

# EFEITO DO PERFIL SOROLÓGICO PARA DIARRÉIA (BVD) VIRAL BOVINA EM ÍNDICES REPRODUTIVOS DE REBANHOS LEITEIROS\*

## *EFFECT OF BOVINE VIRAL DIARRHEA SEROLOGICAL (BVD) PROFILE ON REPRODUCTIVE INDEX IN DAIRY COWS*

Luciano Bastos Lopes<sup>1</sup>, João Paulo Amaral Haddad<sup>2</sup>, Rogério Oliveira Rodrigues<sup>3</sup> e Rômulo Cerqueira Leite<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Lopes L.B., Haddad J.P.A., Rodrigues R.O. & Leite R.C. [Effect of bovine viral diarrhea serological profile on reproductive index in dairy cows]. Efeito do perfil sorológico para diarreia viral bovina em índices reprodutivos de rebanhos leiteiros. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(3):133-138, 2010. Embrapa Agrossilvipastoril, Avenida das Itaúbas 3257, Setor Comercial, Sinop, MT 78550-194, Brasil. E-mail: luciano.lopes@embrapa.br

Some infectious diseases are potentially capable to compromise the viability of an economically sustainable milk production system. The aim of this paper was to evaluate the relationship between bovine viral diarrhea (BVD) seropositivity status in 240 commercial herds and reproductive losses. To quantify the effects of BVD virus infection in reproduction performance, the variables were included on multiple generalized linear models. In agreement with the results in this study, there was a decrease of the number of doses for conception and of the number of dry cows in the positive herds. Presence of antibodies induced by natural infection demonstrated to be a protector factor against reproductive losses showing the importance of the herd immunity effect.

**KEY WORDS.** Reproduction, Bovine viral diarrhea (BVD), antibody, epidemiology.

**RESUMO.** Algumas doenças infecciosas são potencialmente capazes de comprometer a viabilidade de um sistema de produção de leite economicamente sustentável. Este trabalho teve como objetivo avaliar a relação entre a soropositividade para Diarreia Viral Bovina (BVD) e índices reprodutivos em 240 rebanhos leiteiros comerciais. Para quantificar os efeitos da infecção pelo vírus da BVD nos índices reprodutivos, as variáveis foram incluídas em modelos mistos de regressão

linear múltipla generalizado. De acordo com os resultados encontrados, houve uma diminuição do número de doses por concepção e do número de vacas secas nos rebanhos positivos. A presença de anticorpos devido à infecção natural teve um efeito protetor contra os danos reprodutivos em potencial causados pelo vírus demonstrando a importância da imunidade de rebanho.

**PALAVRAS-CHAVE.** Reprodução, Diarreia viral bovina (BVD), anticorpo, epidemiologia.

\* Recebido em 20 de janeiro de 2010

Aceito em 19 de maio de 2010

<sup>1</sup> Médico-veterinário, Pesquisador A, Embrapa Agrossilvipastoril, Avenida das Itaúbas 3257, Setor Comercial, Sinop, MT 78550-194, Brasil. E-mail: luciano.lopes@embrapa.br

<sup>2</sup> Médico-veterinário, *PhD*, LD. DMVP, EV, UFMG, Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Caixa Postal 567, Pampulha, Belo Horizonte, MG 30123-970. E-mail: jphaddad@globo.com

<sup>3</sup> Médico-veterinário, *Dr.Ci.Ani.*, LD. UNIVALE, Rua Israel Pinheiro, 2000, Bairro Universitário, Governador Valadares, MG 35020-220, MG, Brasil. E-mail: rogerrodriguesvet@gmail.com

<sup>4</sup> Médico-veterinário, *PhD*, LD. DMVP, EV, UFMG, Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Caixa Postal 567, Pampulha, Belo Horizonte, MG 30123-970. E-mail: romulocleite@ufmg.br

## INTRODUÇÃO

A criação de bovinos em grande escala e a intensa movimentação que frequentemente ocorre nesses rebanhos torna-os mais susceptíveis aos mais diversos agentes infecciosos devido a uma ampla diversidade de fatores. O agente etiológico da diarreia viral bovina (BVD), componente da família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*, é um dos principais patógenos que acometem os rebanhos bovinos estando amplamente distribuído no Brasil (Oliveira et al. 1996; Botton et al. 1998, Richtzenhain 1999).

