

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
METODOLOGIA APLICADA À CONCLUSÃO DE CURSO**

**PESTIVÍRUS EM ANIMAIS SILVESTRES**

Elaborado por Catarina Marcon Chiappetta

Acadêmica em Medicina Veterinária

**Porto Alegre  
2011/1**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
METODOLOGIA APLICADA À CONCLUSÃO DE CURSO**

**PESTIVÍRUS EM ANIMAIS SILVESTRES**

**Autora:** Catarina Marcon Chiappetta

**Matrícula:** 00144244

**Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Faculdade de Veterinária  
da Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Médica Veterinária**

**Orientador:** Cláudio Wageck Canal

**Co-Orientadora:** Ender Rosana Oberst

**Porto Alegre  
2011/1**

## AGRADECIMENTOS

À minha família. À minha Mãe pelo exemplo, amor e ajuda incalculáveis ao longo dos meus estudos.

Aos meus avós, Addis e Orestes, e tios Nego, Cuco, e Cuca pelo apoio e carinho.

À minha irmã Laura, minha preciosa companheirinha.

Ao meu Pai, por todos os ensinamentos e pela amizade.

A Bruno, meu amor eterno, por ser sempre a mão estendida.

Aos Godoy, minha família barbareense.

Aos meus orientadores e fontes de inspiração durante a graduação, Ana Paula Ravazzolo e Cláudio Canal.

A todos os profissionais brilhantes que conheci durante o estágio curricular, dois dos quais tive o privilégio de ter como orientadores de campo, Michelle Falcade e Paulo Roehe.

Às minhas amigas, Ingrid e Raquel por fazerem da FAVET um lugar mais florido desde 2005.

Enfim, a todos que, ao longo dessa jornada, contribuíram de alguma forma.

A todos vocês meu Muito Obrigada!!!

*"A educação de um povo se mede pela maneira  
como ele trata os animais."*

*Vincent Van Gogh*

*(1853 – 1890)*

## RESUMO

Os pestivirus pertencentes à família *Flaviviridae*, são patógenos de grande importância na medicina veterinária. São causadores de diversas doenças e são responsáveis por significativas perdas econômicas na criação de animais domésticos. Nesse caso, os pestivirus de maior relevância são o vírus da peste suína clássica (CSFV), vírus da diarréia viral bovina (BVDV) e vírus da doença da fronteira (BDV). No entanto, os pestivirus não são espécie-específicos e podem infectar não apenas animais domésticos como também animais silvestres e podem representar um problema para programas de erradicação. Diversos estudos confirmaram a presença de anticorpos contra pestivirus em diversas espécies de animais silvestres cativos ou de vida livre. O isolamento viral também foi realizado a partir de algumas amostras dessas espécies. A caracterização de isolados de pestivirus obtidos a partir de amostras de animais silvestres revelou que a maioria era pertencente ao genótipo BVDV-1. Dos pestivirus identificados até agora, CSFV, BVDV, Giraffe Pestivirus, BDV-2, BDV-4 e Pronghorn são as espécies e genótipos que parecem circular entre animais silvestres. O potencial que esses vírus possuem de se propagar entre as populações de animais silvestres e de domésticos é uma das questões mais importantes quando se trata de estudar a epidemiologia desses vírus.

Palavras chave: pestivírus, BVDV, BDV, CSFV, animais silvestres.

## **ABSTRACT**

*The pestiviruses belong to the family Flaviviridae and are pathogens of great importance in veterinary medicine. They cause many diseases and are responsible for significant economic losses in animal production. The most relevant pestivirus are the classical swine fever virus (CSFV), bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and border disease virus (BDV). However, the pestivirus are not species specific and can infect not only domestic animals but also wild animals. This may pose a problem for eradication programs. Several studies have confirmed the presence of antibodies against pestivirus in many species of captive or free living wild animals. Viral isolation was also carried out from wild animals samples. The characterization of pestivirus isolates obtained from wild animals samples revealed that most belonged to BVDV-1 genotype. The CSFV, BVDV, Giraffe-pestivirus, BDV-2, BDV-4 and Pronghorn-pestivirus are the species and genotypes that have been identified so far amongst wildlife. The potential of these viruses to spread among population of wild and domestic animals is a major issue in the study of epidemiology of these viruses.*

*Key words: pestivirus, BVDV, BDV, CSFV, wild animals.*

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Organização estrutural de um vírion pertencente à família <i>Flaviviridae</i>	14
<b>Figura 2 -</b>	Esquematização do genoma dos pestivírus.....	15
<b>Figura 3 -</b>	Imagem de microscopia eletrônica de pestivírus isolados de corças .....	33
<b>Figura 4 -</b>	Filogenia e classificação dos pestivírus .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS

%:	Porcentagem
BDV:	<i>border disease vírus</i>
BVDV:	<i>bovine viral diarrhoea virus</i>
C:	proteína do capsídeo
CSFV:	<i>classic swine fever virus</i>
CP:	Citopático
DI:	defectivas interferentes (partículas)
E:	glicoproteína do envelope
EUA:	Estados Unidos da América
ha:	Hectare
kb:	Kilobase
kDa:	Kilodalton
NCP:	não-citopático
Npro:	Autoprotease
NS:	<i>non structural</i>
ORF:	<i>open reading frame</i>
p7:	proteína 7
PI:	persistentemente infectado
RNA:	ácido ribonucleico
UTR:	<i>Untranslated</i>



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OS PESTIVÍRUS.....</b>	<b>12</b>
<b>2.1</b>	<b>Taxonomia.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2</b>	<b>Histórico.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3</b>	<b>Morfologia.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4</b>	<b>Biótipos.....</b>	<b>16</b>
<b>2.5</b>	<b>Hospedeiros.....</b>	<b>17</b>
<b>2.6</b>	<b>Tropismo celular.....</b>	<b>18</b>
<b>2.7</b>	<b>Variabilidade antigênica e imunogenicidade.....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>INFECCÃO NATURAL DA FAUNA SILVESTRE POR PESTIVÍRUS.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1</b>	<b>Estudos sorológicos e antigênicos.....</b>	<b>20</b>
3.1.1	Vírus da peste suína clássica (CSFV).....	20
3.1.2	Vírus da diarreia viral bovina (BVDV) e vírus da doença da fronteira (BDV).....	24
3.1.2.1	Cervídeos.....	24
3.1.2.2	Bovídeos.....	28
3.1.2.3	Camelídeos.....	29
3.1.2.4	Antilocaprídeos.....	29
3.1.2.5	Animais silvestres em cativeiro.....	29
3.1.2.6	Animais silvestres da África.....	30
<b>3.2</b>	<b>Isolamento viral.....</b>	<b>31</b>
3.2.1	Isolamento de CSFV.....	31
3.2.2	Isolamento do pestivírus Giraffe.....	32
3.2.3	Isolamento de BVDV e BDV.....	32
<b>3.3</b>	<b>Infecções experimentais.....</b>	<b>34</b>
3.3.1	Transmissão transplacentária.....	34
3.3.2	Tempo de incubação.....	35
3.3.3	Sinais clínicos.....	35

<b>4</b>	<b>ANÁLISE FILOGENÉTICA DE PESTIVÍRUS ISOLADOS DE ANIMAIS SILVESTRES.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Genotipagem de isolados de CSFV.....</b>	<b>38</b>
<b>4.2</b>	<b>Genotipagem de isolados de BVDV.....</b>	<b>39</b>
<b>4.3</b>	<b>Genotipagem de isolados de BDV.....</b>	<b>40</b>
<b>4.4</b>	<b>Genotipagem de novos pestivírus de animais silvestres.....</b>	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>TRANSMISSIBILIDADE DE PESTIVÍRUS ENTRE A FAUNA SILVESTRE E DOMÉSTICA: CONSEQUÊNCIAS EPIDEMIOLÓGICAS.....</b>	<b>43</b>
<b>5.1</b>	<b>Transmissão inter específica de CSFV.....</b>	<b>43</b>
<b>5.2</b>	<b>Transmissão inter específica de BVDV e BDV.....</b>	<b>43</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>46</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Pestivirus* pertence à família *Flaviviridae* e abriga espécies virais de grande importância para a produção animal, dentre as quais podemos citar o vírus da peste suína clássica (CSFV), responsável por doença hemorrágica contagiosa de importância mundial, o vírus da diarreia viral bovina (BVDV), causador de diversos distúrbios respiratórios e reprodutivos em bovinos e ovinos e o vírus da doença da fronteira (BDV) que afeta ovinos causando, principalmente, doenças reprodutivas.

A primeira descrição clínica ocorreu na metade do século passado e, desde então, os pestivírus e as afecções por eles causadas foram elucidados por vários pesquisadores. Até o momento, já foram descritas diversas cepas virais e a cada ano são publicados estudos que revelam a descoberta de novas cepas.

Recentemente, estudos filogenéticos e pesquisas sorológicas com pestivírus demonstraram que eles podem estar presentes em quase todas as espécies de artiodáctilos silvestres e domésticas.

Esse trabalho tem como meta fazer uma revisão bibliográfica sobre os pestivírus detectados em animais silvestres e sobre a possibilidade de contaminação entre espécies domésticas e silvestres.

## 2 OS PESTIVÍRUS

### 2.1 Taxonomia

O gênero *Pestivirus* pertence à família *Flaviviridae* que compreende outros dois gêneros, *Flavivirus* (ex: vírus da febre amarela e vírus da dengue) e *Hepacivirus* (vírus da hepatite C).

Atualmente, dentro do gênero *Pestivirus*, são reconhecidas quatro espécies virais, vírus da diarreia viral bovina tipo 1 (BVDV-1), vírus da diarreia viral bovina tipo 2 (BVDV-2), vírus da doença da fronteira (BDV) e vírus da peste suína clássica (CSFV). Além disso, existem espécies que se encontram em fase de reconhecimento, ou espécies virais provisórias, chamadas de vírus *Giraffe* (isolado primeiramente de uma girafa), vírus HoBi (cepas isoladas de soro fetal bovino), vírus Pronghorn ou Antelope (isolado de antilocabras Pronghorn) e vírus Bungowannah (isolado de um surto de miocardite em suínos).

Além das espécies virais e provisórias, existem também sub-genótipos como, por exemplo, BVDV-1a e BVDV-1b e também BVDV-2a e BVDV-2b que foram identificados na América do Norte e América do Sul. Uma maior diversidade foi observada entre cepas Europeias de BVDV-1, levando a distinção de sete sub-genótipos. No entanto, a significância prática dessa classificação ainda é assunto de discussões (RIDPATH, 2009).

### 2.2 Histórico

A primeira espécie do gênero *Pestivirus* foi descrita em meados do século XIX nos EUA e foi denominada de CSFV.

O BVDV foi isolado e identificado pela primeira vez em 1946 (OLAFSON et al., 1946), em animais que apresentavam um quadro infeccioso de natureza epidêmica. Esse quadro se caracterizava por diarreia aguda cuja gravidade era menor nos indivíduos adultos.

Alguns anos mais tarde, o vírus foi isolado novamente de bovinos jovens de seis meses a dois anos de idade. Nesse caso a infecção foi considerada como de natureza esporádica, os sinais clínicos eram diarreia e úlceras na cavidade bucal e a letalidade atingia 100%. À necropsia, observaram-se numerosas lesões caracterizando estomatite acentuada

além de ulcerações em quase todos os tecidos epiteliais pavimentosos. Esse conjunto de sinais clínicos foi denominado Doença das Mucosas (RAMSEY et al., 1953). Em meados dos anos 60, as duas enfermidades conhecidas como doença das mucosas e diarreia viral bovina foram reconhecidas como sendo causadas pelo mesmo agente etiológico (JUBB et al., 1963).

Em 1959, a *border disease* ou doença da fronteira foi descrita pela primeira vez em ovinos (HUGUES et al., 1959). Em 1967, Dickinson e Barlow reproduziram experimentalmente essa doença ao inocular ovelhas com macerado de cérebro e baço provenientes de cordeiros afetados. Tal experimento demonstrou a etiologia infecciosa da doença da fronteira (DICKINSON; BARLOW, 1967).

No início dos anos 60, a relação antigênica entre o CSFV e o BVDV foi estabelecida (DARBYSHIRE, 1962) e, algum tempo depois, as reações imunológicas cruzadas entre a peste suína clássica, a diarreia viral bovina e a doença da fronteira foram demonstradas (PLANT et al., 1973).

Em 1971, Ward inoculou o vírus causador da doença das mucosas (MD) em ovinos que, após a inoculação, apresentaram distúrbios reprodutivos. Desta forma ele pôde demonstrar que os pestivírus podem infectar outras espécies além da do hospedeiro de origem (WARD et al., 1971).

Em 1984, a gênese e o papel epidemiológico dos animais persistentemente infectados (PI) foram evidenciados. Ao fim dos anos 80 e início dos 90, um importante desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico e de triagem permitiu uma verdadeira revolução na compreensão das doenças causadas por pestivírus e demais patologias em geral.

No entanto, os pestivírus não afetam somente animais domésticos, eles podem afetar igualmente animais silvestres (VILCEK; NETTLETON, 2006), o que já ficou demonstrado em numerosas espécies de artiodáctilos.

### **2.3 Morfologia**

Os vírus do gênero *Pestivirus* possuem vírions esféricos de aproximadamente 40 a 60 nm de diâmetro. Possuem nucleocapsídeo de simetria icosaédrica envolvido

intimamente por um envelope lipoprotéico originário da membrana plasmática da célula hospedeira (GARDINER, 1972).

