BVDV-1 e não reagentes para o BVDV-2, evidenciando a possibilidade de resultado falso-negativo quando a amostra for testada apenas frente a um genótipo. Esse é um alerta para vigilância constante das estirpes de BVDV circulantes nos rebanhos.

Não foi constatada relação entre o tipo de exploração (corte, leite, mista) ou o tipo de criação (extensivo, semi-confinado e confinado) e a ocorrência de BVDV ( $p=0,290$  e  $p=0,622$ , respectivamente) (Tabela 8). Para QUINCONZES et al. (2007) em um estudo para a ocorrência do BVDV no Estado do Rio Grande do Sul, a maior prevalência para o BVDV foi encontrada em criações extensivas e de exploração mista (corte e leite).

O abortamento não esteve associado à sororreatividade ao BVDV ( $p=0,554$ ) (Tabela 8), uma vez que a sororreatividade em fêmeas que abortaram (75,81%) foi semelhante à de fêmeas que não abortaram (76,29%) ou que não soube informar (81,05%). MAINER-JAIME et al. (2001), QUINCOZES et al. (2007), BRITO et al. (2010) também não encontraram relação entre abortamento e soropositividade ao BVDV. Para DEZEN et al. (2013) em propriedades sororreagentes com o BVDV os abortamentos, apesar de ocorrerem foram esporádicos e em percentual não preocupante, estando as perdas reprodutivas relacionadas às baixas taxas de concepção e mortalidade embrionária elevada. Para SAMARA et al. (2004) a ocorrência de repetições de cio, abortamentos e infecções uterinas foi verificada nas propriedades que apresentaram maior quantidade de animais reagentes ao BVDV. Portanto, o resultado do presente trabalho não exclui a possibilidade de associação do BVDV a problemas reprodutivos, visto que não foram feitos questionamentos sobre a presença de outros sinais como infertilidade, repetição de cio e teratogênias.

A utilização de piquetes separados para fêmeas nas fases de parto e/ou pós-parto apresentou associação com a sororreatividade ao BVDV ( $p=0,009$ ) apenas na análise univariada (Tabela 9). Para QUINCONZES et al.(2007), em propriedades que adotavam esse tipo de manejo a chance de infecção pelo BVDV aumentou 1,49 vezes comparado às que não o faziam. Acredita-se que a concentração de fêmeas gestantes não imunes ao BVDV aumenta a chance de infecção ao entrar em contato com animais infectados de forma aguda ou persistente (HOUE, 1999), o que ao invés de ser um fator de proteção, no caso de doenças infecciosas aumenta o risco de infecção. Por isso, para que esta medida seja efetiva ela deve ser precedida da investigação e controle sanitário do BVDV e de outras doenças que possam estar acometendo o rebanho.