As principais fontes de infecção para o rebanho são os animais doentes ou clinicamente assintomáticos através de secreções nasais, saliva, sangue, fezes e urina (Steck 1980). O vírus também já foi isolado a partir do sêmen, secreções uterinas e placenta (Coria & MacClurkin 1978, Stuber 1984). A presença do vírus da BVD tem frequentemente causado distúrbios ligados à reprodução, fato este já documentado desde os anos 40 por Olafson et al. (1946), em sua primeira descrição clínica da doença. Abortos, mumificações, perdas embrionárias e nascimentos de bezerras mal formados e fracos resultam em quedas no desempenho reprodutivo do rebanho e consideráveis perdas econômicas em rebanhos bovinos (McClurkin et al. 1984, Ames 1986, Bolin 1990, Dubovi 1994, Berends et al. 2008).

Durante os últimos 60 anos, discussões acerca da patogênese do vírus têm criado muita confusão, em parte pela falta do completo entendimento da sua biologia. A resposta à infecção parece ser dependente da interação de uma série de fatores tais como idade do feto, estado imune do rebanho, diversidade genética do vírus e sua virulência (Houe 1999). A quantificação precisa dos danos após a infecção é bastante difícil, pois a maioria dos estudos têm se baseado na ocorrência de surtos da doença. Apenas alguns trabalhos têm avaliado o impacto do vírus em alguns rebanhos sem a ocorrência de surtos e, nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o impacto da BVD sobre o número de doses por concepção e o número de vacas secas em rebanhos soropositivos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O banco de dados utilizado para a realização do presente trabalho teve origem em um estudo de prevalência realizado em 240 rebanhos leiteiros entre os anos de 1998 e 2001. No total, 6.662 amostras de sangue foram coletadas durante o estudo. Paralelamente, com o auxílio de questionários, informações complementares tais como raça dos animais, número de lactações, dias em lactação no momento da coleta, época do parto,

número de animais no rebanho e histórico de vacinações foram incluídas no banco de dados. A metodologia utilizada para a coleta de dados em todos os rebanhos foi à mesma, sendo possível dessa forma o agrupamento de todas as variáveis em uma única planilha com o auxílio do *software* de análises estatísticas STATA<sup>®5</sup>.

### Coleta de amostras

A partir de uma análise computadorizada, foram gerados números de forma aleatória para que fossem selecionados de cada rebanho 30 animais em lactação de forma completamente randomizada, excluindo-se, no entanto, animais que já haviam sido vacinados. As amostras de sangue foram coletadas em 240 rebanhos oriundos dos seis estados selecionados para realização de testes visando a detecção de anticorpos contra BVD. Para o cálculo do tamanho da amostra requerida pelas análises estatísticas, assumiu-se uma prevalência de rebanho de 46,1%, um erro permitido de 10% e um intervalo de confiança de 95% para detectar pelo menos um animal positivo por rebanho (VanLeeuwen et al. 2001).

Foram selecionadas nos rebanhos cinco vacas que nunca haviam sido vacinadas previamente ou cinco novilhas primíparas também sem nenhum histórico de vacinação. Houe et al. (1995) relataram uma sensibilidade superior a 95% e uma especificidade superior a 98% ao nível de rebanho para identificação de rebanhos positivos utilizando-se esta metodologia. Os dados de lactação foram obtidos de acordo com a lactação na qual a coleta de sangue foi realizada. Os dados obedecem a uma estrutura hierárquica de quatro níveis, ou seja, lactação, animal, rebanho e, por último, os estados (Dohoo et al. 2003).

### Testes sorológicos

Todas as amostras foram armazenadas a -20°C pelo período no qual todas as amostras estivessem prontas para o processamento. O soro proveniente dos animais não vacinados para pesquisa de anticorpos contra o genótipo do tipo I do vírus da BVD foi titulado por meio do método de soroneutralização (Deregt et al. 1992). O rebanho foi considerado positivo para BVD quando pelo menos um animal apresentou título superior ou igual a 64 (VanLeeuwen et al. 2006). Seguindo esta metodologia, os rebanhos foram caracterizados como positivos independentemente da frequência de animais soropositivos dentro do rebanho.

<sup>5</sup> STATA ©Copyright 1996-2008 Stata Corp LP – College Station, Texas, EUA.