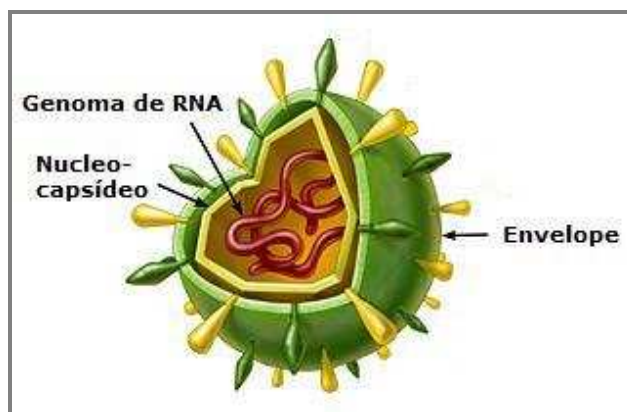


Figura 1 – Organização estrutural de um vírion pertencente à família *Flaviviridae*.  
(Fonte: <http://www.hopkins-gi.org/>)

O genoma dos pestivírus é constituído de uma fita simples de RNA de polaridade positiva medindo cerca de 12,3 kb (VILCEK; NETTLETON, 2006). Apresenta uma única fase aberta de leitura ou *open reading frame* (ORF) que codifica para uma poliproteína de cerca de 4000 aminoácidos (VANTSIS et al., 1990; JEFFREY; WELLS, 1989). Esta poliproteína é clivada em quatro proteínas estruturais (na extremidade N terminal) e oito proteínas não-estruturais (na extremidade C terminal). Nas extremidades 5' e 3' do genoma existem regiões não traduzidas (5'-UTR e 3'-UTR) (JEFFREY et al., 1990).

5'-UTR	Npro	C	E0	E1	E2	P7	NS2	NS3	NS4a	NS4b	NS5a	NS5b	3'-UTR
região não traduzida	proteína não estrutural		proteínas estruturais					proteínas não estruturais					região não traduzida

Figura 2 – Esquematização do genoma dos pestivírus.

A primeira proteína da ORF é a Npro que é uma autoprotease cuja função consiste em clivar o primeiro sítio de clivagem do genoma. Essa proteína é encontrada somente no gênero *Pestivirus*.

As quatro proteínas seguintes são proteínas estruturais. Sua clivagem se dá através do reconhecimento dos sítios dois, três, quatro e cinco da poliproteína pela maquinaria enzimática da célula hospedeira. Tais proteínas são denominadas de proteína do capsídeo (C), e três glicoproteínas do envelope: E0, E1 e E2.

A proteína C forma o nucleocapsídeo que se liga ao RNA e está envolvida na constituição do núcleo viral (RUMENAPF et al., 1993). As glicoproteínas E0, E1 e E2 participam da composição do envelope dos virions.

A E0 possui ação ribonucleásica com especificidade por resíduos de uridina, no entanto, seu papel sobre a replicação do genoma viral é desconhecido. A E2 é uma glicoproteína transmembrana de 53 kDa que se apresenta na superfície dos virions maduros (WEILAND et al., 1999) onde forma homodímeros ou heterodímeros com a E1 (LAZAR et al., 2003). Acredita-se que ela é a fonte da variabilidade na neutralização antigênica dos pestivírus.

Diversas observações sugerem que a E2 está implicada nas etapas de adsorção e penetração do vírus na célula hospedeira:

- É uma proteína imunodominante que induz uma forte resposta sorológica diante de uma infecção natural ou da utilização de vacinas (PANTE et al., 2005).

- A redução das pontes dissulfeto no interior dos homodímeros E2-E2 e dos heterodímeros E1-E2 parecem necessários para a fusão entre o envelope viral e a membrana dos endossomos da célula hospedeira (KREY et al., 2005).

- A incubação de células com a glicoproteína E2 recombinante antes da inoculação de uma cepa citopática (CP) de BVDV parece inibir a penetração dos virions (PANTE et al., 2005).

No entanto, atualmente, nenhuma interação entre a E2 e um receptor celular foi claramente demonstrada. Parece que a glicoproteína tem papel primordial no fenômeno da superinfecção (LEE et al., 2005), pois se uma célula é transfectada com o genoma completo da cepa não-citopática (NCP), a superinfecção com a cepa homologa é impossível, e se uma

célula é transfectada com o genoma de uma cepa NCP deletada para E2, a superinfecção com a cepa homóloga torna-se possível.

O gene que codifica para a proteína p7 forma a junção entre os genes estruturais e não-estruturais. A proximidade espacial entre a E2 e a p7 na poliproteína e a presença de uma proteína fusionada E2p7 sugere que a p7 atua na maturação glicoprotéica e/ou na morfologia do vírus (ELBERTS et al., 1996).

A primeira proteína não-estrutural na ORF é a proteína NS2/3 que é composta de 2 proteínas a NS2 e a NS3 que são clivadas somente em cepas citopáticas. A NS3 possui seqüência de aminoácidos característica de quatro atividades enzimáticas distintas:

- RNA helicase, que é uma enzima que atua no desenovelamento do RNA durante a replicação do genoma (WARRENER et al., 1995).

- Serina protease que é responsável pela clivagem dos sítios seis, sete, oito, nove e dez, permitindo a geração das proteínas não-estruturais (MILLET, 1999).

- Nucleosídeo trifosfatase (NTPase).

A NS5b é uma RNA polimerase RNA dependente necessária para a replicação do genoma viral.

## 2.4 Biótipos

Existem dois biótipos de pestivírus caracterizados. Os biótipos correspondem ao efeito do vírus em cultivos celulares, nos quais podem provocar efeito citopático (CP), ou não citopático (NCP).

O caráter da citopatogenicidade é ligado à hidrólise da proteína NS2/3 em duas frações protéicas NS2 e NS3. A clivagem da proteína NS2/3 está ligada a múltiplos fenômenos genéticos, como recombinações, duplicações rearranjos e deleções. O biótipo NCP é caracterizado pela ausência de clivagem da proteína NS2/3.

O caráter de citopatogenicidade é estritamente observado *in vitro* ao contrário do caráter de patogenicidade.

Inúmeras características permitem a diferenciação dos dois biótipos:

- Ao nível da transmissão viral, o vírus CP pode ser transmitido de forma horizontal, mais dificilmente do que pelo vírus NCP, mas nenhuma demonstração de transmissão vertical foi demonstrada para o CP. O vírus NCP, no entanto, é transmitido facilmente de



forma horizontal e vertical, assim, o biótipo NCP é o biótipo circulante, enquanto que o CP é esporádico e é eliminado quando o bovino PI morre de Doença das Mucosas.

- Ao nível da produção de anticorpos: infecções experimentais com o biótipo CP demonstraram que os títulos de anticorpos são pequenos e tardios. No entanto, inoculações experimentais com o NCP demonstraram uma curva de titulação clássica, com o surgimento dos anticorpos em cerca de dias após a infecção e o alcance de um platô em três semanas.

- Ao nível clínico: os sinais clínicos são mínimos quando um animal é infectado pelo biótipo CP e extremamente variáveis quando infectado pelo NCP.

- Ao nível da distribuição celular: a distribuição celular do CP é reduzida quando comparada a do NCP.

Quando um animal é infectado por uma cepa NCP, alguns eventos genéticos transformarão uma pequena parte da população NCP em CP. Assim, na natureza a ocorrência do biótipo CP não é exógena, mas proveniente da população viral pré-existente no animal. O biótipo NCP é o biótipo circulante e infectante que está na origem dos sinais clínicos enquanto o CP ainda é uma incógnita.

O sucesso dos pestivírus reside no fato de que o biótipo NCP pode atravessar a barreira transplacentária e estabelecer uma infecção persistente no feto em desenvolvimento. Este biótipo pode ser definido como o biótipo “normal”, enquanto que o biótipo CP é considerado como biótipo “anormal”, que é unicamente isolado de animais PI (NETTLETON et al., 1995).

A cepa WB82 do CSFV isolada de javalis em 1982 no Japão se apresentou como sendo dos dois biótipos, sendo que o biótipo NCP era o predominante. O biótipo CP induziu efeito citopático em diferentes culturas celulares de origem suína (AOKI et al., 2001).

## **2.5 Hospedeiros**

O BVDV infecta principalmente bovinos, o BDV, pequenos ruminantes e o CSFV, suínos. No entanto os pestivírus apresentam uma afinidade relativa aos seus hospedeiros. Na verdade eles podem facilmente ultrapassar a barreira das espécies, como demonstrou

um estudo no qual sinais clínicos puderem ser induzidos por BVDV em ovinos (WARD, 1971).

Além disso, a presença dos pestivírus foi evidenciada em numerosas espécies silvestres, tais como cervos, búfalos, girafas, javalis (ZAGHAWA, 1998; NETTLETON, 1990) e antilocapras (FROLICH et al., 2005).

## **2.6 Tropismo Celular**

Os pestivírus, após uma fase de viremia, se localizam preferencialmente no encéfalo (JEFFREY et al., 1989), no fígado, no baço e nos pulmões de seus hospedeiros (JEFFREY et al., 1990; LOKEN, 1990; LOKEN et al., 1991).

O tropismo celular dos pestivírus é marcado pela afinidade por células reticulo-endoteliais, principalmente por células linfocitárias e monocitárias e, ainda, por células endoteliais e epitelias queratinizadas. A busca por antígenos virais é realizada preferencialmente em órgãos linfóides.

## **2.7 Variabilidade antigênica e imunogenicidade**

Os pestivírus sofrem constantemente numerosas mutações que explicam a variabilidade antigênica entre eles. Todavia, certas partes do genoma viral sofrem poucas modificações devido ao fato de possuírem seqüências de nucleotídeos particularmente estáveis, como é o caso das regiões 5'UTR e E2.

Diante de uma infecção por pestivírus, diferentes anticorpos são sintetizados:

- Anticorpos soroneutralizantes: são os mais precoces. Aparecem durante as duas primeiras semanas a partir da infecção e atingem um platô por volta da décima semana. Em cabras, esses anticorpos aparecem mais freqüentemente por volta do vigésimo primeiro dia e podem persistir por até três anos (LOKEN et al, 1991).

- Anticorpos fixadores do complemento: estão presentes quinze a trinta dias depois da inoculação, atingem um platô entre o quadragésimo e o octogésimo dias e persistem por no mínimo três meses.

- Anticorpos precipitantes: são os mais tardios, aparecem trinta a quarenta dias após a inoculação. Sua persistência é equivalente a dos outros anticorpos.

Além disso, foram detectados em soro ovino anti-BDV, anticorpos precipitantes, soroneutralizantes e fixadores do complemento anti-BVD/MD, além de anticorpos soroneutralizantes anti-CSFV (HUCK et al, 1975).

Da mesma forma, existe uma certa proteção cruzada entre diferentes cepas virais de um mesmo grupo de pestivírus, no entanto, isso depende da proximidade antigênica das cepas em questão (VANTISIS et al, 1980).

A imunidade cruzada entre o BDV e o BVDV foi demonstrada por BARLOW et al. em 1980 que constataram que 50% dos ovinos inoculados com a cepa NADL do BVDV estavam protegidos no ano seguinte caso confrontassem com uma cepa do tipo BP77 do BDV (BARLOW et al., 1980).

### **3 INFECCÃO NATURAL DA FAUNA SILVESTRE POR PESTIVÍRUS**

#### **3.1 Estudos sorológicos e antigênicos**

Os pestivírus infectam um grande número de espécies domésticas, cativas e silvestres de ruminantes. Numerosos estudos sorológicos demonstraram que muitas espécies de ruminantes silvestres na América, Europa e África possuem anticorpos anti-pestivírus, apresentando prevalências variáveis entre as populações (NETTLETON, 1990).

##### **3.1.1 CSFV**

Com relação ao CSFV diversos estudos sorológicos foram realizados em alguns países da Europa e revelaram a presença de anticorpos contra esse vírus em javalis silvestres.

Em 2000, a população de javalis em quinze países membros da União Europeia era de aproximadamente de 800.000 a 1.000.000 de indivíduos, variando em densidade de uma região para outra e de um país para outro. Nos últimos anos, esse número aumentou e os javalis passaram a ser observados em numerosas regiões onde eram ausentes anteriormente. O aumento desta população na Europa pode ser explicado pela introdução de novos animais para caça, pela diminuição ou até mesmo extinção de seus predadores naturais, por uma melhora na fertilidade dos javalis por causa de um aumento na alimentação disponível, enfim por uma boa adaptação desses animais a mudanças ambientais (LADDOMADA, 2000). Todos os estudos sorológicos realizados demonstram que os javalis possuem título de anticorpos semelhante ao dos porcos domésticos diante do CSFV.

Estudos sorológicos e antigênicos realizados entre 1989 -1998 em diversos países da Europa, evidenciaram populações de javalis infectadas pelo CSFV na Alemanha, Itália, Áustria, França, Rússia, República Tcheca e Eslováquia (LADDOMADA, 2000). Demonstraram também, que em certas regiões, o CSFV foi detectado em javalis durante um curto período (alguns meses ou anos), pois a doença foi gradualmente desaparecendo, mas em outras regiões a doença tendia a persistir por mais tempo (LADDOMADA, 2000).

Na Alemanha, o CSFV foi registrado em javalis entre 1989-1998 na região de Hessen, Rheinland-Pfalz, Mecklenburg-Vorpommern e Brandenburg (LADDOMADA, 2000).