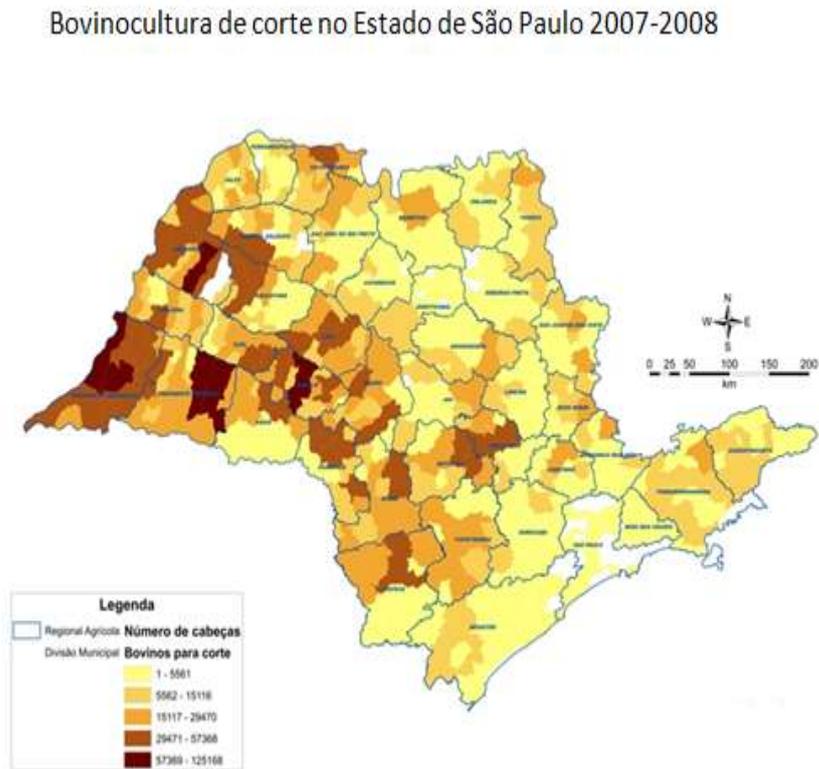
A aquisição de animais foi fator de risco ( $OR=2,38$ ) para a ocorrência da BVD (Tabela 10). Para GATES et al. (2013), a aquisição de animais também foi significativa ( $p\leq 0,005$ ), e pode ser explicada principalmente pela introdução de animais PI ou fêmeas gestando fetos PI ou ainda, com menor importância, por animais transitoriamente infectados pela BVD (HOUE, 1999), já que apenas 20% desses rebanhos submetiam os animais recém adquiridos à testes diagnósticos durante o período de isolamento. Neste período, os animais devem ser testados para pesquisa direta do agente. No caso de positivos para o BVDV, procede-se ao reteste, no intervalo mínimo de três semanas, e descarte daqueles que permanecerem positivos (PI). LINDBERG; ALENIUS (1999) citaram o controle da introdução de novos animais no rebanho como a mais importante estratégia a ser aplicada ao combate da BVD. No entanto, infecções recentes tem sido observadas em rebanhos que não adquiriram nenhum animal nos últimos anos. ERSBOLL et al. (2010) referiram que a proximidade com rebanhos vizinhos positivos para a BVDV contribui para que a prevalência se mantenha em um rebanho fechado. Ou seja, o monitoramento para controle do BVDV deve levar em consideração não só a movimentação de animais no rebanho mas também o estado sanitário das propriedades em seu entorno. Em rebanhos bovinos com BVDV parece que há sempre alguma forma de contato que possa explicar novas infecções até mesmo com outras espécies (HOUE, 1999). Neste estudo, a presença de ovinos e caprinos foi significativa ( $p=0,016$ ) para sororreatividade ao BVDV apenas na análise univariada (Tabela 9), sendo que essa criação conjunta foi observada em somente 256 (14,7%) do total de propriedades examinadas. No entanto, para QUINCOZES et al. (2007) o contato de bovinos com ovinos mostrou ser um fator associado à ocorrência da BVD pois propriedades que criam ovinos ( $n=1.005$ ) tiveram chance 1,48 vezes maior de apresentarem a infecção do que propriedades que não criam ovinos ( $n=729$ ). Isto ocorre porque há evidências que a espécie ovina atue como reservatório natural do BVDV (JULIÁ et al., 2009).

O aluguel de pastagens foi um fator de risco (OR=1,82) para a BVD (Tabela 10). O censo agropecuário (IBGE, 2006) destacou que a utilização de pastos comuns ou alugados fora dos estabelecimentos agropecuários com mais de 50 cabeças de bovinos foi observada em 4.237 unidades criadoras de bovinos no Estado de São Paulo, principalmente nas regiões de Presidente Prudente (n=606), Jales (n=264), São José do Rio Preto (n=199), Itapeva (n=160) e Fernandópolis (n=144), localizadas nos circuitos produtores 1 e 2 do Estado. Na dependência da temperatura ambiental o BVDV pode sobreviver nas fezes de animais infectados por três horas (35°C), três dias (20°C) e até por três semanas (5°C) (NISKANEN; LINDGERG, 2003 *apud* BENDIXEN, 1993). Portanto, a prática de aluguel de pastagens pode favorecer o contato dos animais com ambientes previamente contaminados. Devido a alta rotatividade, observa-se múltiplos ingressos com animais de diversas procedências e que oferecem mais risco de infecção pelo BVDV. Apesar de o pasto em comum não ter sido significativo (p= 0,640) (Tabela 8), essa prática também está sujeita ao risco de infecção pelo contato inter-rebanho.

Os rebanhos com onze ou mais animais apresentaram 3,28 mais chances de serem sororreagentes ao BVDV quando comparados a rebanhos com menos de 11 animais (Tabela 10). Acredita-se que a maior prevalência do BVDV nesses rebanhos ocorra devido à maior movimentação, como a compra e venda de animais (STAHL et al., 2002; ERSBOLL et al., 2010; GATES et al., 2013). De fato, segundo o censo agropecuário de 2006 (IBGE), 23.792 estabelecimentos agropecuários do Estado de São Paulo adquiriam bovinos naquele ano sendo essa movimentação observada principalmente nas regiões como Presidente Prudente (n=2.977), Jales (n=1.613), São José do Rio Preto (n=1.242), Andradina (n=999) e Birigui (n=853), regiões em que também observa-se o maior número de animais por rebanho.