## Variáveis

As variáveis relativas ao perfil sorológico foram incluídas no banco de dados de acordo com os resultados dos testes de soroneutralização. As variáveis restantes foram incluídas de acordo com as informações contidas no questionário formulado para coleta de dados complementares.

## Análise estatística

Para quantificar os efeitos da infecção pelo vírus da BVD nos índices reprodutivos, as variáveis foram incluídas em modelos mistos de regressão linear múltipla generalizado. As análises contemplam dois níveis hierárquicos, sendo as variáveis latentes no nível animal e as variáveis randômicas no nível de rebanho (Dohoo et al. 2003).

As análises foram divididas em três etapas. Na primeira, avaliou-se a associação estatística entre os determinantes e as variáveis dependentes de interesse. Nesta fase, foram construídos dois modelos iniciais contendo todas as possíveis variáveis de interesse biológico e, selecionando-as então, a partir de sua significância estatística (Dohoo et al. 2003). Na segunda etapa verificou-se, segundo critérios biológicos, a associação causal entre as variáveis selecionadas na primeira fase para identificar-se algum fator de confusão presente nos modelos iniciais (Dohoo et al. 2003). Por fim, a terceira etapa consistiu na elaboração dos modelos de regressão para que fosse possível avaliar a associação causal e quantificar a influência da soropositividade dos rebanhos em índices reprodutivos.

O modelo definitivo cuja variável dependente foi o número de doses por concepção incluiu as seguintes variáveis: estado de origem das fazendas onde as amostras e informações foram coletadas, número de dias em lactação e resultado da sorologia para BVD. Foram controlados, desta maneira, os efeitos de rebanho, o estado de origem dos animais e o número de dias em lactação.

O modelo final, cujo número de vacas secas foi utilizado como variável dependente incluiu as seguintes variáveis: estado de origem das propriedades onde as informações e amostras foram coletadas, número total de vacas no rebanho e resultado da sorologia para BVD. Foram controlados então os efeitos de rebanho, o estado de origem dos animais e o número total de vacas presentes no rebanho. O limite de significância estatística convencionado neste trabalho foi de 5% ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os índices reprodutivos mais utilizados, o número de serviços por concepção é um dos parâmetros

importantes para avaliar-se o sucesso reprodutivo em um rebanho. Partindo deste princípio, o primeiro modelo discutido a seguir tem como objetivo avaliar a influência do vírus da BVD sobre o número de doses de sêmen utilizadas em cada prenhez. Os resultados encontrados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Influência da soropositividade para BVDV e o número de serviços por prenhez.

Variável	Coefficiente	Erro Padrão	Valor de P	95% Intervalo de Confiança	
Dias em lactação	0,0018829	0,0004556	0,000	0,000989	0,002775
Sorologia BVD (+)	-0,1917771	0,0542931	0,000	-0,298189	-0,085364

A eficiência reprodutiva é um dos fatores mais importantes para a lucratividade na pecuária leiteira. Os lucros nos diversos sistemas de criação estão diretamente relacionados com a entrada precoce dos animais no sistema produtivo além do número de bezerros produzidos a cada ano. A produção de leite nas diversas lactações em que um animal permanece no rebanho é influenciada, sobretudo, pela duração do intervalo de partos em cada ciclo reprodutivo. De acordo com a literatura, a BVD é capaz de causar os mais diversos danos sobre a fertilidade devido às alterações patológicas que ocorrem no sistema genital dos bovinos. Além das perdas diretas, a utilização de vacinas, medicamentos e protocolos hormonais indiscriminadamente agrava ainda mais este cenário.

Como se pode observar, animais com sorologia positiva para BVD sofreram significativa influência sobre o número de doses por prenhez em consequência da infecção pelo vírus, ou seja, há uma relação inversa entre as variáveis relativas à sorologia para BVD e número de doses por prenhez. Este resultado não condiz com o encontrado por Valle et al. (2001). Segundo esses autores, não houve associação entre o número de serviços por prenhez em rebanhos positivos, independentemente da categoria animal. De acordo com o trabalho de Ernest et al. (1983) e Kahrs (1973), as fêmeas soronegativas seriam as mais susceptíveis às perdas no início da gestação, o que condiz com os resultados encontrados neste trabalho. A presença de anticorpos contra o vírus da BVD em animais infectados naturalmente produz um efeito protetor reduzindo assim os seus efeitos deletérios. Para alguns autores, entretanto, a presença do vírus da BVD pode ser associada a perdas embrionárias e, conseqüentemente, maiores taxas de retorno ao cio devido à redução na concepção dos rebanhos infectados (Virakul et al. 1988, McGowan et al. 1993, Robert et al. 2004).