Na região de Mecklenburg-Western Pomerania (MWP), a pouca variação no número de soropositivos ao longo do estudo indicou que esses animais entram em contato direto com o CSFV constantemente. Além disso, trata-se de uma região onde se entremeiam as culturas de suínos domésticos e densas áreas florestais. Essas florestas representam o *habitat* ideal para os javalis. Os javalis soropositivos foram detectados em 1993 na parte norte dessa região e, nos anos seguintes, a enfermidade se propagou em direção ao sul, leste e oeste. As barreiras naturais ou criadas pelo homem, como lagos, rios e canais ou ainda as rodovias, não puderam impedir a disseminação viral. Sendo assim, entre os anos 1995-2000, foram encontrados javalis infectados pelo CSFV num raio de 23.500 km<sup>2</sup> e, após um pico epidêmico da doença em 1994, sua incidência diminuiu consideravelmente. Em 2000, foram registrados ainda javalis infectados na parte centro-norte da MWP (LADDOMADA, 2000).

Na França, foram registrados anticorpos contra CSFV em javalis silvestres na região norte de Vosges em 1993. Essa região montanhosa e de floresta faz fronteira com a Alemanha e é vizinha do distrito de Rheinland-Pfalz (região infectada). Nessa região, a doença persiste de forma enzoótica afetando os javalis em um raio de 400 km<sup>2</sup>, contornado por uma área de 270 km<sup>2</sup> onde a doença aparece de forma esporádica. Os testes sorológicos e virológicos efetuados mostram que nessa região a doença ocorre nos javalis de maneira oscilante. Foram observados picos de epidemias durante dois anos, mas a amplitude desses picos tendia a diminuir de ano em ano (LADDOMADA, 2000).

Nesse contexto, um estudo sorológico foi realizado entre 1991-1998 na França com o objetivo de avaliar o estado sorológico de javalis em contato com o CSFV em zonas além da área infectada. Mil a 2.700 amostras de soro de javali foram testadas por ano somando um total de 12.025 amostras durante todo período de estudo. Os soros foram coletados por caçadores durante a estação de caça, ou por veterinários em fazendas de javalis. O número de departamentos testados variou entre 20 e 25 ao longo do estudo, sendo que, em média, durante todo o período, 36 departamentos foram testados (um terço dos departamentos franceses). A distribuição da população de javalis não variou ao longo do estudo, no

entanto, o número de javalis aumentou de ano em ano, sendo registrados na França 300.000 em 1991, 400.000 em 1993, 475.000 em 1995 e 640.000 em 1997 (ALBINA et al., 2000). A técnica sorológica utilizada nesse estudo foi um ELISA de competição. O antígeno utilizado para o teste foi preparado a partir de culturas celulares infectadas com a cepa Alfort do CSFV. Dadas as reações cruzadas comuns entre os pestivírus, as amostras de soro positivas foram testadas novamente com um ELISA de bloqueio utilizando desta vez um antígeno preparado a partir de culturas celulares infectadas pelo BDV. Das 2025 amostras testadas, 80 foram positivas para anticorpos contra CSFV: 66 provenientes da região infectada ao leste da França, coletadas entre 1992 e 1994; 10 provenientes da Córsega, coletadas entre 1994 e 1996; e os quatro últimos soros foram detectados posteriormente como sendo falsos positivos. Ao todo, foram 76 soros verdadeiramente positivos provenientes tanto de animais de caça quanto de fazendas (ALBINA et al., 2000).

Na Itália, foram registrados anticorpos contra o vírus em javalis na Toscana (nas províncias de Grosseto, Siena, Livorno, Pisa, Massa-Carrara), na Sardenha e na Lombardia (na província de Varese) (LADDOMADA, 2000).

Na Sardenha, o CSFV surgiu em 1983 ao mesmo momento em que uma grande epidemia foi registrada nos países baixos, na Alemanha e na península italiana. O vírus foi registrado em javalis nessa ilha de 24.000 km<sup>2</sup> em duas áreas distintas, uma de 3.000 km<sup>2</sup> localizada na parte leste da ilha (província de Nuoro), a outra um pouco menor de 1.200 km<sup>2</sup> localizada na parte oeste. Apesar da densidade relativamente grande de javalis na Sardenha (de dois a três indivíduos por km<sup>2</sup>) e da ausência de barreiras geográficas significativas, o CSFV parece estar confinado a essas duas áreas infectadas (LADDOMADA, 2000).

Os vírus isolados dessas duas áreas da Sardenha são geneticamente diferentes, o que sugere que sua introdução na população de javalis local assim como a evolução da doença se deu de maneira independente.

Na província de Nuoro, suínos domésticos coabitam com javalis silvestres. É uma região onde a doença ocorre de maneira endêmica, tanto nos porcos como nos javalis. Nessa província, foram encontrados quatro javalis mortos infectados pelo CSFV entre 1984 e 1985, dez entre 1986 e 1987, cinco entre 1988 e 1989 e dois entre 1990 e 1991. Sendo

assim, esses dados sugerem um pico de epidemia durante os anos 1986 e 1987 (LADDOMADA, 2000).

Outro estudo sorológico realizado na Sardenha entre dezembro de 1988 e janeiro de 1992 com 4752 amostras de soro de javalis coletadas de diferentes províncias da Sardenha (em sua maioria, da província de Nuoro), utilizando um teste de ELISA competitivo com anticorpos específicos para CSFV, demonstrou que a soroprevalência entre os javalis foi de 11% em média. No entanto, foram observadas variações ano após ano assim como durante a estação de caça de 1988-1989, 17,6% dos javalis testados foram positivos. Ao contrário, durante a estação de caça de 1990-1991, somente 9,6% dos javalis foram positivos. Além disso, após o pico de 1988-1989, a soroprevalência entre os javalis durante os três anos seguintes se manteve estável por volta de 9,8%.

Dos 1.424 soros coletados durante a estação de caça de 1991-1992, 330 provenientes das outras três regiões da Sardenha (Sassari, Oristano, Cagliari), 17 apresentaram resultado positivo (somente 5,2%).

Se compararmos os resultados obtidos com a idade estimada dos javalis nota-se que a porcentagem de animais soropositivos aumenta com a idade. Isso significa que a probabilidade de infecção pelo CSFV é constante com a idade, mas que os javalis permanecem soropositivos ao longo de sua vida.

Além disso, nenhuma diferença significativa foi observada entre machos e fêmeas durante esse estudo (LADDOMADA et al., 1994).

Um outro estudo realizado na Itália em 1999 na região do alto vale de Sussa com diversas espécies de artiodáctilos silvestres, dentre os quais 56 eram javalis, evidenciou a presença de anticorpos contra pestivírus em sete indivíduos, resultando em uma de 12,5% (OLDE RIEKERING et al, 2005).

Na Áustria, evidências de infecção por CSFV foram registradas em javalis das regiões de Kornenburgh, Mistelbach, Hollabrunn, Horn e Zweetl (LADDOMADA, 2000).

Na Suíça essa doença foi igualmente registrada em javalis, ela se estendia da região de Varesi até a Itália (LADDOMADA, 2000).

Na Croácia, uma grande prevalência de anticorpos contra CSFV (39%) foi encontrada em javalis em 2000 (ZUPANCIC et al., 2002).

Enfim, nos Países Baixos, constatou-se que a presença de anticorpos contra CSFV em javalis é rara (ELBERS et al., 2000).

Os anticorpos contra CSFV não foram reportados em outras espécies de animais silvestres (LADDOMADA, 2000).

### 3.1.2 BVDV e BDV

Diversos estudos demonstraram a presença de anticorpos contra o BVDV em numerosas espécies silvestres, entre cervídeos, bóvidos, camelídeos, antilocaprídeos, girafídeos e tragulídeos: *Cervus elaphus* (LAWMAN et al., 1978; MCMARTIN et al., 1977), *Odocoileus hemionus* (COUVILLON et al., 1988), *Odocoileus virginianus* (KARSTAD, 1981) *Capreolus capreolus* (BARADEL et al, 1988), *Taurotragus oryx* (HAMBLIN; HEDGER, 1979), *Dama dama* (KARSTAD, 1981 ; LAWMAN et al, 1978 ; GIOVANNINI et al, 1988) e *Rangifer tarandus* (ELAZHARY et al, 1978, 1981), *Vicugna pacos* (RIVERA et al, 1987), *Lama glama* (PUNTEL et al, 1999), *Lama guanicoe* e *Vicugna vicugna* (CELEDON et al, 2001), *Oryx dammah* (FROLICH e FLACH, 1998), *Antilocapra americana* (DOYLE; HEUSCHELE, 1983), *Rupicapra rupicapra* (BARADEL et al, 1988), *Ovis aries orientalis* (PARKS; ENGLAND, 1974; TURNER; PAYSON, 1982), *Bison bonasus* (HAMBLIN; HEDGER, 1979), *Giraffa camelopardalis* (HAMBLIN; HEDGER, 1979; KARSTAD, 1981).

Os anticorpos anti-BVDV são, portanto encontrados em muitas outras espécies de animais silvestres majoritariamente da África e da América (DEPNER et al, 1991; DOYLE; HEUSCHELE, 1983; HAMBLIN; HEDGER, 1979; MOTHA; THAM, 1992).

Estudos utilizando a pesquisa de anticorpos contra pestivírus e com o isolamento viral só se intensificaram nos últimos anos.

#### 3.1.2.1 Cervídeos

Em 1988, um estudo foi realizado na Alemanha a fim de avaliar a prevalência de anticorpos contra BVDV em cervídeos. Ao sul da Alemanha Ocidental, 6,6% dos cervos e 5,9% das corças testados apresentaram resultados positivos, no entanto, na Alemanha Oriental, somente 0,6% dos cervídeos testados eram soropositivos (DEDEK et al, 1988).



Outro estudo, também na Alemanha entre 1990 e 1992, cujo objetivo era avaliar a soroprevalência em cervídeos silvestres e cativos, analisou 355 amostras de soro provenientes de diversas espécies de cervídeos (FROLICH, 1995). Dessas 355 amostras, 123 eram de corças, 60 de cervos, 87 de gamos e mais 85 amostras de outras espécies de cervídeos. Os animais eram provenientes de três reservas de caça (em Schleswig-Holstein, na floresta de Berlim e na Bavária), de nove reservas naturais situadas na região de Schleswig-Holstein e Bavária e do zoológico de Berlim. Os cervídeos, cuja idade estimada era inferior a dois anos, eram considerados nesse estudo como juvenis e os demais como adultos. A presença de anticorpos contra o BVDV neste estudo foi detectada através do teste de soroneutralização para o qual foram utilizadas duas cepas de BVDV (Grub 313/83 e NADL) e uma cepa citopática de BDV. Dentre as 355 amostras de soro testadas 17 se mostraram positivas para a presença de anticorpos anti-BVDV e uma para anti-BDV (proveniente de uma corça macho adulto), somando 5% de soroprevalência. Dentre as 94 amostras da região de Schleswig-Holstein, sete foram positivas (7,4%), dentre as 44 amostras da Bavária, quatro foram positivas (9%) e enfim, das 42 amostras da reserva de caça de Berlim, três foram positivas (7,1%). Não houve diferença estatística significativa entre as prevalências das três reservas de caça. Doze de 123 corças testadas foram positivas (9,8%), somente um dos 97 gamos (1,15%) e três dos 60 cervos (5%). Existem, no entanto, significativamente mais corças soropositivas do que gamos quando consideramos todas regiões testadas na Alemanha. Nove das 61 corças juvenis testadas foram positivas (14,7%) contra dois dos 62 adultos (3,2%). Existem então significativamente mais corças juvenis soropositivas do que adultos. Nenhuma diferença significativa foi observada entre machos e fêmeas. Além disso, 14 dos 180 cervídeos que viviam em liberdade foram considerados soropositivos (7,7%), mas somente quatro dos 174 cervídeos cativos (2,3%). Existe, portanto, significativamente mais cervídeos soropositivos que vivem em liberdade do que cervídeos soropositivos cativos, o que indica a possibilidade de existir um reservatório natural do vírus entre a fauna silvestre (FROLICH, 1995).

Na República Tcheca, 372 amostras de soro de cervídeos foram coletadas durante o período de 1999 e 2006 de 14 regiões diferentes do país, 305 amostras eram de cervos, quatro de cervos-sika-do-Japão e 63 de gamos. A pesquisa por anticorpos contra BVDV e BDV foi realizada através de ELISA e demonstrou baixas prevalências entre esses animais

pois, das quatro espécies analisadas, apenas entre os cervos foi possível observar a presença de anticorpos e, ainda assim, em somente dois dos 305 indivíduos (0,6%) (SEDLAK et al., 2010)

Na Península Ibérica, durante as estações de caça de 2000-2001 até 2008-2009, foram amostradas 519 corças de oito diferentes populações da região. Através de ELISA sanduiche para anticorpos contra BVDV e BDV, foi possível detectar oito amostras positivas entre 519 (1,4%) (BOADELLA et al., 2010).

Na Dinamarca, um estudo virológico foi realizado a fim de avaliar a prevalência do BVDV em cervídeos (NIELSEN et al, 2000). Esse estudo foi feito em dois períodos entre 1995 e 1996, e entre 1998 e 1999. Ao todo foram testadas 476 amostras de soro, 207 durante o primeiro período e 269 durante o segundo. Os animais selecionados era oriundos de zonas onde a prevalência da infecção persistente pelo BVDV em rebanhos bovinos era relativamente alta. O método de detecção antigênico utilizado foi ELISA de captura. Durante o período de 1995 e 1996, 149 corças, 29 gamos, 20 cervos, um cervo Sika do Japão e oito outros cervídeos foram testados. Somente soros de cervos apresentaram resultado positivo. Durante o período de 1998 e 1999, 212 corças e 57 cervos foram testados e somente um soro de cervo apresentou resultado positivo assim, a população de cervídeos na Dinamarca não é considerada um reservatório de BVDV (NIELSEN et al, 2000).