Em relação aos circuitos produtores do Estado de São Paulo, a região Noroeste (circuitos 1 e 2) apresentou 3,65 vezes mais chance e a região Central (circuitos 3, 4 e 5) apresentou 1,79 mais chances de ter seu rebanho infectado pelo vírus da BVD quando comparadas à região Sudeste do Estado (circuitos 6 e 7) (Tabela 10). O Noroeste do Estado de São Paulo (circuitos produtores 1 e 2) abrange regiões como Araçatuba, Presidente Prudente, Dracena e Adamantina. Nessas regiões concentram-se os maiores rebanhos ( $\geq$  11 animais) e são também nessas regiões que práticas como aquisição de animais e aluguel de pastagens estão mais presentes e tendem a contribuir para a elevada prevalência de rebanhos positivos na região. Para GATES et al. (2013), em estudo realizado na Escócia, a reposição e o comércio de animais ocorreu com mais frequência em rebanhos de corte, contribuindo para que a movimentação de animais representasse um risco maior para a BVD nesses rebanhos (OR=3,21) que quando comparada a que ocorria em rebanhos

leiteiros (OR=1,82), quase sempre rebanhos fechados. De fato, segundo o IBGE (2006) a bovinocultura de corte do Estado movimentava mais animais quando comparada a bovinocultura de leite e concentra-se principalmente na região Noroeste do Estado (Figura 8).



**Figura 8.** Distribuição da bovinocultura de corte segundo o número de cabeças no rebanho no Estado de São Paulo nos anos de 2007-2008.

**Fonte:** SÃO PAULO, 2007-2008.

A proximidade com os Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (MS), também pode contribuir para que a região Noroeste de São Paulo sirva como via de trânsito e comércio de animais, dado que estes Estados são os principais criadores de bovinos do País (IBGE, 2012) e, por sua vez, São Paulo concentra grande parte das plantas frigoríficas existentes no Brasil (ABIEC, 2013). RIBEIRO (2009) verificou que a ocorrência de BVDV no MS era elevada (99,60% de sororreagentes), o que pode ter contribuído para a elevada prevalência animal (64,33% - IC 95%: 58,73 – 69,93) encontrada no circuito 2.

Embora tenham investigado rebanhos leiteiros com mínimo de movimentação e de comercialização de animais, SAMARA et al. (2004), concluíram que nos rebanhos mais simples e menos tecnificados foi verificado um maior número de animais reagentes quanto à presença de anticorpos contra o vírus da BVD. Contudo, este estudo verificou que este

número foi maior nos rebanhos bovinos com maior número de animais, destacando que características do tipo de manejo e controle sanitário adotado nessas criações podem estar contribuindo para a ocorrência e disseminação do BVDV.

SMITH et al. (2014) compararam o custo da infecção pelo BVDV ao custo de prevenção da doença, usando para isso fatores de risco (aquisição de fêmeas bovinas gestante e o uso de pasto comum), que contribuem em elevar o custo financeiro com a doença, e medidas de biossegurança (monitoramento do rebanho através de testes diagnósticos e o uso de vacinação). Quando nenhuma medida de biossegurança foi adotada, o custo da doença aumentou significativamente ao adquirir fêmeas gestantes quando comparado a aquisição de fêmeas não gestantes, uma vez que existe o risco de estarem gestando fetos PI. A vacinação foi recomendada para rebanhos que compartilham pasto ou que tem o contato através de cerca com outros rebanhos de bovinos, já que o risco de introdução do BVDV não pode ser controlado apenas testando-se os animais. O uso da vacinação combinado a testes diagnósticos no rebanho reduziu o custo com risco de infecção pelo BVDV em rebanhos acima de 100 animais, já que a baixa prevalência encontrada em pequenos rebanhos (50 a 100 cabeças) não justificou o custo com sua prevenção a longo prazo (pelo menos dez anos). Geralmente, pequenos rebanhos estão sujeitos ao fenômeno de “self-clearance” (auto limpeza). Quando a entrada de animais no rebanho é controlada, limita-se a possibilidade de novas infecções por um animal PI (LINDBERG; ALENIUS, 1999).