Outros pesquisadores têm demonstrado que o período mais crítico relativo às perdas reprodutivas parece estar compreendido entre o 50º e o 100º dias de gestação (Done et al. 1980, Sprecher et al. 1991). Os resultados descritos na literatura demonstram haver uma grande variação nos resultados, possivelmente devido às variações genótípicas do vírus e ao aspecto multifatorial envolvido na tríade ecológica composta pelo hospedeiro, meio ambiente e agente infeccioso.

Em rebanhos onde o sucesso reprodutivo é alcançado, a porcentagem de vacas em lactação é bastante elevado, cerca de 83% quando atingido o intervalo entre partos de 12 meses. Contudo, para obtenção de índices reprodutivos satisfatórios, é preciso que ocorra a interação entre dos parâmetros genéticos, nutricionais e sanitários (Ferreira 1994). Partindo do princípio de que a baixa eficiência reprodutiva é capaz de influenciar o número de vacas secas no rebanho, o modelo seguinte foi então construído para avaliar a conseqüências negativas do vírus da BVD em fases mais adiantadas da gestação.

Os dados da Tabela 2 demonstram que a presença de anticorpos parece exercer um efeito protetor contra o efeito viral mesmo em fases mais adiantadas de gestação. Em propriedades onde houve a presença de animais soropositivos, foi encontrado um menor número de vacas secas compondo o rebanho. Esse fato reforça a teoria de que os animais sem anticorpos seriam mais susceptíveis aos efeitos negativos do vírus sobre a reprodução, ou ainda, os rebanhos negativos seriam mais sujeitos a ocorrência de surtos da doença. Em suma, a preocupação maior deve ser concentrada em rebanhos negativos onde o vírus não se encontra presente, estando os animais, desta forma, completamente desprotegidos pela ausência de anticorpos para BVD. De acordo com o coeficiente destacado na tabela 2, há uma redução de aproximadamente cinco (-4.721778) vacas secas em rebanhos positivos para BVD em relação aos rebanhos negativos. Explorando estes resultados, pode-se dizer que não houve maior influência do vírus na reprodução dos animais envolvidos nestas análises.

Tabela 2. Número de vacas secas e sua relação com a soropositividade para BVD.

Variável	Coefficiente	Erro Padrão	Valor de P	95% Intervalo de Confiança	
Estado 2	-7,091735	0,1057783	0,000	-7,299057	-6,884413
Estado 3	-1,074604	0,1000672	0,000	-1,270732	-0,878475
Estado 4	-12,35507	0,1258549	0,000	-12,60174	-12,10839
Estado 5	-3,007467	0,0993744	0,000	-3,202237	-2,812697
Estado 6	-6,737565	0,1078912	0,000	-6,949028	-6,526102
Nº Total de vacas	0,2498336	0,0008169	0,000	0,2482326	0,2514346
Sorologia BVD (+)	-4,721778	0,061078	0,000	-4,841489	4,602067

Ao contrário, a presença de anticorpos parece estar associada a uma maior eficiência reprodutiva reforçando os resultados encontrados na Tabela 1 já discutidos anteriormente. Stahl et al. (2006) também não encontraram associação entre a soropositividade e a ocorrência de problemas reprodutivos mais severos como o aborto. Mais uma vez, parece haver a necessidade de interação entre os diversos fatores para que as perdas sejam significativas, sejam estes fatores intrínsecos ao vírus ou ligados aos fatores externos. A diversidade genética do vírus e sua virulência também contribuem para as diferenças encontradas entre as respostas às infecções (Houe 1999). Segundo Muñoz-Zanzi et al. (2004), os efeitos sobre a reprodução são dependentes de uma inter-relação complexa destes fatores, sejam eles inerentes ao vírus ou fatores externos.

Os estudos observacionais que procuraram investigar a ocorrência do vírus nos rebanhos têm apresentado resultados bastante controversos. Segundo McGowan et al. (1993), a presença do vírus da BVD pode ser associada a perdas embrionárias e, conseqüentemente, redução nas taxas de concepção dos rebanhos infectados. Animais que soroconverteram no período no qual foram inseminados ou logo em seguida à inseminação, apresentaram segundo Virakul et al. (1988), uma redução nas taxas de concepção em comparação com animais infectados previamente.