Na Noruega, um estudo similar foi realizado com 3.796 amostras de soro de cervídeos coletadas durante o período de 1993 a 2000 (LILLEHAUG et al, 2003). Nesse estudo foram utilizados dois testes sorológicos, soroneutralização e/ou ELISA e 12,3% das corças, 4,2% das renas, 2% dos alces e 1,1% dos cervos apresentaram anticorpos contra BVDV. Isso demonstra que a infecção é de natureza endêmica entre renas e corças, mas a caracterização viral indicou que os pestivírus infectantes dessas duas espécies de cervídeos parecem ser específicos às espécies hospedeiras. Por outro lado a infecção pelo BVDV em cervos e alces, parece ter origem no contato com outras espécies de ruminantes (LILLEHAUG et al, 2003).

Outro estudo similar realizado recentemente também na Noruega testou 43 amostras de renas. Dessas 43, três amostras apresentaram resultado inconclusivo, e das 40 amostras

restantes, 14 apresentaram resultado positivos para anticorpos contra BVDV (TRYLAND et al., 2005).

Amostras de soro de uma espécie de bovívdeo e duas de cervívdeos que viviam em semi-liberdade no parque de Wipsnade na Inglaterra foram coletadas entre 1973 e 1994. A presença de anticorpos contra três cepas de BVDV foi pesquisada por soroneutralização em 37 amostras provenientes de orix-cimitarra, 49 de cervos-do-padre-david e 144 de veado-d'água-chinês, dentre as quais 13,1% apresentou resultado positivo para, no mínimo, três cepas de BVDV utilizadas (FROLICH e FLACH, 1998).

Em contraste, na Áustria, no período de 2001 a 2002, de 149 cervívdeos testados somente um cervo, havia tido contato com BVDV tipo 1. As amostras foram coletadas de uma reserva de caça em uma fazenda de gamos ao sul da Áustria, no entanto, 59 dessa amostras era de soro de cervo, 77 de corças, 4 de gamos e 5 de camurças. Foram utilizados os testes de soroneutralização e ELISA. Os anticorpos foram dirigidos contra três cepas de BVDV e uma de BDV (KRAMETTER et al, 2004).

Amostras provenientes de 43 gamos que viviam em semi-liberdade em uma reserva de Saint Rossore na Toscana, Itália, foram coletadas em 1983 e 1984. Alta prevalência foi observada uma vez que 25 dos 43 gamos foram diagnosticados como sendo soropositivos (58%). Em contraste, nenhuma diferença significativa de idade ou sexo foi observada. O teste utilizado foi o de soroneutralização utilizando a cepa C24V Oregon de BVDV e o ponto de corte foi um título de 4 (GIOVANNINI et al, 1988).

No entanto, outro estudo realizado na Itália com diversas espécies de artiodáctilos na região do Alto Vale de Susa, no qual 73 corças e 136 cervos foram amostrados, demonstrou que as corças eram todas soronegativas e 5,9% dos cervos eram soropositivos. Para esse estudo, foi utilizado ELISA com a proteína NS3 do BVDV (OLDE RIEKERING et al, 2005).

Em 1978 e 1979, estudos sorológicos foram realizados com renas do norte do Quebec a partir de 30 amostras de soro coletadas em 1978 e 28 coletadas em 1979. Os animais testados eram provenientes da caça e tinham entre 1,5 e 10,5 anos de idade (a estimativa de idade foi baseada na dentição). Essas renas não possuíam nenhum contato com ruminantes domésticos há 25 anos. A metodologia sorológica utilizada foi a

soroneutralização. Uma forte soroprevalência foi observada nos dois anos de estudo, 69,3% em 1978 e 60,7% em 1979 (ELAZHARY et al, 1981).

Em contraste, durante um estudo realizado entre 1985 e 1987 com veados-de-cauda-branca que habitavam a ilha Anticosti no Quebec, nenhum animal se revelou positivo para o contato com BVDV. Esse estudo analisou 396 amostras de soro através do teste de soroneutralização (SADI et al, 1981).

### 3.1.2.2 Bovídeos

Nos Estados Unidos, um estudo sorológico foi realizado entre novembro de 1991 e março 1992 com 101 amostras de bizão-americano que viviam em liberdade no Parque de Yellowstone (Wyoming). Uma forte prevalência foi observada, pois 31% dos bizões apresentaram anticorpos contra BVDV após um teste de soroneutralização (SHARON et al, 1997).

Um estudo similar realizado na Europa com bizão-europeu da floresta de Balowieza na Polônia evidenciou uma fraca prevalência de anticorpos contra BVDV nessa população, pois somente dois indivíduos dos 261 testados (5,22%) foram soropositivos (BORCHERS et al, 2002).

Estudos sorológicos foram realizados com outras espécies de bovídeos na Europa particularmente com camurças nos Alpes e com camurças-dos-Pirineus. No início do ano 2000, foram coletadas 200 amostras de soro de camurças-dos-Pirineus na região dos Pirineus centrais na Espanha e França. A fim de avaliar a soroprevalência contra BVDV nessa população, foi utilizado um teste de ELISA e observou-se uma prevalência moderada de 36 amostras de soro positivas entre 200 (16,5%) (ARNAL et al, 2004).

Outro estudo sorológico realizado nos altos vales de Susa na Itália em 1999 com diversas espécies de artiodáctilos dentre os quais 110 eram camurças revelou uma prevalência elevada de anticorpos contra BVDV nessa população uma vez que 28 desses indivíduos (25,5%) possuíam anticorpos contra a proteína NS3 do BVDV (OLDE RIEKERING et al, 2005).

### 3.1.2.3 Camelídeos

Alguns estudos sorológicos foram realizados na América Latina a fim de avaliar a prevalência de anticorpos contra BVDV em camelídeos.

No Perú, em 1977, um estudo sorológico foi realizado com 117 alpacas. Uma prevalência moderada foi registrada entre os animais testados, pois 11,1% dos indivíduos possuíam anticorpos contra o BVDV (RIVERA et al, 1987).

Mais tarde, um estudo realizado na Argentina com 390 lhamas evidenciou anticorpos contra o BVDV em somente 2% dos animais testados (PUNTEL et al, 1999).

No Chile, um estudo similar foi realizado com ovinos, cabras, alpacas, lhamas, guanacos e vicunas. Apresentaram resultados positivos 8 das 74 alpacas (10,8%), 6 das 43 lhamas (14%). No entanto, os 48 guanacos e as 34 vicunas não apresentaram anticorpos contra BVDV (CELEDON et al, 2001).

### 3.1.2.4 Antilocaprídeos

Os antilocaprídeos são igualmente sensíveis aos pestivírus. Sendo assim um estudo realizado nos Estados Unidos entre 1975 e 1977, buscou avaliar a prevalência de anticorpos contra BVDV em uma população de antílocabras (ou antílopes Pronghorn) a partir de 143 amostras de soro, dentre as quais 102 eram provenientes de indivíduos adultos e 41 provenientes de juvenis, através de soroneutralização. Somente duas amostras apresentaram resultado positivo e ambas eram de animais adultos (ERIK-H et al, 1980).

### 3.1.2.5 Animais silvestres de cativeiro

Em 1973, um estudo foi realizado em diferentes zoológicos dos EUA a fim de avaliar a soro prevalência dos animais silvestres cativos com relação ao BVDV (DOYLE et al, 1983). Foram testadas 1.905 amostras de soro pertencentes a 104 espécies diferentes. Anticorpos anti-BVDV foram registrados em 174 amostras provenientes de 50 espécies diferentes, representando 9,1% de soroprevalência. No entanto, cinco dos zoológicos testados haviam realizado procedimento de vacinação contra BVDV anteriormente. Quando as amostras provenientes desses zoológicos foram desconsideradas, restaram 60 indivíduos positivos entre 1.390 (4,3%).

### 3.1.2.6 Animais silvestres da África

Um estudo sorológico foi realizado entre 1963 e 1968 na África a fim de avaliar a prevalência de anticorpos contra BVDV em animais silvestre (HAMBLIN et al, 1979).

Foram analisadas 3.359 amostras de soro de 45 espécies de animais silvestres provenientes de nove países africanos: Botswana, Rodésia, África do Sul, Zâmbia, Chade, Quênia, Tanzânia e Uganda.

Os anticorpos neutralizantes contra BVDV foram pesquisados por soroneutralização. Títulos significativos foram registrados em amostras de 17 espécies: búfalo-africano, niala, cudo, alce, cob-untuoso, pucu, cob-leche, adax, órix, topi, gnu, cabra-de-leque, girafa, javali-africano e veado-do-cabo.

Os resultados positivos foram obtidos em sete dos nove países. Nenhum soro positivo foi registrado no Quênia nem na Tanzânia, porém o número de amostras coletadas nesses países foi relativamente pequeno (108 e 11 respectivamente).

Em Botswana, uma população restrita de búfalos-africanos foi regularmente analisada entre 1965 e 1976 a fim de se estudar a evolução da prevalência dos anticorpos contra BVDV nesses animais. Os testes de soroneutralização revelaram a presença de anticorpos em grande proporção nesta população durante todo período de estudo (12 anos) (HAMBLIN et al, 1979). Esses dados indicam a existência de infecção e a persistência de anticorpos durante um longo período. Da mesma forma, as demais amostras para o estudo foram coletadas de diferentes regiões da África durante um período de 15 anos e indicaram que a infecção é extremamente generalizada no território africano e que ela existe há muito tempo. Além disso, a distribuição e o título de anticorpos registrados nesse estudo sugerem que certas espécies selvagens podem servir de reservatórios naturais para o vírus.

Mais tarde, em 1991, um estudo similar foi realizado na Namíbia com dez espécies de ruminantes selvagens. Os anticorpos contra BVDV foram evidenciados por soroneutralização em sete dessas dez espécies, apresentando prevalências elevadas, superiores a 40% em cudós, alces e girafas (DEPNER et al, 1991).

### 3.2 Isolamento viral

O isolamento viral a partir de amostras de animais silvestres é utilizado para complementar os estudos sorológicos, confirmar um quadro infeccioso e para análise das possíveis diferenças entre cepas provenientes de diferentes espécies.

Além disso, o isolamento viral a partir de amostras de animais silvestres é necessário para o esclarecimento das possíveis transmissões inter-específicas envolvendo animais domésticos e de vida-livre. No entanto, é preciso considerar que pestivírus podem ser importantes contaminantes de componentes usados no cultivo celular. Esse fato deve ser levado em conta especialmente com relação a estudos mais antigos sobre o assunto.

Pestivírus contaminam uma grande gama de linhagens celulares de mamíferos que são utilizadas para o cultivo do vírus. O soro fetal bovino usado como suplemento de meios de cultivo é frequentemente uma fonte indesejável de BVDV, pois pode ser proveniente de animais refugos e possíveis portadores do vírus. As contaminações cruzadas entre diversas amostras de origem bovina contaminadas que são processadas em um laboratório também são frequentes (VILCEK, 2006).

#### 3.2.1 Isolamento de CSFV

Os porcos domésticos não são os únicos suscetíveis à infecção pelo CSFV. Dados sorológicos comprovam que javalis silvestres também podem ser infectados (DEPNER, 1995; LADDOMADA, 2000).

Isolados de CSFV similares aos provenientes de amostras de suínos domésticos foram relatados a partir de amostras de javalis de diferentes regiões da Europa, como por exemplo, na Áustria, República Tcheca, França, Alemanha, Itália, Eslováquia e Suíça (BARTAK et al., 2000 ; BIAGETTI et al., 2001 ; FRITZEMEIER et al., 2000 ; JEMERSIC et al., 2003 ; LADDOMADA et al., 2000 ; LOWINGS et al., 1999 ; STADEJEK et al., 1997) e foram diretamente associadas a surtos de CSFV em porcos domésticos.

Em 1982, uma cepa citopática relativamente rara de CSFV foi isolada de um javali silvestre no Japão (AOKI et al., 2001).

### 3.2.2 Isolamento do pestivírus “Giraffe”

O pestivírus mais interessante isolado até agora talvez seja o isolado a partir de uma girafa no distrito de Nanyuki no Kenia. Esse animal apresentava sinais clínicos semelhantes aos associados com a infecção por BDV. A cepa foi isolada em 1967 e justamente denominada de pestivírus Giraffe (PLOWRIGHT, 1969). Sua análise filogenética a diferenciou dos outros pestivírus e atualmente está sendo considerada como uma espécie viral provisória.

Mais tarde, em 1990, uma outra cepa de pestivírus, a PG-2, foi isolada na África a partir de um cultivo celular bovino. Esta cepa de origem desconhecida viria a ser identificada como similar ao pestivírus Giraffe (BECHER et al., 2003).

### 3.2.3 Isolamento de BVDV e BDV

O BVDV foi isolado de diversas espécies silvestres. Por exemplo, em 1979, foi isolado a partir do baço de um cervo de seis meses de idade na Escócia. Esse animal veio a óbito 24 horas após um quadro clínico agudo. O significado clínico da infecção pelo vírus no caso desse animal ainda é de difícil explicação, no entanto é improvável que somente o BVDV fosse o responsável pela morte do animal, mas ele pode ter tido papel fundamental (NETTLETON et al., 1980).

Além disso, uma cepa CP de BVDV foi isolada em 1991 a partir de amostras de baço provenientes de duas corças (uma fêmea adulta e um macho juvenil) ao norte da Alemanha. Os testes de soroneutralização não revelaram a presença de anticorpos anti-BVDV, mas um teste de imunofluorescência direta indicou a presença do vírus em ambas as amostras e as partículas virais foram ainda demonstradas por microscopia eletrônica.