O presente estudo revelou que o BVDV está amplamente distribuído nos diversos circuitos produtores do Estado de São Paulo (Figura 7), em uma prevalência dentro dos limites considerados pela estatística como usuais do patógeno nas diferentes regiões (Tabela 3). Esta situação caracteriza endemicidade (GONÇALVES, 1990), sendo este o primeiro estudo soropidemiológico para avaliar a situação da BVD no Estado de São Paulo, com amostragem representativa de todas as regiões. Outros estudos mais pontuais realizados por diferentes grupos de pesquisa no Estado de São Paulo e em outros Estados brasileiros (Quadro 1) revelaram que os índices de sororreatividade nos rebanhos foram tão elevados quanto o observado nesta pesquisa.

A situação epidemiológica da BVDV nos rebanhos bovinos do Estado de São Paulo e demais estados brasileiros demonstra a falta de controle sanitário desta enfermidade. Assim, faz-se necessário planejar medidas sanitárias estratégicas que podem ser inicialmente colocadas em prática, dentre as quais:

- Implementar medidas de biossegurança:
  - controle de trânsito de animais respeitando período de quarentena, com exames laboratoriais realizados para detecção de possíveis animais PI;
  - Utilização de sêmen e embriões certificados livres de BVDV;
  - Medidas higiênico-sanitárias gerais, a fim de evitar transmissão iatrogênica por meio de fômites contaminados;
  - Tomar medidas de biossegurança antes de alugar pastagens para mitigar o risco de infecção dos animais suscetíveis;
- Demonstrar a presença da infecção por meio de métodos indiretos (pesquisa de anticorpos) nas diversas categorias etárias;
- Pesquisa de PI nos animais jovens;
- Descarte dos animais PI;
- Se houver risco de nova introdução do BVDV, vacinar de forma sistemática todo o rebanho;
- Detecção precoce da doença e monitoramento contínuo do rebanho para avaliar ausência viral;

Apesar da presença de assistência veterinária não ter permanecido no modelo final de regressão logística como fator de risco para a BVDV, ressalta-se a sua importância na transmissão indireta do BVDV entre rebanhos. Das 586 propriedades assistidas, 471 (80,38%) foram reagentes ao BVDV. Os materiais, equipamentos e a vestimenta utilizada por esses profissionais podem atuar como importante fonte de transmissão entre rebanhos infectados e suscetíveis quando atendidos em um mesmo dia, isso explica o risco de infecção em rebanhos em fase de erradicação da doença ((NISKANEN; LINDBERG, 2003; ROSSMANITH et al., 2004). Segundo ALMEIDA et al. (2013) a técnica de IA foi considerada de risco para o BVDV ( $p=0,032$ ;  $OR=2,82$ ) porque muitos dos inseminadores que serviam à cooperativa atendiam várias propriedades em um mesmo dia, facilitando assim a transmissão indireta do BVDV através do uso comum de equipamentos e vestimentas.

O uso de vacinas contra o BVDV no Brasil ainda é incipiente e é realizado de forma irregular nas diferentes regiões e sistemas de produção (FLORES et al., 2005). No presente trabalho, apenas 59 animais (0,05%), distribuídos em seis propriedades, foram vacinados para o BVDV. Em outros países, a vacinação contra o BVDV tem sido utilizada com relativo

sucesso para proteger animais da enfermidade clínica, reduzir a circulação de vírus e para tentar impedir a infecção fetal e a conseqüente produção de bezerros PI (DUBOVI, 1992). No Brasil, as vacinas para o BVDV são formuladas com isolados norte-americanos, geralmente são polivalentes (BVDV, BoHV-1, PI-3 e BRSV) e obrigatoriamente inativadas. A maior preocupação com a eficácia de vacinas contra o BVDV refere-se à grande variabilidade antigênica do vírus (RIDPATH, 2013). Estudos realizados no Brasil revelaram que, além da diversidade antigênica entre isolados locais, estes isolados apresentam uma baixa reatividade sorológica cruzada com as cepas norte-americanas utilizadas nas vacinas. Isto gerou questionamentos sobre a eficácia das vacinas em uso e sobre a necessidade de se reavaliar as estratégias de produção, licenciamento e usos de vacinas contra o BVDV no país (FLORES et al., 2005).