O período mais importante para o desencadeamento de perdas reprodutivas parece estar compreendido entre o 50º e o 100º dia de gestação (Done et al. 1980, Sprecher et al., 1991), sendo as fêmeas soronegativas, mais susceptíveis a perdas nesta fase da gestação (Ernst et al. 1983, Kahrs 1973). Baker (1995) e Rüfenacht et al. (2001) encontraram um aumento significativo nas taxas de aborto, entre 45 e 210 dias de gestação, em condições de campo, avaliando na ocasião, o desempenho de animais naturalmente infectados. Em rebanhos onde os animais não tiveram nenhum contato prévio com o vírus, desprovidos de qualquer tipo de imunização, esporadicamente podem ocorrer surtos severos com altas taxas de aborto após a infecção inicial (Lohr et al. 1983, Bolin 1990, Grooms 2004). Em contrapartida, Stahl et al. (2006) não encontraram associação significativa entre soropositividade e a ocorrência de abortos em seu estudo.

Rebanhos onde ocorrem surtos de aborto causados por BVD têm seu desempenho reprodutivo prejudicada por razões óbvias. Entretanto, ainda não são claros os efeitos da infecção em animais infectados subclínicamente. Robert et al. (2004) encontraram uma associação entre o retorno tardio ao cio e a presença de vacas

previamente expostas ao vírus. Valle et al. (2001), não encontraram nenhum efeito sobre o número de serviços por prenhes seja em novilhas ou vacas em rebanhos positivos, propondo então a necessidade de mais pesquisa no que diz respeito a este assunto.