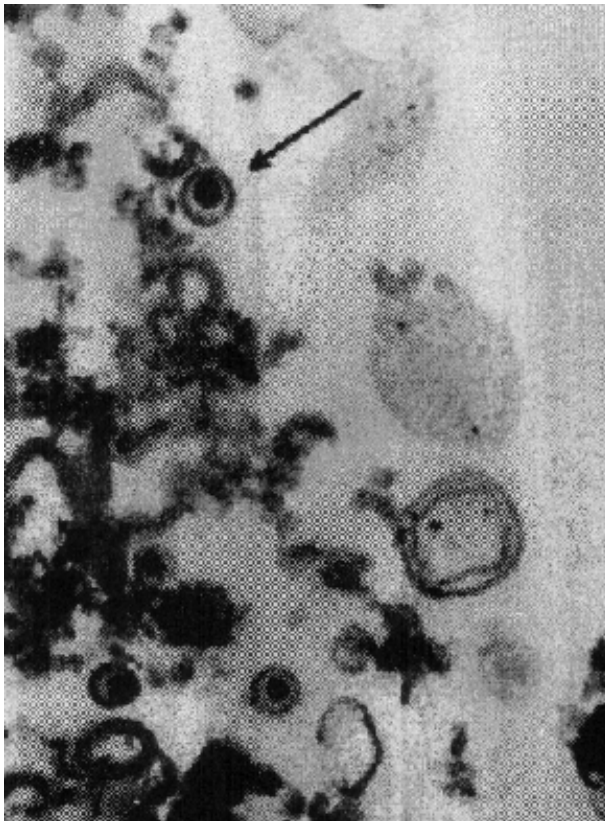


Figura 3 - Imagem de microscopia eletrônica de isolados de corças  
Fonte: Frolich; Hofmann,1995.

Posteriormente, testes de amplificação do genoma viral por RT-PCR permitiram a confirmação desses dois isolados como pertencentes ao gênero *Pestivirus* (FROLICH; HOFFMAN, 1995).

No entanto, o BVDV foi também isolado de outras espécies silvestres como: renas (BECHER et al., 1999), bisões-europeus (BECHER et al., 1999), bisões-canadenses (DEREGT et al., 2005), alces (VILCEK et al., 2000), lhamas (BELKNAP et al., 2000), cervos-mula (VAN CAMPEN et al., 2001), trágulos (GRONDAHL et al., 2003), alpacas (GOYAL et al., 2002), camurças (ARNAL et al., 2004), antilocapras (VILCEK et al., 2005), pudus (PIZARRO-LUCERO et al., 2005).

Os pestivírus foram igualmente isolados durante epidemias ocorridas em ruminantes silvestres cativos em reservas e animais silvestres de vida-livre, como corças, gamos, búfalos-africanos, girafas e gnus. No entanto, em todos os casos a contribuição do vírus com a doença é de difícil explicação (NETTLETON, 1990).

Além disso, as cepas NCP de BVDV foram isoladas a partir de dois gnus, um nilgó, um chital e um cervo-do-pantanal cativos de zoológicos dos EUA (DOYLE; HEUSCELE, 1983). O BVDV foi isolado de uma fêmea adulta de gnu no zoológico de San Diego e de um macho adulto do zoológico de Franklin. No entanto, o nilgó, o chital e o cervo-do-pantanal, dos quais também foi isolado o vírus, eram animais juvenis do parque de San Diego. Os três animais apresentavam sinais de febre, ceratite e depressão. O vírus da febre catarral maligna também foi isolado desses animais tornando assim mais difícil a compreensão da ligação do pestivírus com o quadro clínico. Ainda assim é possível sugerir que o pestivírus diminua a imunidade dos animais favorecendo a infecção por outro agente (DOYLE; HEUSCELE, 1983).

### **3.3 Infecções experimentais**

Apesar da presença dos pestivírus e de anticorpos anti-pestivírus já terem sido evidenciadas em diversas espécies silvestres, na maioria dos casos, o papel do vírus como agente causal de doenças permanece desconhecido.

Esse quadro pode ser revertido através de experimentos de infecção experimental com determinado isolado na mesma espécie ou, pelo menos, em espécie da mesma família, a partir da qual foi obtido (VILCEK; NETTLETON, 2006). Tais experimentos permitem estudar o quadro clínico e as lesões induzidas pelos pestivírus em animais silvestres.

#### **3.3.1 Transmissão transplacentária**

A transmissão transplacentária de CSFV seguida do nascimento de leitões portadores do vírus foi reproduzida em javalis (BRUGH et al., 1964; DEPNER et al., 1995).

Uma fêmea de javali gestante foi infectada experimentalmente através da inoculação intranasal com uma cepa isolada de suínos domésticos. Após a inoculação, a fêmea não desenvolveu sinais clínicos, no entanto foi registrada a sua soroconversão. A fêmea deu à luz a seis leitões saudáveis 28 dias após a inoculação. Porém, um dos recém nascidos apresentou um quadro virêmico e morreu aos 39 dias e, exceto pelo seu retardo no crescimento, nenhum sinal clínico foi observado nesse indivíduo. Os demais leitões permaneceram não-virêmicos e saudáveis, mesmo assim, elevados títulos de anticorpos

anti-CSFV foram registrados. Sendo assim, todos os resultados obtidos nessa experiência estão mais ou menos de acordo com as observações das infecções naturais por CSFV entre 85 e 97 dias de gestação em suínos domésticos ou infecções experimentais com a mesma cepa em questão (DEPNER et al., 1995).

A infecção experimental de suínos domésticos e silvestres com a cepa de baixa virulência Spante, isolada de um javali silvestre, confirmou um quadro de viremia transitória com excreção viral através de secreções nasais, leucopenia leve e soroconversão nos suínos, mas nenhum javali tornou-se virêmico, secretou o vírus ou soroconverteu (KADEN et al., 2000).

A imunização via oral de javalis silvestres contra CSF na Alemanha com a cepa C do CSFV resultou em uma taxa de soropositivos de 49,2% que aumentou para 72% após a terceira dose da vacina. Esse ensaio de campo demonstrou que a imunização oral de suínos silvestres pode ser uma ferramenta adicional para o controle da CSF (KADEN et al., 2002, 2003).

### 3.3.2 Tempo de incubação

Tempos de incubação de oito a vinte e quatro dias foram observados durante infecções experimentais em animais silvestres. Onze dias em uma antílocapra, onze dias em um cervo, vinte e quatro dias em um cervo-mula e dez dias em um veado-de-cauda-branca (RICHARDS, 1956)

### 3.3.3 Sinais clínicos

Certas infecções experimentais foram acompanhadas de sinais clínicos gerais e/ou localizados, no entanto a maioria não foi seguida de sinal clínico algum.

Diversos sinais gerais não-específicos foram observados em diversas espécies de animais silvestres experimentalmente infectados, como depressão, enfraquecimento, inapetência, emagrecimento e emaciação, prurido e prostração (RICHARDS, 1956; ROMVARY, 1965).

Quanto aos sinais localizados, foram observados sinais digestivos, como diarreia, ptialismo e tenesmo, sinais respiratórios, como tosse e ressecamento do focinho, sinais cutâneos, como pele ressecada e enrugada e sinais locomotores (RICHARDS, 1956).

Todavia, na maioria das infecções experimentais mais recentes não foram observados sinais clínicos nos indivíduos infectados.

Quando uma cepa de BVDV-1a isolada de um bisão-canadense manco de 1 mês de idade foi inoculada experimentalmente via intranasal em três bezerros, foram observados apenas leves sinais de febre e leucopenia (DEREGT et al., 2005).

A infecção de lhamas com uma cepa de BVDV-1b, isolada de um animal da mesma espécie demonstrou que os animais podem se infectar e não apresentar nenhum sinal clínico aparente (WENTZ et al., 2003).

A infecção experimental via intranasal de cervos-mula e veados-de-cauda-branca com uma cepa bovina de BVDV-1 confirmou que tais espécies são suscetíveis a infecção, porém, nesse experimento, nenhum animal apresentou sinais clínicos associados (VAN CAMPEN et al., 1997).

A infecção experimental de alces com cepas bovinas de BVDV-1 e BVDV-2 demonstrou viremia, corrimento nasal e soroconversão, porém, sem apresentar outros sinais clínicos associados com a doença (TESSARO et al., 1999).

#### **4 ANÁLISE FILOGENÉTICA DE PESTIVÍRUS ISOLADOS DE ANIMAIS SILVESTRES**

A aplicação de métodos moleculares e genéticos, como a RT-PCR e o sequenciamento de nucleotídeos associado com sistemas de análise filogenética computadorizados contribuíram significativamente para a identificação de novas cepas de pestivírus e de seus genótipos.

Dessa forma, puderam-se dividir os pestivírus de animais domésticos em três espécies: o CSFV, o BVDV e o BDV (PATON, 1995).

O dramático episódio do surto de BVDV em vacas nos EUA e no Canadá no final dos anos 1980 permitiu a identificação de uma nova espécie viral: o BVDV-2 (PELLERIN et al., 1995; RIDPATH et al., 1994). Dessa forma, o BVDV clássico foi renomeado para BVDV-1.

Um estudo sobre as seqüências de nucleotídeos de isolados de BVDV-1 coletados de diferentes regiões do mundo revelou que esta espécie pode ser dividida em onze subgrupos: BVDV-1a até BVDV-1k (VILCEK et al., 2001). Da mesma forma, o BVDV-2 pode ser dividido em três subgrupos, o BDV em quatro (BDV1, BDV2, BDV3 e BDV4 ou pestivírus Chamois) e o CSFV em três subgrupos.

A taxonomia dos pestivírus é problemática, pois, atualmente, somente quatro espécies são reconhecidas: BDV, CSFV, BVDV-1 e BVDV-2. Em alguns casos, o pestivírus Giraffe também é considerado uma tentativa de espécie (THIEL et al., 2005)

A princípio, as espécies de pestivírus eram classificadas de acordo com quatro critérios principais: apresentação clínica, espécie do hospedeiro de origem, reatividade sorológica cruzada e homologia entre as seqüências de nucleotídeos. Porém, alguns desses métodos apresentavam certas incongruências.

Portanto, a apresentação clínica deixou de ser um critério de diferenciação, pois pesquisas subseqüentes revelaram que, dentro de uma mesma espécie, pode haver cepas de diferentes níveis de virulência e que diferentes espécies virais poderiam originar os mesmos sinais clínicos em uma mesma espécie hospedeira (por exemplo, malformações congênitas causadas tanto pela infecção com BVDV quanto pela infecção por BDV em ovinos) (RIDPATH, 2008).

O critério de diferenciação com relação ao hospedeiro de origem é problemático visto que os pestivírus não são espécie-específicos e o critério que leva em conta as características antigênicas não é mais utilizado frente à baixa reatividade cruzada entre as espécies de pestivírus ou mesmo entre diferentes isolados de uma mesma espécie (FLORES, 2007).

À medida que novos isolados iam sendo obtidos e à medida que as ferramentas de análise molecular foram se aperfeiçoando, diferentes genótipos foram sendo caracterizados e, por isso, atualmente, a comparação entre as seqüências de nucleotídeos é o critério mais seguro para a classificação dos pestivírus.

Em vista do estado taxonômico incerto de vários pestivírus, o termo espécie viral pode ser utilizado para descrever os quatro grupos reconhecidos mais o Giraffe.

O termo genótipo pode ser utilizado para descrever grupos que formem um ramo significativo na árvore filogenética gerada pela análise das seqüências de nucleotídeos.

Genogrupo ou grupo ou subtipo são termos utilizados para designar um pequeno agrupamento dentro de um genótipo. No entanto a descrição de genogrupos não tem muita aplicação prática e sua principal função é taxonômica inferindo na epidemiologia molecular (VILCEK; NETTLETON, 2006).

#### **4.1 Genotipagem de isolados de CSFV**

A alta importância econômica do CSFV em suínos desencadeou pesquisas não apenas sobre seus tipos antigênicos, mas também sobre os diferentes genótipos dos diversos isolados de diferentes regiões do mundo (EDWARDS; SANDS, 1990).

A primeira tentativa utilizou a análise da região 5'UTR do genoma viral para demonstrar o agrupamento dos pestivírus em CSFV, BVDV e BDV (HOFFMAN et al., 1994) e a caracterização mais precisa ao nível genético analisando as regiões E2 e NS5b amplificadas por RT-PCR sugeriu que isolados de CSFV podem ser divididos em genogrupo 1 com dois subgrupos 1.1 e 1.2 e genogrupo 2 com subgrupos 2.1, 2.2 e 2.3 além de duas outras cepas distintas (LOWINGS et al., 1996). Uma nova nomenclatura, baseada na análise das três regiões, 5'UTR, E2 e NS5b, dividiu CSFV em três genogrupos cada um com três ou quatro subgrupos: 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, 2.3, 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4. (PATON et al., 2000).

As cepas isoladas de javalis na Europa foram caracterizadas como sendo pertencentes aos grupos 2.2 e 2.3 (BARTAK, 2000; BIAGETTI et al., 2001; FRITZEMEIER et al., 2000; LOWINGS et al., 1999; STADEJEK et al., 1997). Um isolado identificado como pertencente ao subgrupo 2.1 foi identificado como um contaminante de carne de javali importada da China para a Áustria em 1993 (HOFFMAN; BOSSY, 1998).

A genotipagem detalhada de isolados de CSFV, inclusive dos isolados de javali, contribuíram significativamente para o desenvolvimento de estudos com epidemiologia molecular da CSF e ajudando programas de erradicação (VILCEK; NETTLETON, 2006).

A seqüência de nucleotídeos da rara cepa citopática de CSFV isolada de javali revelou que esse vírus está associado com partículas defectivas interferentes que contêm RNA subgenômico (DI), genoma viral com deleção de 4764 nucleotídeos da região Npro até a NS2 e uma cepa não citopática atua como *helper* para a replicação de tais partículas (AOKI et al., 2001).