Há legislação no Brasil para impedir a entrada de touros virêmicos em centros de colheita e processamento de sêmen (BRASIL, 2006). Considerando que os reprodutores são originados de sistema de cria e recria onde o agente é endêmico, ressalta-se aqui a importância no cumprimento dessas normas que permitem a identificação de animais PI e descarte antes do seu ingresso nesses centros (ALTAMIRANDA et. al, 2012).

No Brasil, ainda faltam pesquisas que possam estimar e comparar os custos financeiros com a doença e com a sua prevenção aos rebanhos bovinos. Esta informação será necessária para se avaliar o custo-benefício na implantação de programas sanitários para o BVDV no país.

## 7. CONCLUSÃO

A BVD está amplamente disseminada entre as fêmeas bovinas com mais de 24 meses de idade nos rebanhos do Estado de São Paulo: cerca de 50% (43,46-50,70 – IC 95%) de animais sororreagentes e 80% (76,23-80,19 – IC 95%) das propriedades com pelo menos um animal reagente a BVD.

Os fatores de risco encontrados para o BVDV no Estado de São Paulo foram: aquisição de animais, aluguel de pastagens, rebanhos com mais de onze animais e circuito produtor.

A prevalência de rebanhos reagentes ao BVD na região Noroeste do Estado (88,69%) foi significativamente superior à observada nas demais regiões, e esteve provavelmente associada ao tamanho do rebanho.

Evidenciou-se maior vulnerabilidade dos animais jovens tendo em vista que a sororreatividade ao BVDV aumentou com a idade. Portanto, o risco de infecção de animais em início de atividade reprodutiva deve ser motivo de alerta em decorrência dos prejuízos já vistos que a doença acarreta caso o rebanho venha se infectar nessa fase.

Deve-se fortalecer aspectos de vigilância epidemiológica implementando ações com base em informações científicas. A identificação de fatores de risco por localização geográfica, por sistema de produção, por imunidade ao BVDV, dinâmica do fluxo de bovinos (movimentação) possibilita o desenvolvimento e a aplicação de um programa sanitário dinâmico com a finalidade de realizar medidas de vigilância mais efetivas e de menor custo às partes interessadas.

Evidenciou-se a necessidade de realização de atividades de educação sanitária para capacitação de veterinários e pecuaristas sobre as medidas de biossegurança e de controle do BVDV. Com informações sobre os fatores de risco pode-se aplicar medidas sanitárias específicas, adaptadas à realidade local.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAFRIGO. **Exportação Brasileira de Carnes e Derivados de Bovinos – Jan.-Dez./2013.** Disponível em [http://www.abrafrigo.com.br/index.php?option=com\\_content&task=view&id=14&Itemid=28](http://www.abrafrigo.com.br/index.php?option=com_content&task=view&id=14&Itemid=28). Acesso em 11/03/2014.
- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Mapa das plantas frigoríficas.** Disponível em < [http://www.abiec.com.br/2\\_mapa.asp](http://www.abiec.com.br/2_mapa.asp) > Acesso em 31/03/2014.
- ALMEIDA, L. L.; MIRANDA, I. C. S.; HEIN, H. E.; SANTIAGO NETO, W.; COSTA, E. F.; MARKS, F. S.; RODENBUSCH, C. R.; CANAL, C. W.; CORBELLINI, L. G. Herd-level risk factors for bovine viral diarrhoea virus infection in dairy herds from Southern Brazil. **Research in Veterinary Science.** v.13, p.291-299, 2013.
- ALTAMIRANDA, E. A. G.; KAISER, G. G.; WEBER, N.; LEUNDA, M. R.; PECORA, A.; MALACRI, D. A.; MORÁN, O.; CAMPERO, C. M.; ODEÓN, A. C. Clinical and Reproductive consequences of using BVDV-contaminated semen in artificial insemination in a beef herd in Argentina. **Animal Reproduction Science,** v. 133, p. 146-152, 2012.
- BACHOFEN, C. ; GRANT, D. M. ; WILLOUGHBY, K. ; ZADOKS, R. N. ; DAGLEISH, M. P.; RUSSELL, G. C. Experimental infection of rabbits with bovine viral diarrhoea virus by a natural route of exposure. **Veterinary Research,** v.45, n.34, p. 2-9, 2014.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. **Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice,** v.11, p.425-445, 1995.
- BAUERMANN, F. V.; FLORES, E. F.; RIDPATH, J. F. Antigenic relationships between Bovine viral diarrhoea virus 1 and 2 and Hobi virus: Possible impacts on diagnosis and control. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation,** v.24, n.2, p.253-261, 2012.
- BAUERMANN, F. V.; RIDPATH, J. F.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Hobi-like viruses: an emerging group of pestiviruses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. Invest.,** v.25, n.1, p.6-15, 2013.
- BOLIN, S. R.; GROOMS, D. L. Origination and consequences of bovine viral diarrhoea virus diversity. **Veterinary Clinics Food Animal Practice,** v.20, p.50-68, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano estratégico**. Assessoria de Gestão Estratégica. 2. ed. Brasília : Mapa/ACS, 2009, 52 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 10 de março de 2006. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 de março de 2006. Seção 1, Página 26. Anexo I Incorpora ao ordenamento jurídico nacional os **Requisitos Zoonosológicos para Intercâmbio entre os Estados Partes de sêmen bovino e bubalino**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>> Acesso em: 19 set. 2012.