## CONCLUSÕES

A presença de anticorpos para BVD foi capaz de influenciar de maneira inversa o número de doses de sêmen utilizadas por prenhes, ou seja, rebanhos onde animais soro reagentes se encontram presentes apresentaram uma redução deste índice quando comparados com rebanhos negativos. A soropositividade diminuiu o número de vacas secas dentro do rebanho em cerca de cinco animais exercendo um efeito protetor no que se refere à reprodução em bovinos nos rebanhos. Não se deve considerar a presença do vírus como um fator benéfico, porém, em rebanhos onde a doença é endêmica, a presença de anticorpos após uma exposição prévia a este agente torna-se muito importante devido à imunidade adquirida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ames T.L. The causative agent of BVD, its epidemiology and pathogenesis. *Vet. Med.*, 81:848-869, 1986.
- Baker J.C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Vet. Clin. North Am.*, 11:425-445, 1995.
- Berends I.M.G.A., Swart W.A.J.M., Frankena K., Muskens J., Lam T.J.G.M. & Van Schaik G. The effect of becoming BVDV-free on fertility and udder health in Dutch dairy herds. *Pre. Vet. Med.*, 84:48-60, 2008.
- Bolin S.R. The current understanding about the pathogenesis and clinical forms of BVD. *Vet. Med.*, 85:1124-1132, 1990.
- Botton S.A., Gil L.H.V.G., Silva A.M., Flores E.F., Weiblen R., Pituco E.M., Roehe P.M., Moojen V. & Wendelstein A.C. Caracterização preliminar de amostras do vírus da diarreia viral bovina (BVDV) isoladas no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, 18:84-92, 1998.
- Coria M.F. & MacClurkin A.W. Specific immune tolerance in apparently healthy bull persistently infected with bovine viral diarrhea virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172:449-451, 1978.
- Deregt D., Smithson S. & Kozub G.C. A short incubation serum neutralization test for bovine viral diarrhea virus. *Can. J. Vet. Res.*, 56:161-164, 1992.
- Dohoo I.R., Martin S.W. & Stryhn H. *Veterinary Epidemiologic Research*. 1<sup>st</sup> ed., AVC Inc., Charlottetown, 2003. 706 p.
- Done J.T., Terlecki S., Richardson C., Harkness J.W., Sands J.J., Patterson D.S., Sweasey D., Shaw I.G., Winkler C.E. & Duffell S.J. Bovine virus diarrhea-mucosal disease virus: pathogenicity for the fetal calf following maternal infection. *Vet. Rec.*, 106:473-479, 1980.
- Dubovi E.J. Impact of bovine viral diarrhea virus on reproductive performance in cattle. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, 10:503-514, 1994.
- Ernst P.B., Baird F.D. & Butler D.G. Bovine viral diarrhea: an update. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 5:5581-5589, 1983.
- Ferreira A.M. Intervalo entre partos reduzido, aumento da eficiência do rebanho. *G. Holand.*, 429:40-45, 1994.
- Grooms D.L. Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhea virus. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, 20:5-19, 2004.
- Houe H. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections. *Vet. Mic.*, 64: 89-107, 1999.
- Kahrs R.F. Effect of Bovine viral diarrhea on the developing fetus. *J. An. Vet. Med A.*, 163:877-878, 1973.
- Lohr C.H., Evermann J.F. & Ward A.C. Investigation of dams and their offspring inoculated with a vaccine contaminated by bovine viral diarrhea virus. *Vet. Med. S. M. Anim. Clin.*, 78: 263-1266, 1983.
- McClurkin A.V., Littledike E.T., Cutlip R.C., Frank G.H., Coria M.F. & Bolin S.R. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhea virus. *Can. J. Comp. Med.*, 48:156-161, 1984.
- McGowan M.R., Kirkland P.D., Richards S.G. & Littlejohns I.R. Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. *Vet. Rec.*, 133:39-43, 1993.
- Muñoz-Zanzi C.A., Thurmond M.C. & Hietala S.K. Effect of bovine viral diarrhea virus infection on fertility of dairy heifers. *Theriogenology*, 61:1085-1099, 2004.
- Olafson P., Macallum A. & Fox F. An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet.*, 36:205-213, 1946.
- Oliveira L.G., Oliveira E.A.S., Silva L.H.T. & Roehe P.M. Presença de pestivirus e anticorpos contra pestivirus em soros e cultivos celulares. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 48:513-521, 1996.
- Richtzenhain L.J., Barbarini J.R., Umehara O., De Gracia A.S., Cortez A., Heinemann M.B., Ferreira F. & Soares R.M. Diarreia viral bovina: levantamento sorológico nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul. *Arq. Inst. Biol.*, 66:107-111, 1999.
- Robert A., Beaudou F., Seegers E., Joly A. & Philipot J.M. Large scale assessment of the effect associated with bovine viral diarrhea infection on fertility of dairy cows in 6149 dairy herds in Brittany (western France). *Theriogenology*, 61:117-127, 2004.
- Rüfenacht J., Schaller P., Audigé L., Knüttli B., Küpfert U. & Peterhans E. The effect of infection with bovine viral diarrhea virus on the fertility of Swiss dairy cattle. *Theriogenology*, 56:199-210, 2001.
- Sprecher D.J., Baker J.C., Holland R.E. & Yamini B. An outbreak of fetal and neonatal losses associated with the diagnosis of bovine viral diarrhea virus in a dairy herd. *Theriogenology*, 36:597-606, 1991.
- Stahl K., Bjorkman C., Emanuelson U., Rivera H., Zelada A. & Moreno-López J. A prospective study of the effect of *Neospora caninum* and BVDV infections on bovine abortions in a dairy herd in Arequipa, Peru. *Prev. Vet. Med.*, 75:177-188, 2006.

- Steck F. Immune responsiveness in cattle fatally affected by bovine virus diarrhoea disease. *Vet. Med.*, 27:429-445, 1980.
- Stuber M. Current knowledge of BVD syndrome of cattle: agent, immune response, course and spread control. *Bov. Prac.*, 19:49-60, 1984.
- Valle P.S., Martin S.W. & Skjerve E. Time to first calving and calving interval in bovine virus diarrhoea virus (BVDV) seroconverted dairy herds in Norway. *Prev. Vet. Med.*, 51:17-36, 2001.
- Vanleeuwen J.A., Keefe G.P., Tremblay R., Power C. & Wichtel J.J. Seroprevalence of infection with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, bovine leukemia virus, and bovine viral diarrhoea virus in maritime Canada dairy cattle. *Can. Vet. J.*, 42:193-198, 2001.
- Vanleeuwen J.A., Tiwari A., Plaizier J.C. & Whiting T.L. Seroprevalences of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum* in beef and dairy cattle in Manitoba. *Can. Vet. J.*, 47:783-786, 2006.
- Virakul P., Fahning M., Joo H. & Zemjanis R. Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. *Theriogenology*, 29:441-449, 1988.