#### **4.2 Genotipagem de isolados de BVDV**

A genotipagem de cepas de BVDV proporcionou uma visão mais clara da ocorrência do vírus em populações de animais silvestres.

Um isolado de búfalo foi classificado como BVDV-1 (BECHER et al., 1997) bem como um isolado de alce (VILCEK et al., 2000).

Um isolado de trágulo foi classificado como BVDV-1 (FISCHER et al., 1998) e, posteriormente, como BVDV-1d (BECHER et al., 1999), enquanto que um isolado de bongo foi alocado no genogrupo BVDV-1b (BECHER et al., 1999).

O BVDV-1 foi isolado de dois bisões-canadenses de rebanhos distintos e um deles pertencia ao genogrupo BVDV-1a e outro ao BVDV-1b (DEREGT et al., 2005).

Na Nova Zelândia, um isolado de cervo foi alocado no grupo BVDV-1c (BECHER et al., 1999), mas um isolado de cervo-GB1 foi originalmente caracterizado como um outro genogrupo separado de pestivírus (VAN RIJN et al., 1997) e depois foi re-classificado como BVDV-1, ambos baseados na análise das regiões Npro e E2 (BECHER et al., 1997, 1999) sendo então classificado no grupo BVDV-1j (VILCEK et al., 2004) que curiosamente nunca foi detectado em bovinos ou ovinos do Reino Unido.

Um pestivírus isolado de trágulo persistentemente infectado foi caracterizado como BVDV-1f (GRONDHAL et al., 2003).

O primeiro isolado de alpaca nos EUA foi confirmado como sendo pertencente ao grupo BVDV-1b (GOYAL et al., 2002) similar ao obtido a partir de uma alpaca de sete meses do Reino Unido que apresentava histórico de diarreia (FOSTER et al., 2005).

### **4.3 Genotipagem de isolados de BDV**

A genotipagem de uma cepa isolada de uma rena na Alemanha em 1999 se revelou problemática. A análise da sequência 5'UTR, Npro e E2 desse isolado pareceu localizar esta cepa na árvore filogenética no mesmo ramo que o BDV. No entanto, através da comparação das sequências de nucleotídeos desta cepa denominada Reindeer-1 com outras cepas de BDV, não se pode concluir que essa cepa pertencia à espécie viral BDV e nem que ela representava um novo genótipo de pestivírus (BECHER et al, 1999).

Em 2003, numerosos isolados de pestivírus ovinos foram genotipados na Alemanha permitindo a divisão do BDV em três genótipos, o BDV-1, BDV-2 e BDV-3. A ausência de novos resultados com relação à cepa Reindeer-1 ocasionou sua classificação como pertencente ao genótipo BDV-2 (BECHER et al, 2003).

O genoma dessa cepa é formado por 12.318 nucleotídeos codificando para um total de 3.895 aminoácidos. A organização do genoma é similar a dos outros pestivírus e a região 5'UTR é composta de 370 nucleotídeos, contra 372 nos BDV-1 e 373 nos CSFV. A região 3'UTR é composta de 360 nucleotídeos extremamente conservados (AVALOS-RAMIREZ et al, 2001).

Diante de um declínio da população de camurças na região dos Pirineus, outros estudos foram realizados buscando um possível agente para essa mortalidade. Na região norte da Espanha, um estudo registrou uma diminuição de 3888 em 2000 para 2678 em 2001, do número de indivíduos em uma região de 11.000 ha na reserva nacional de caça de Alt-Pallars na Catalônia (HURTADO et al, 2004).

Nessa mesma região, 17 camurças de 1 a 11 anos de idade foram capturadas para serem analisadas. Em 16 desses animais, antígenos contra pestivírus foram detectados através de ELISA sanduíche sendo que 13 amostras foram analisadas por ELISA de bloqueio, no entanto, anticorpos contra BVDV e BDV não foram evidenciados em



nenhuma amostra por nenhum dos testes. Foram realizadas RT-PCRs a partir de amostras de sangue, baço e rim de 12 das 17 camurças evidenciando a presença do genoma viral em oito indivíduos. A comparação entre as seqüências 5'UTR, Npro e E2 desses isolados com outros BDVs demonstrou que este pestivírus não pertencia a nenhum genótipo de BDV conhecido até o momento, sendo então classificado como um novo genótipo denominado BDV-4 e a cepa que o caracterizou denominada Chamois-1.

#### **4.4 Genotipagem de novos pestivírus de animais silvestres**

Bem como foi sugerido pelo estudo antigênico realizado por Dekker et al em 1995, a genotipagem da cepa Giraffe-1 isolada de uma girafa no Quênia em 1967 (PLOWRIGHT, 1969) confirmou que esse pestivírus era distinto dos demais. A posição dessa cepa na árvore filogenética foi caracterizada por um ramo separado dos outros ramos que continham CSFV, BDV, BVDV-1 e BVDV-2 (HARASAWA et al, 2000 ; BECHER et al., 1997 e 1999). Outra cepa viral (PG-2) isolada a partir de cultivo de células de bovino cuja origem é desconhecida também compartilhou o mesmo ramo filogenético representado pelo Giraffe-1 (BECHER et al, 2003).

Em 2001, o genoma completo da cepa citopática Giraffe-1 foi seqüenciado. O resultado confirmou que esse vírus representava um novo grupo de pestivírus (AVALOS-RAMIREZ et al, 2001). Seu genoma é composto de 12.602 nucleotídeos, cerca de 300 a mais do que as cepas não citopáticas de pestivírus. A ORF codifica 3989 aminoácidos e o alinhamento com outras seqüências de pestivírus demonstra que a Giraffe-1 possui uma inserção de 294 nucleotídeos na região de NS2. Essa inserção é praticamente idêntica à descrita em numerosas cepas citopáticas de pestivírus como, por exemplo, a NADL do BVDV-1 (BECHER et al, 1996; MEYERS et al, 1990). Essa seqüência é 24 nucleotídeos mais longa (oito aminoácidos) na cepa Giraffe-1 do que na cepa NADL.

A organização genômica da Giraffe-1 é similar a dos demais pestivírus. A região 5'UTR possui 382 nucleotídeos e a 3'UTR, 250, com alta conservação de 70 nucleotídeos na extremidade.

Outro pestivírus com genoma diferenciado foi isolado em uma antilocapra abatida na região de Wyoming, EUA em 2005. A análise dos fragmentos 5'UTR, Npro e E2 do

genoma desse vírus revelou que ele formava um novo genótipo sendo então chamado de pestivírus Pronghorn ou Antelope (VILCEK et al, 2005).

Inicialmente, a região 5'UTR era a mais utilizada para detecção e caracterização de variações no genoma, uma vez que possui algumas sequências altamente conservadas o que facilita sua amplificação por PCR. No entanto, devido ao fato da região Npro ser exclusiva de pestivírus, ela se tornou a região de eleição para a comparação e caracterização dos isolados (RIDPATH, 2009).

Atualmente, as análises consideram as três regiões 5'UTR, Npro e E2 e, com base nessa análise, formulou-se a hipótese da existência de nove espécies de pestivírus classificadas de acordo com o grau de homologia entre as seqüências das regiões 5'UTR, Npro e E2 do genoma viral, sendo quatro dessas espécies já reconhecidas (CSFV, BVDV-1, BVDV-2 e BDV) e as demais em fase de reconhecimento sendo também chamadas de espécies virais provisórias (Giraffe, Tunisian, HoBi, Antelope e Bungowana) (LIU et al., 2009).

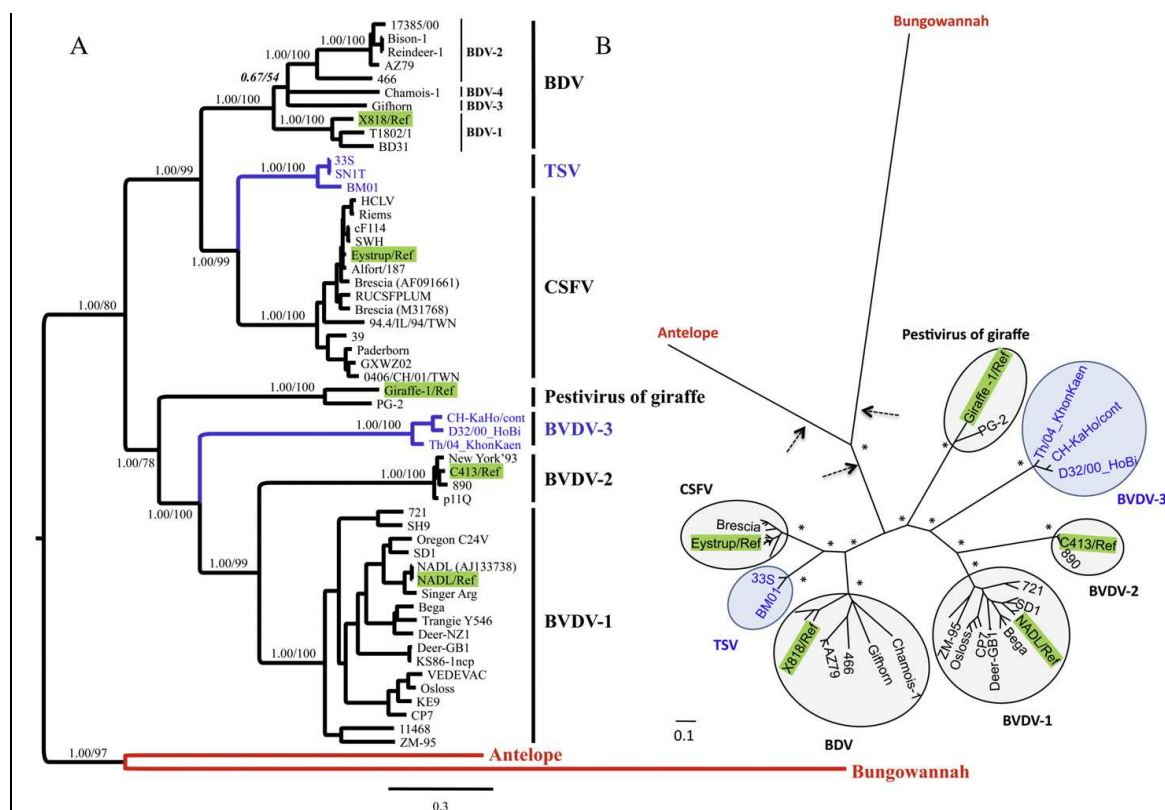


Figura 4 – Filogenia e classificação dos pestivírus

Fonte: Liu et al., 2009.

## **5 TRANSMISSIBILIDADE DE PESTIVÍRUS ENTRE A FAUNA SILVESTRE E DOMÉSTICA: CONSEQUÊNCIAS EPIDEMIOLÓGICAS**

Os pestivírus infectam um grande número de espécies domésticas e silvestres e na maioria dos casos não possuem especificidade com relação aos seus hospedeiros.

O BVDV, em condições naturais, infecta bovinos, ovinos, caprinos e numerosas outras espécies silvestres (PRATELLI et al., 2001).

Quanto ao BDV, ele infecta principalmente ovinos sendo raramente detectado em caprinos, suínos, bovinos e camurças (BECHER et al., 1997; DE MIA et al., 2005).

### **5.1 Transmissão inter específica de CSFV**

Javalis selvagens são considerados reservatórios de CSFV e podem servir como fonte de infecção para suínos domésticos.

Um estudo realizado na Alemanha demonstrou que 46% dos casos de surtos de peste suína clássica em porcos domésticos entre 1993 e 1997, estavam relacionados com o contato desses porcos com javalis silvestres (FRITZEMEIER et al., 2000).

Foi também demonstrado que o contato freqüente entre porcos e javalis na região da Sardenha parece favorecer a persistência da doença nas populações de suínos (LADDOMADA; PATTA, 1998).

A infecção experimental de outras duas espécies de suídeos silvestres (facocero e potamóquero) com CSFV na África do Sul demonstrou, através da detecção do genoma viral no sangue e secreções desses animais, que podem também servir de reservatório e fonte de transmissão entre a fauna silvestre (EVERETT et al., 2010).

Sendo assim, os possíveis contatos entre suídeos domésticos e silvestres são fatores de grande importância para o delineamento de programas de controle da CSF.

### **5.2 Transmissão interespecífica de BVDV e BDV**

A ocorrência de anticorpos contra BVDV e o isolamento viral a partir de animais silvestres ocasionaram diversas especulações a respeito do papel dessas espécies como reservatórios desses vírus, transmitindo-os silenciosamente a espécies domésticas como bovinos e ovinos. Se tais fenômenos forem realmente possíveis, deverão ser considerados

em programas de erradicação de BDV/MD aplicados em países da Europa (LINDBERG; ALENIUS, 1999).

Atualmente, não há nenhuma evidência quanto à transmissão natural de BVDV entre espécies silvestres e domésticas. Um exemplo disso está no estudo realizado na Áustria que demonstrou forte prevalência de anticorpos contra BVDV em bovinos e fraca em cervos (2-3%) (KRAMETTER et al., 2004; SCHIMTT; WITTOWSKI, 1999).

Da mesma forma, no Canadá, estudos sorológicos realizados em renas que não tinham contato com outros artiodáctilos domésticos desde muitos anos revelaram uma forte prevalência de anticorpos contra BVDV nessa população (60-70%) (ELAZHARI et al., 1981).

Além disso, as cepas BVDV-2 e BDV-1 nunca foram isoladas de animais silvestres, e diversas cepas isoladas de animais silvestres como a Antelope e BDV-4 jamais foram isoladas de animais domésticos.