BRITO, W. M. E. D.; ALFAIA, B. T.; CAIXETA, S. P. M. B.; RIBEIRO, A. C. C.; MIRANDA, T. M. T. M.; BARBOSA, A. C. V. C.; BARTHASSON, D. L.; LINHARES, D. C.; FARIA, B. O. Prevalência da infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (bvdv) no Estado de Goiás, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v.39, n.1, p.7-19, 2010.

CARBONERO, A.; Maldonado, A.; PEREA, A.; GARCÍA-BOCANEGRA, I.; BORGE, C.; TORRALBO, A.; ARENAS-MONTES, A. Risk factors against bovine respiratory disease in suckling calves from Argentina. **Archivos de Zootecnia**. v. 60, p.41-51, 2011.

CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; SOUSA, V. E.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência e fatores de risco associados à infecção pelo vírus da diarreia viral bovina em bovinos leiteiros não vacinados no Estado do Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, p., 495-502, 2012.

DAIRY. In: ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. PSD: **production, supply and distribution online**. Reports. Washington, D.C.: United States Department of Agriculture - USDA, 2013. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline>>. Acesso em: set. 2013.

DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; COLOMBIER, D.; BURTON, A.H.; BRENDEL, K.A.; SMITH, D.C.; DICKER, R.C.; SULLIVAN, K.M.; FAGAN, R.F. **Epi-Info, version 6: A word processing database and statistics program for epidemiology on microcomputers**. Atlanta: CDC, 1994. 601p.

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

DEZEN, S.; OTONEL, R. A. 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**, v. 33, n.2, p.141-147, 2013.

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

DIAS, R. A.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; LIMA, Z. M. B.; PAULIN, L. M. S.; GUNNEWIEK, M. F. K.; AMAKU, M.; FERREIRA NERO, J. S., FERREIRA, F. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, supl.1, p. 118-125, 2009.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. **Veterinary epidemiologic research**. Charlottetown, Canadá: Atlantic Veterinary College, 2003. 706p.

DUBOVI, E. J. Genetic diversity and BVDV virus. **Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases**, v. 15, n.3, p.155-165, 1992.

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

ERSBØLLA, A.K.; ERSBØLLB, B.K.; HOUEA, 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**, v. 97, p. 83-89, 2010.

FINNEY, D.J. The Spearman-Kärber method. In: **Statistical method in biological assay**. 2.ed. London: Charles Griffin & Company, 1964. p. 524-531.

FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. **Clinical epidemiology: The essentials**. 2.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. 246p.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F.S.F.; ROEHE, P.M.; ALFIERI, A.A.; PITUCO, E.M. A infecção pelo Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.3, p.125-134, 2005.

FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. 1ª ed. Santa Maria: Editora UFMS, 2007, 888p.

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**, v.112, p.285-295, 2013.

GIVENS, D.M.; MARLEY, M.S. Immunology of chronic BVDV infections. **Biologicals**, v. 41, p. 26-30, 2013.

GONÇALVES, E.I. Manual de Defesa Sanitária Animal. Jaboticabal: FUNEP, 1990. 133p.

GREISER-WILKE, I.; GRUMMER, B.; MOENNIG, V. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe. **Biologicals**, v.31, p.113-118, 2003.

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

GROOMS, D.L. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. **Theriogenology**, v. 66, p. 624-628, 2006.

GUARINO, H. ; NÚÑEZ, A.; REPISO, M. V.; GIL, A.; DARGATZ, D. A. Prevalence of serum antibodies to bovine herpesvirus-1 and bovine diarrhoea virus in beef cattle in Uruguay. **Preventive Veterinary Medicine**, v.85, p.34-40, 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Pecuária. Set. 2013.** Disponível em [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201203\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201203_publ_completa.pdf). Acesso em 23/09/2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário 2006.** Disponível em [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil\\_2006/Brasil\\_censoagro2006.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/Brasil_censoagro2006.pdf) >. Acesso em 31/03/2014.

IEA. Instituto de Economia Agrícola. **Valor da Produção dos Principais Produtos da Agropecuária do Estado de São Paulo.** Dez. 2013. Disponível em < <http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=13389> >. Acesso em 23/04/2014.

HOUE, H.; BAKER, J. C.; R. MAES, K.; RUEGG, P. L.; LLOYD, J. W. Application of antibody titers against bovine viral diarrhoea virus (BVDV) as a measure to detect herds with cattle persistently infected with BVDV. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p.327-332, 1995.

HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**, v.64, p.89-107, 1999.

LANYON, S. R.; HILL, F. I.; REICHEL, M. P.; BROWNLIE, J. Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. *The Veterinary Journal* (2013). Disponível em < [http://www.researchgate.net/publication/256927599\\_Bovine\\_viral\\_diarrhoea\\_Pathogenesis\\_and\\_diagnosis](http://www.researchgate.net/publication/256927599_Bovine_viral_diarrhoea_Pathogenesis_and_diagnosis) >, Acesso em: Setembro de 2013.

LIEBLER-TENORIO, E.M. Pathogenesis. In: GOYAL, S.M.; RIDPATH, J.F. **Bovine Viral Diarrhoea Virus: Diagnosis, Management and Control.** 1ª ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing, p. 121-143, 2005.

LINDBERG, A. L. E.; ALENIUS, S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. **Veterinary Microbiology**, v.64, p.197-222, 1999.

LIVESTOCK. In: ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. PSD: production, supply and distribution online. Reports. Washington, D.C.: United States Department of Agriculture - USDA, 2013. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline>>. Acesso em: set. 2013.

MAINAR-JAIME, R.C.; BERZAL-HERRANZ, B.; ARIAS,P.; ROJO-VÁZQUEZ, F.A. Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral-diarrhoea virus (BVDV) infection in non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. **Preventive Veterinary Medicine**. v.52, p.63-73, 2003.

MELÉNDEZ, P.; DONOVAN, A. Herd-level ELISA seroprevalence of bovine viral diarrhoea antibodies in bulk-tank milk in Chilean dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.60, p.237-241, 2003.

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

NORONHA, R.P.; CAMPOS, G.S.; SARDI, S.I. Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em bovinos jovens. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.424-439, 2003.

OIE. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES - World Organization for Animal Health. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**, 7<sup>a</sup> Ed. 2012, 1404p. Disponível em <[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.04.08\\_BVD.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.08_BVD.pdf)>. Acesso em: 19/04/2014.

ORJUELA, J.; NAVARRETE, M.; BETANCOURT, A.; ROQUEME, L.; CORTEZ, E.; MORRISON, R.B. Salud y productividad en bovinos de la costa norte de Colombia. **World Animal Review**, v.69, p.7-14, 1991.

PILZ, D.; ALFIERI, F. A.; ALFIERI, A. A. Comparação de diferentes protocolos para detecção do vírus da diarreia viral bovina por RT-PCR em grupos de sangue total e de soro sanguíneo, artificialmente contaminados. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.2, p.219-228, 2005.

POLETTO, R.; KREUTZ, L. C.; GONZÁLES, J. C.; BARCELLOS, L.J.G. Prevalência e tuberculose, brucelose e infecções víricas em bovinos leiteiros do município de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, v.34, p.595-598, 2004.

PRESI, P.; STRUCHEN, R.; KNIGHT-JONES, T.; SCHOLL, S.; HEIM, D. Bovine viral diarrhea (BVD) eradication in Switzerland – Experiences of the first two years. **Preventive Veterinary Medicine**, v.99, p.112-121, 2011.

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

RADOSTITS, O. M; GAY, C. C; BLOOD, D. C; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**, p.975-992. 9ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2002, 1737p.

RIBEIRO, C. P. **Avaliação da virusneutralização cruzada frente BVDV-1 e BVDV-2 no diagnóstico da diarreia viral bovina em animais naturalmente infectados**. 80p. 2009. (Dissertação de Mestrado em Clínica Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo).