No entanto, recentemente, foi isolada uma cepa de BDV-2 de um ovino na Alemanha similar a cepa Reindeer-1 (VILCEK; NETTLETON, 2006).

Um estudo realizado em um zoológico de Copenhagem, onde um trágulo permanentemente infectado com a cepa BVDV-1f entrou em contato direto com duas vacas livres de BVDV, demonstrou a partir da detecção de BVDV no sangue de uma das vacas oito dias após o contato inicial que a transmissão foi possível. A comparação das seqüências demonstrou 100% de homologia (VILCEK; NETTLETON, 2006).

Dada a forte prevalência de BVDV e a freqüência relativamente elevada de animais permanentemente infectados entre as espécies domésticas, parece que os animais domésticos possuem maior chance de infectar silvestres do que o contrário. No entanto, poucos estudos foram desenvolvidos até o momento que pudessem afirmar essa suposição. Atualmente, através do desenvolvimento de métodos de análise e sequenciamento torna-se mais fácil estudar as transmissões inter específicas de pestivírus (VILCEK; NETTLETON, 2006).

## 6 CONCLUSÕES

O gênero *Pestivirus* possui quatro espécies reconhecidas até o momento, o CSFV o BVDV-1, BVDV-2, BDV. No entanto, foram evidenciados recentemente novos genótipos através da análise filogenética, como o BDV-2, BDV-3, BDV-4, o Giraffe e o Antelope.

Os pestivírus podem ultrapassar a barreira das espécies, exceto o CSFV que em condições naturais parece ter certa especificidade quanto ao hospedeiro uma vez que só foi detectado em porcos domésticos e javalis. O BVDV e o BDV, porém, infectam um grande número de artiodáctilos silvestres e domésticos.

Até o momento, seis espécies ou genótipos de pestivírus foram evidenciados em animais silvestres, o CSFV, o BVDV-1, BDV-2, BDV-4, Giraffe e o Antelope.

O CFSV e o BVDV-1 foram identificados em espécies silvestres e domésticas, da mesma forma, uma cepa similar ao BDV-2 (circulante entre renas) foi isolada de ovinos.

A transmissão do CSFV entre javalis e porcos domésticos foi demonstrada, no entanto, até então, não há nenhuma evidência quanto à transmissão do BVDV e do BDV entre espécies domésticas e silvestres.

Sendo assim, os pestivírus podem infectar um grande número de espécies domésticas e silvestres através da sua boa adaptabilidade e estratégias de sobrevivência.

O monitoramento dos pestivírus circulantes em animais silvestres é de extrema importância, pois a transmissão inter específica, apesar de, em alguns casos, ainda não estar comprovada, é sempre uma hipótese que não se pode descartar principalmente em países que contam com programas de erradicação destas viroses.

## REFERÊNCIAS

- ALBINA, E. et al. A serological survey on classical swine fever (CSF), Aujeszky's disease (AD) and porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infections in French wild boars from 1991 to 1998. **Vet Microbiology**, Amsterdam, v. 77, n. 1-2, p. 43-57, Nov. 2000.
- AOKI, H. et al. Characterization of classical swine fever virus associated with defective interfering particles containing a cytopathogenic subgenomic RNA isolated from wild boar. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 63, n. 7, p. 751-758, Jul. 2001.
- ARNAL, M. et al. A novel pestivirus associated with deaths in Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*). **Journal of General Virology**, London, v. 85, part 12, p. 3653-3657, Dec. 2004.
- AVALOS-RAMIREZ, R. et al. Evidence for the presence of two novel pestivirus species. **Virology**, New York, v. 286, n. 2, p. 456-465, Aug. 2001.
- BARADEL, J. M. et al. Résultats of a serological survey of wild mammals in France. **Revue Scientifique et Technique: Office International des Epizooties**, Paris, v.7, p. 873-883, 1988.
- BARLOW, R. M. et al. Infection of pregnant sheep with the NADL strain of BDV and their subsequent challenge with Border disease. **Journal of Comparative Biology**, São Paulo, v. 90, p. 67-72, 1980.
- BARTAK, P.; GREISER-WILKE, I. Genetic typing of classical swine fever virus isolates from the territory of the Czech Republic. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 77, n. 1-2, p. 59-70, Nov. 2000.
- BECHER, P. et al. Genetic and antigenic characterization of novel pestivirus genotypes: implications for classification. **Virology**, New York, v.311, n. 1, p. 96-104, Jun. 2003.
- BECHER, P. et al. Cytopathogenicity of border disease virus is correlated with integration of cellular sequences into the viral genome. **Journal of Virology**, Washington, v. 70, n. 5, p. 2992-2998, May. 1996.
- BECHER, P. et al. Genetic diversity of pestiviruses: identification of novel groups and implications for classification. **Virology**, New York, v. 262, n. 1, p. 64-71, Sep. 1999.
- BECHER, P. et al. Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. **Journal of General Virology**, London, v. 78, part 6, p. 1357-1366, Jun. 1997.

- BELKNAP, E. B. et al. Bovine viral diarrhea virus in New World camelids. *J Vet Diagn Invest. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Columbia, v. 12, n. 6, p. 568-570, Nov. 2000.
- BIAGETTI, M.; GREISER-WILKE, I.; RUTILI, D. Molecular epidemiology of classical swine fever in Italy. *Veterinary Microbiology*, Amsterdam, v. 83, n. 3, p. 205-215, Nov. 2001.
- BOADELLA, M. et al. Serosurvey for selected pathogens in Iberian roe deer. *BMC Veterinary Research*, v. 6, n. 51, p. 1-7, 2001. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1746-6148-6-51.pdf>. Acesso em: 29 maio 2011.
- BORCHERS, K. et al. Virologic investigations of free-living European bison (*Bison bonasus*) from the Bialowieza Primeval Forest, Poland. *Journal of Wildlife Diseases*, Ames, v. 38, n. 3, p. 533-538, Jul. 2002.
- BRUGH, M.; FOSTER, F. A.; HAYES, D. Studies on the comparative susceptibility of wild European and domestic swine to hog cholera. *American Journal of Veterinary Research*, Chicago, v. 25, p. 1124-1127, 1964.
- CELEDON, M. et al. Survey for antibodies to pestivirus and herpesvirus in sheep, goats, alpagas (*Lama pacos*), llamas (*Lama glama*), guanacos (*Lama guanicoe*) and vicuna (*Vicugna vicugna*) from Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*, Valdivia, v. 33, p. 165-172, 2001.
- COUVILLON, C. E. et al. Survey for antibodies to viruses of bovine virus diarrhea, bluetongue, and epizootic hemorrhagic disease in hunterkilled mule deer in New Mexico. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Schaumburg, v. 177, p. 790-791, 1980.
- DARBYSHIRE, J. H. Agar gel diffusion studies with a mucosal disease of cattle. A serological relationship between mucosal disease and swine fever. *Research in Veterinary Science*, London, v. 3, p. 125-128, 1962.
- DE MIA, G. M. et al. Genetic characterization of a caprine pestivirus as the first member of a putative novel pestivirus subgroup. *Journal of Veterinary Medicine, B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, Berlin, v. 52, n. 5, p. 206-210, Jun. 2005.
- DEKKER, A.; WENSVOORT, G.; TERPSTRA C. Six antigenic groups within the genus pestivirus as identified by cross neutralization assays. *Veterinary Microbiology*, Amsterdam, v. 47, n. 3-4, p. 317-329, Dec. 1995.
- DEPNER, K.; HUBSCHLE, O. J.; LIESS, B. Prevalence of ruminant pestivirus infections in Namibia. *Journal of Veterinary Research*, Pretoria, v. 58, n. 2, p. 107-109, Jun. 1991.

- DEPNER, K. R. et al. Transient classical swine fever virus infection in wild boar piglets partially protected by maternal antibodies. **Deutsche TierärzHiche Wochenschrift**, Hannover, v. 107, n. 2, p. 66-68, Feb. 2000.
- DEREGT, D. et al. Isolation of bovine viral diarrhoea viruses from bison. **Veterinary Record**, London, v. 157, n. 15, p. 448-450, Oct. 2005.
- DICKINSON, A. G.; BARLOW, R. M. The demonstration of transmissibility of Border disease of sheep. **Veterinary Record**, London, v. 81, p. 114, 1967.
- DOYLE, L. G.; HEUSCHELE, W. P. Bovine viral diarrhea virus infection in captive exotic ruminants. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 183, n. 11, p. 1257-1259, Dec. 1983.
- EDWARDS, S.; SANDS, J. J. Antigenic comparisons of hog cholera virus isolates from Europe, America and Asia using monoclonal antibodies. **Deutsche TierärzHiche Wochenschrift**, Hannover, v. 97, n. 2, p. 79-81, Feb. 1990.
- ELAZHARY, M. A. et al. Serological evidence of some bovine viruses in the caribou (*Rangifer tarandus caribou*) in Quebec. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 17, n. 4, p. 609-612, Oct. 1981.
- ELAZHARY, M. A.; ROY, R. S.; FRECHETTE, J. L. Serological evidence of IBR and BVD infection in Caribou (*Rangifer tarandus*). **Veterinary Record**, London, v. 105, n. 14, p. 336, Oct. 1979.
- ELBERS, A. R.; DEKKERS, L. J.; VAN DER GIESSEN, J. W. Sero-surveillance of wild boar in The Netherlands. **Revue Scientifique et Technique**, Paris, v. 19, n. 3, p. 848-854, Dec. 2000.
- ELBERS, K. et al. Processing in the pestivirus E2-NS2 region : identification of proteins p7 and E2p7. **Journal of virology**, Washington, v. 70, n. 6, p. 4131-4135, Jun. 1996.
- EVERETT, H. et al. Experimental Infection of Common Warthogs (*Phacochoerus africanus*) and Bushpigs (*Potamochoerus larvatus*) with Classical Swine Fever Virus. I: Susceptibility and Transmission. **Transboundary and Emerging Diseases**, Hoboken, v. 58, p. 128-134, 2011.
- FISCHER, S.; WEILAND, E.; FROLICH, K. Characterization of a bovine viral diarrhea virus isolated from roe deer in Germany. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 34, n. 1, p. 47-55, Jan. 1998.
- FOSTER, A. P. et al. BVD virus in a British alpaca. **Veterinary Record**, London, v. 156, n. 22, p. 718-719, May. 2005.
- FRITZEMEIER, J. et al. Epidemiology of classical swine fever in Germany in the 1990s. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 77, n. 1-2, p. 29-41, Nov. 2000.



FROLICH, K.; FLACH, E.J. Long-term viral serology of semi-free-living and captive ungulates. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 29, n. 2, p. 165-170, Jun. 1998.

FROLICH, K.; HOFMANN, M. Isolation of bovine viral diarrhea virus-like pestiviruses from roe deer (*Capreolus capreolus*). **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 31, n. 2, p. 243-246, Apr. 1995.

FROLICH, K. Bovine virus diarrhea and mucosal disease in free-ranging and captive deer (*Cervidae*) in Germany. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 31, n. 2, p. 247-250, Apr. 1995.

FROLICH, K. et al. Detection of a newly described pestivirus of Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) in France. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 41, n. 3, p. 606-610, 2005.

GARDINER, A. C. et al. Experiments in Border disease. 5 preliminary investigations on the nature of the agent. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburg, v. 82, n.2, p. 159-161, Apr. 1972.

GIOVANNINI, A. et al. Serological investigations for some bacterial and viral pathogens in fallow deer (*Cervus dama*) and wild boar (*Sus scrofa*) of the San Rossore Preserve, Tuscany, Italy. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 24, n. 1, p. 127-132, Jan. 1988.

GOYAL, S. M. et al. Isolation of bovine viral diarrhea virus from an alpaca. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 14, n. 6, p. 523-525, Nov. 2002.

GRONDAHL, C. et al. Characterisation of a pestivirus isolated from persistently infected mousedeer (*Tragulus javanicus*). **Archives of Virology**, New York, v. 148, n. 8, p. 1455-1463, Aug. 2003.

HAMBLIN, C.; HEDGER, R. S. The prevalence of antibodies to bovine viral diarrhoea/mucosal disease virus in African wildlife. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 2, n. 2-3, p. 159-303, 1979.

HARASAWA, R. et al. Giraffe strain of pestivirus: its taxonomic status based on the 5'-untranslated region. **Microbiology and Immunology**, Richmond, v. 44, n. 11, p. 915-920, 2000.

HOFMANN, M.; BOSSY, S. Classical swine fever in 1993 in Switzerland: molecularepidemiologic characterization of the virus isolate. **Schweizer Archiv Tierheilkunde**, Zürich, v. 140, n. 9, p. 365-370, 1998.

HOFMANN, M. A.; BRECHTBUHL, K.; STAUBER, N. Rapid characterization of new pestivirus strains by direct sequencing of PCR-amplified cDNA from the 5' noncoding region. **Archives of Virology**, New York, v. 139, n.1-2, p. 217-229, 1994.

HUCK, R. A. et al. Border disease in sheep: comparison of the results of serological testing using complement fixation, immunodiffusion, neutralization, and immunofluorescent techniques. **British Veterinary Journal**, London, v. 131, n. 4, p. 427-435, Jul. 1975.

HUGUES, L. E.; KERSHAW, G. F.; SHAW I. G. "B" or Border Disease. An undescribed disease of sheep. **Veterinary Record**, London, v. 71, p. 313-317, 1959.

HURTADO, A. et al. Molecular identification of a new pestivirus associated with increased mortality in the Pyrenean Chamois (*Rupicapra Pyrenaica pyrenaica*) in Spain. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 40, n. 4, p. 796-800, Oct. 2004.

JEFFREY, M.; WELLS, G. A. H. Immunohistochemical topography and cellular localization of BDV in the central nervous system in experimental Border disease of sheep. Neuropath and applied Neurobiol. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, Oxford, v. 15, p. 590-591, 1989.