RIDPATH, J. F. Practical significance of heterogeneity among BVDV strains: Impact of biotype and genotype on U.S. control programs. **Preventive Veterinary Medicine**, v.72, p.17-30, 2005.

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

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

RIDPATH, J. F.; FALKENBERG, S. M.; BAUERMANN, F. V.; VANDERLEY, B. L.; DO, Y.; FLORES, E F.; RODMAN, D. M.; NEILL, J. D. Comparison of acute infection of calves exposed to a high-virulence or low-virulence bovine viral diarrhea virus or a HoBi-like virus. **American Journal Veterinary Research**, v. 74, n. 3, p. 438-442, 2013.

ROSSMANITH, W.; JACKOVÁ, A.; APPEL, F.; WILHELM, E.; VILCEK, S. Analysis of BVDV isolates and factors contributing to virus transmission in the final stage of a BVDV eradication program in lower Austria. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift** , v. 127, n.1-2, p. 12-18, 2014.

SAA, L. R.; PEREA, A.; GARCÍA-BOCANEGRA, I.; ARENAS; A. J.; JARA, D. V.; RAMOS, R.; CARBONERO, A. Seroprevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in non-vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, p.1423-1427, 2012.

SAMARA, S. I.; DIAS, F. C.; MOREIRA, S. P. G.; BUZINARO, M. G. Ocorrência da diarréia viral bovina nas regiões sul do estado de Minas Gerais e nordeste do estado de São Paulo. **Ars Veterinaria**, v.20, n.1, p.67-74, 2004.

SANDVIK, T. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. **Veterinary Microbiology**, v.64, p. 123-34, Jan.1999.

SÃO PAULO. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Instituto de Economia Agrícola. **Levantamento censitário de unidades de produção agrícola do Estado de São Paulo - LUPA 2007/2008**. São Paulo: SAA/CATI/IEA, 2008. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/projetolupa>>. Acesso em: 31/03/2014.

SMITH., R. L.; SANDERSON, M. W.; JONES, R.; GUESSAN; RENTER, D.; LARSON, R.; WHITE, B.J. Economic risk analysis model for bovine viral diarrhoea virus biosecurity in cow-calf herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.113, p. 492–503, 2014.

SOUSA, V. E.; CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; BEZERRA, D. C.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. M. Frequência de anticorpos contra o Vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) em bovinos leiteiros não vacinados na bacia leiteira da ilha de São Luís-MA. **Ciência Animal Brasileira**, Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, supl.1, p.496-501, 2009.

SARRAZIN, S.; VELDHUIS, A.; MÉROC, E.; VANGEEL, I.; LAUREYNS, J.; DEWULF, J.; CAIJ, A. B.; PIEPERS, S.; HOOYBERGHS, J.; RIBBENS, S.; STEDE, Y.V.D. Serological and Virological BVDV prevalence and risk factors analysis for herds to BVDV seropositive in Belgian cattle herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.108, p.28-37, 2013.

SOLIS-CALDEIRON, J. J.; SEGURA-CORREA, V. M.; SEGURA-CORREA, J. C. Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: Seroprevalence and risk factors. **Preventive Veterinary Medicine**, v.72, p.253-262, 2005.

SALIKI, J. T., DUBOVI, E. J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. **Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**, v.20, n.1, p.69–83, 2004.

STAHL, K.; LINDBERG, A.; RIVERA, H.; ORTIZ, C.; MORENO-LÓPEZ, J. Self-clearance from BVDV infections - A frequent finding in dairy herds in an endemically infected region in Peru. **Preventive Veterinary Medicine**, v.83, p.285-296, 2008.

STAHL, K; ALENIUS, S. BVDV control and eradication in Europe: an update. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v.60, p.31-39, 2012.

THOMPSON, J. A; LEITE, R. M. H.; GONÇALVES, V. S.; LEITE, R. M. H.; BANDEIRA, D. A.; HERRMAN, G. P.; MOREIRA, E. C.; PRADO, P. E. F.; LOBATO, Z. I. P; BRITO, C. P. T., LAGE, A. P. Spatial hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to

Leptospira interrogans serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.76, p.290-301, 2006.

VOGES, H.; HORNER, G. W.; ROWE, S.; WELLENBERG, G. J. Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno-competent bull. **Veterinary Microbiology**, v.61, p.165–175, 1998.