JEFFREY, M. et al. Immunocytochemical localization of border disease virus in the spinal cord of foetal and newborn lambs. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, Oxford, v. 16, p. 501-510, 1990.

JEMERSIC, L. et al. Genetic typing of recent classical swine fever virus isolates from Croatia. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 96, n. 1, p. 25-33, Oct. 2003.

JUBB, K. V. P.; KENNEDY, P. C. **Pathology of domestic animals**. New York: Academic press, 1963.

KADEN, V. et al. Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: concluding analysis of the recent field trials in Germany. **Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, Berlin, v. 115, n. 5-6, p. 179-185, May. 2002.

KADEN, V. et al. Evaluation of the oral immunisation of wild boar against classical swine fever in Baden-Württemberg. **Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, Berlin, v. 116, n. 9-10, p. 362-367, Sep. 2003.

KADEN, V. et al. Classical swine fever virus: clinical, virological, serological and hematological findings after infection of domestic pigs and wild boars with the field isolate "Spante" originating from wild boar. **Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, Berlin, v. 113, n. 11-12, p. 412-416, Nov. 2000.

KARSTAD, L. Bovine virus diarrhoea. In: DAVIS, J. W.; KARSTAD, L. H.; TRAINER, D. O. (Ed.), **Infectious diseases of wild mammals**. 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Iowa State University Press, 1981, p. 209-211.

KRAMETTER, R. et al. Pestivirus exposure in free-living and captive deer in Austria. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 40, n. 4, p. 791, Oct. 2004.

KREY, T.; THIEL, H. J.; RUMENAPF, T. Acid-resistant bovine pestivirus requires activation for pH-triggered fusion during entry. **Journal of Virology**, Washington, v. 79, n. 7, p. 4191-4200, 2005.

LADDOMADA, A. Incidence and control of CSFV in wild boar in Europe. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 73, n. 2000.

LADDOMADA, A. et al. Epidemiology of classical swine fever in Sardinia : a serological survey of wild boar and comparison with African swine fever. **Veterinary Record**, London, v. 134, p. 183-187, 1994.

LAWMAN, M. J. P. et al. A preliminary survey of British deer for antibody to some virus diseases of farm animals. **British Veterinary Journal**, London, v. 134, p. 85-91, 1978.

LAZAR, C. et al. The pestivirus E(rns) glycoprotein interacts with E2 in both infected cells and mature virions. **Virology**, New York, v. 314, n. 2, p. 696-705, 2003.

LEE, Y. M. et al. Dual mechanisms of pestiviral superinfection exclusion at entry and RNA replication. **Journal of Virology**, Washington, v. 79, n. 6, p. 3231-3242, 2005.

LILLEHAUG, A. et al. Antibodies to ruminant alpha-herpesviruses and pestiviruses in Norwegian cervids. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 39, n. 4, p. 779-786, Oct. 2003.

LINDBERG, A. L.; ALENIUS, S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 64, n. 2-3, p. 197-222, Jan. 1999.

LIU, L. et al. Phylogeny, classification and evolutionary insights into pestiviruses. **Virology**, Washington, v. 385, p. 351-357, 2009.

LOKEN, T. Experimental pestivirus infections in newborn goats kids. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburg, v. 103, p. 277-288, 1990.

LOKEN, T.; KROGSRUD, J.; BJERKAS, I. Outbreaks of border disease in goats induced by a pestivirus-contaminated of vaccine, with virus transmission to sheep and cattle. **Comparative Pathology**, Edinburg, v. 104, p. 195-209, 1991.

LOWINGS, P. et al. Classical swine fever in Sardinia: epidemiology of recent outbreaks. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 122, n. 3, p. 553-559, Jun. 1999.

LOWINGS, P. et al. Classical swine fever virus diversity and evolution. **Journal of General Virology**, London, v. 77, part 6, p. 1311-1321, Jun. 1996.

MEYER G.- Sérologie et virologie bovine. Séminaires internes. Toulouse, Juin 2007 ; ENVT

MILLET S. - Contribution à l'étude des communautés antigéniques du virus de l'hépatite C humaine et des pestivirus bovins. Th médecine vétérinaire, 1999 ; Alfort 90

MOTHA, M. X.; THAM, K. M. Pestivirus infection in a llama (*Llama glama*). **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 40, n. 3, p. 126, Sep. 1992.

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

NETTLETON, P. F.; HERRING, J. A.; CORRIGALL, W. Isolation of bovine virus diarrhoea virus from a Scottish red deer. **Veterinary Record**, London, v. 107, n. 18, p. 425-426, Nov. 1980.

NETTLETON, P. F. Pestivirus infections in ruminants other than cattle. **Revue Scientifique et Technique de L'Office International des Epizooties**, Paris, v. 9, n. 1, p. 131-150, Mar. 1990.

NIELSEN, S. S.; ROENSHOLT, L.; BITSCH, V. Bovine virus diarrhoea virus in free-living deer from Denmark. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 36, n. 3, p. 584-587, Jul. 2000.

OLAFSON, P.; MAC CALLU, A. D.; BITSH, V. An apparently new transmissible disease of cattle. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 36, p. 205-213, 1946.

OLDE RIEKERINK, R.G. et al. Seroprevalence of pestivirus in four species of alpine wild ungulates in the High Valley of Susa, Italy. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 108, n. 3-4, p. 297-303, Jul. 2005.

PARKS, J. B.; ENGLAND, J. J. A serological survey for selected viral infections of Rocky Mountain bighorn sheep. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 10, p. 107-110, 1974.

PATON, D. J.; LOWINGS, J. P.; BARRET, A. D. T. Epitope mapping of the gp53 envelope protein of bovine viral diarrhoea virus. **Archives of Virology**, New York, v. 190, p. 763-772, 1992.

PATON, D. J. et al. Genetic typing of classical swine fever virus. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 73, n. 2-3, p. 137-157, Apr. 2000.

PATON, D. J. Pestivirus diversity. **Journal of Comparative Pathology**, Ames, v. 112, p. 215-236, 1995.

PELLERIN, C. et al. Comparison of the p125 coding region of bovine viral diarrhoea viruses. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 45, n. 1, p. 45-57, Jun. 1995.

PIZARRO-LUCERO, J. et al. Identification of a pestivirus isolated from a free-ranging pudu (*Pudu puda*) in Chile. **Veterinary Record**, v. 157, n. 10, p. 292-294, Sep. 2005.

PLANT, J. W. et al. Immunological relationship between border disease, mucosal disease and swine fever. **Veterinary Record**, London, v. 92, p. 455-461, 1973.

PLOWRIGHT, W. Other virus diseases in relation to the JP15 programme. In: JOINT CAMPAIGN AGAINST RINDERPEST. **Proceedings of the first technical review meeting**. Mogadiscio, 1969.

PRATELLI, A. et al. Genomic characterization of pestiviruses isolated from lambs and kids in southern Italy. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 94, n. 1-2, p. 81-85, May. 2001.

PUNTEL, M. et al. Serological survey of viral antibodies in llamas (*Lama glama*) in Argentina. **Zentralblatt für Veterinärmedizin: Reihe B**, Berlin, v. 46, p. 157-161, 1999.

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

RIDPATH, J. F. BVDV strain variability. In: **Western Veterinary Conference**, 81., 2009, Las Vegas. [3 p.] Disponível em: < [www.ars.usda.gov/research/publications](http://www.ars.usda.gov/research/publications) >. Acesso em: 30 maio 2011.

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

RIVERA, H.; MADEWELL, B. R.; AMEGHINO, E. Serologic survey of viral antibodies in peruvian alpaca (*Lama pacos*). **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 48, p. 189-191, 1987.

RUMENAPF, T. et al. Processing of the envelope glycoprotein of pestivirus. **Journal of Virology**, Washington, v. 6, p. 3288-3294, 1993.

SADI, L. et al. Serologic survey of whitetailed deer on Anticosti Island, Quebec for bovine herpesvirus 1, bovine viral diarrhea, and parainfluenza 3. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 27, n. 4, p. 569-577, Oct. 1991.

SCHIRRMEIER, H. et al. Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species. **Journal of General Virology**, London, v. 85, part 12, p. 3647-3652, Dec. 2004.

SEDLAK, K.; GIRMA, T.; HOLEJSOVSKY, J. Pestivirus infections in cervids from the Czech Republic. **Veterinarni Medicina**, Czech Republic, v. 54, n. 4, p. 191-193, 2009.

STADEJEK, T. et al. Genetic heterogeneity of classical swine fever virus in Central Europe. **Virus Research**, Amsterdam, v. 52, n. 2, p. 195-204, Dec. 1997.

- STAUBER, E. H. et al. A seroepidemiologic survey of three pronghorn (*Antilocapra americana*) populations in southeastern Idaho, 1975-1977. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 16, n. 1, p. 109-115, Jan. 1980.
- TAYLOR, S. K. et al. Serologic survey for infectious pathogens in free-ranging American bison. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 33, n. 2, p. 308-311, Apr. 1997.
- TESSARO, S. V.; CARMAN, P. S.; DEREGT, D. Viremia and virus shedding in elk infected with type 1 and virulent type 2 bovine viral diarrhea virus. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 35, n. 4, p. 671-677, Oct. 1999.
- THABTI, F. et al. Detection of a novel border disease virus subgroup in Tunisian sheep. **Archives of Virology**, New York, v. 150, n. 2, p. 215-229, Feb. 2005.
- THIEL, H. J. et al. Flaviridae. In : FAUQUET, C. M. (Ed.), **Virus taxonomy**: eighth report of the international. Committee on taxonomy of viruses. Amsterdam: Elsevier, 2005 ; p. 981-998.
- TRYLAND, M. et al. Evidence of parapox-, alphaherpes- and pestivirus infections in carcasses of semi-domesticated reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) from Finnmark, Norway. **Rangifer**, Tromsø, v. 25, n. 2, p. 75-83, 2005.
- TURNER, J. C.; PAYSON, J. B. Prevalence of antibodies of selected infectious disease agents in the peninsular desert bighorn sheep (*Ovis canadensis cremnobates*) of the Santa Rosa Mountains, California. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 18, n. 2, p. 243-245, Apr. 1982.
- UTTENTHAL, A. et al. Persistent BVDV infection in mousedeer infects calves. Do we know the reservoirs for BVDV? **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 72, n. 1-2, p. 87-91, Oct. 2005.
- VAN CAMPEN, H. et al. Isolation of bovine viral diarrhea virus from a free-ranging mule deer in Wyoming. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 37, n. 2, p. 306-311, Apr. 2001.
- VAN CAMPEN, H. et al. Experimental infection of deer with bovine viral diarrhea virus. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 33, n. 3, p. 567-573, Jul. 1997.
- VAN RIJN, P. A. et al. Subdivision of the pestivirus genus based on envelope glycoprotein E2. **Virology**, Washington, v. 237, n. 2, p. 337-348, Oct. 1997.
- VANTISIS, J. T. et al. Immunization against Border disease. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 90, p. 349-354, 1980.
- VANTSIS, J. T. et al. The effects of challenge with homologous strains of border disease virus on ewes with previous experience of Border disease. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v. 90, p. 39-45, 1990.

VANTSIS, J. T. et al. Experiments in Border disease: VII: propagation and properties of a cytopathic virus. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburg, v. 86, p. 111-120, 1976.

VILCEK, S. et al. Genetic diversity of international bovine viral diarrhoea virus (BVDV) isolates: identification of a new BVDV-1 genetic group. **Veterinary Research**, London, v. 35, n. 5, p. 609-615, Sep. 2004.

VILCEK, S. et al. Typing of pestiviruses from eland in Zimbabwe. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 36, n. 1, p. 165-168, Jan. 2000.

VILCEK, S. et al. Characterization of a novel pestivirus originating from a pronghorn antelope. **Virus Research**, Amsterdam, v. 108, n. 1-2, p. 187-93, Mar. 2005.

VILCEK, S.; NETTLETON, P. F. Pestivirus in wild animals. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 116, p. 1-12, 2006.

VILCEK, S. et al. Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into 11 genetic groups. **Archives of Virology**, New York, v. 146, p. 99-115, 2001.

VILCEK, S. et al. Complete genomic sequence of a border disease virus isolated from Pyrenean chamois. **Virus Research**, Amsterdam, v. 152, p. 164-168, 2010.

WARD, G. M. Experimental infection of pregnant sheep with bovine diarrhoea- mucosal disease virus. **Cornell Veterinarian**, Ithaca, v. 61, p. 179-191, 1971.

WARRENER, P.; COLLETS, M. S. Pestivirus NS3 (p80) protein possesses RNA helicase activity. **Journal of Virology**, Washington, v. 3, p. 1720-1726, 1995.

WEILAND, F. et al. Localization of pestivirus envelope proteins E(rns) and E2 at the cell surface and on isolated particles. **Journal of General Virology**, London, v. 80, n. 5, p. 1157-1165, 1999.

WENTZ, P. A. et al. Evaluation of bovine viral diarrhoea virus in New World camelids. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 223, n. 2, p. 223-228, Jul. 2003.

ZAGHAWA, A. Prevalence of antibodies to BVD/MD and to Border disease virus in domestic ruminants. **Zentralblatt Veterinarmedizin**, Berlin, v. 45, p. 345-351, 1998.

ZUPANCIC, Z. et al. Prevalence of antibodies to classical swine fever, Aujeszky's disease, porcine reproductive and respiratory syndrome, and bovine viral diarrhoea viruses in wild boars in Croatia. **Journal of Veterinary Medicine: part B: infectious and parasitic diseases**, Berlin, v. 49, p. 253-256, 2002.