

Capítulo XXVA

Estrategias para el control y prevención del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB)

Kenny V. Brock, MSC, PhD

INTRODUCCIÓN

Para controlar exitosamente una enfermedad infecciosa, es necesario tomar en cuenta la enfermedad, el patógeno y aun más importante, el hospedador. En el caso del virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), la industria ganadera y el gremio veterinario deben adoptar prácticas de manejo para permitir que las medidas de control se hagan rutinarias como parte de un procedimiento estándar aceptado. En el presente capítulo serán discutidos los diversos factores influyen sobre el establecimiento y desarrollo de un programa exitoso de prevención y control para el VDVB.

Disponibilidad de Métodos de diagnóstico a un costo razonable

Para lograr el éxito en la prevención y control de una enfermedad infecciosa deben existir métodos adecuados para la identificación oportuna del patógeno. Afortunadamente, los productores agropecuarios cuentan con diferentes herramientas para asegurar la salud y el bienestar de sus rebaños y específicamente para la detección del VDVB. Debido a la competencia existente en el mercado de la ganadería, es esencial que exista una adecuada justificación económica para que las medidas de control contra el VDVB sean cumplidas a cabalidad dentro de la finca. En la mayoría de los casos, las pruebas de diagnóstico para detectar animales persistentemente infectados (PI) tienen un costo aproximado de 5 dólares por animal. Debido al alto riesgo de la DVB, la inversión en pruebas de diagnóstico para identificar y eliminar los animales PI se traduce en un retorno económico positivo.

En la actualidad diversos kits de Elisa de captura de antígeno para detectar animales PI están disponibles en el comercio. Adicionalmente, diversos laboratorios regionales en los Estados Unidos (EU) tienen la capacidad de llevar a cabo pruebas de inmunohistoquímica usando muestras de biopsias de piel de la oreja.

Estandarización de los métodos de diagnóstico de laboratorio

Cuando se considera la prevención y control del VDVB es necesario estimar la infraestructura de los laboratorios de diagnóstico y la capacidad de estos para dar el soporte necesario al sector ganadero en cuanto a la cantidad de muestras que puedan ser procesadas en un momento determinado.

En los EU nacen aproximadamente 35 millones de becerros anualmente, en ganaderías lecheras y de carne. Debido a estos números el soporte diagnóstico no es una cosa fácil y trivial. Para llevar a cabo una adecuada estrategia de diagnóstico es necesario desarrollar una cadena regional de laboratorios equipados y dotados con el personal adecuado para tal fin. Además, la estandarización y validación de los métodos de diagnóstico debe ser uniforme entre los laboratorios. Los resultados de los laboratorios deben tener una calidad consistente para proporcionar resultados válidos, los cuales determinaran las decisiones de eliminación de los animales. Los métodos comúnmente usados para la detección del VDVB (Aislamiento viral, inmunohistoquímica, ELISA y PCR) tienen altos niveles de sensibilidad y especificidad, siendo adecuados para identificar y eliminar los animales persistentemente infectados.

Biología del Virus de la Diarrea Viral Bovina

El reconocimiento del fenómeno de infecciones persistentes del VDVB ha sido uno de los descubrimientos más importante en la prevención y control de la DVB (McClurkin *et al.*, 1979, 1984; Brownlie *et al.*, 1984). De manera que el reconocimiento, identificación y la eliminación de los animales PI se ha convertido en el foco principal de los programa de prevención y control de VDVB (Harkness, 1987). La habilidad del VDVB para diseminarse horizontal y verticalmente debe ser considerada cuando se desarrollan medidas de bioseguridad.

Uno de los factores más difíciles de sobrellevar es la correlación que existe entre la compra de animales preñados y la ocurrencia de brotes de DVB después del nacimiento de los animales PI. En otras palabras, el factor de riesgo más comúnmente asociado con la introducción del VDVB en la finca es la compra de hembras preñadas, independientemente del estatus de vacunación de estos animales (Brock, datos no publicados). Usualmente resulta difícil la ejecución de cambios significativos en estas prácticas de manejo y en el establecimiento de procedimientos apropiados de biocontención para prevenir la introducción del VDVB.

La prevención del VDVB requiere de una previa planificación y evaluación de los procedimientos operativos estándares en cada finca en particular, tales como las condiciones de cuarentena de los nuevos animales (por un mínimo de 30 días), así como también los protocolos de diagnóstico del VDVB para evitar la introducción de animales PI, entre otros.

Justificación económica y reconocimiento del problema de VDVB

Debido a la naturaleza compleja de las infecciones con VDVB ha sido difícil determinar el impacto económico preciso de las infecciones. El impacto primario de la infección con VDVB en ganaderías de leche se traduce en una disminución en la producción de leche. Después de una investigación extensiva de un brote DVB en un

rebaño de aproximadamente 1000 vacas, se determinó que este provocó una pérdida de aproximadamente 400 a 500 dólares por vaca (Wittum y Brock, datos no publicados). Muñoz-Zanzi *et al.* (2003) determinaron que las pérdidas en los rebaños de leche con infecciones congénitas son debidas a una reducida ganancia de peso, así como también una alta incidencia de enfermedad respiratoria.

Grooms y Brock (2002) calcularon que la exposición del ganado de engorde estabulado con animales PI con VDVB podría tener un costo aproximado de 5 a 10 dólares por animal, debido a los tratamientos, además de las pérdidas por el costo de los animales PI. Aunque el impacto de la infección del VDVB es notorio en todas las fases de producción del ganado; la fase vaca-becerro en sistemas de ganadería de carne y/o leche, debe ser el foco principal para implementar las medidas de control.

En la industria de carne el reconocimiento del impacto económico de la DVB debido a la enfermedad del tracto respiratorio en sistemas de engorde de ganado, ejerce una presión significativa sobre el sector vaca-becerro (fase de reproducción) para adoptar protocolos de diagnóstico adecuados (Fulton *et al.*, 2000, 2002). Para generar un producto de calidad por parte del sector vaca-becerro es necesario incluir como requisito la aplicación de protocolos de diagnóstico que aseguren que el producto (becerro destetado) no esta persistentemente infectado con VDVB.

El reconocimiento de la importancia de la DVB por parte de la industria ganadera produciría un estado de alerta que estimularía a los productores y Médicos Veterinarios a adoptar estrategias de prevención y control, que incluyen el establecimiento de prácticas de bioseguridad, programas de vacunación y la eliminación de animales persistentemente infectados. Si estos esfuerzos son expandidos, la meta de controlar y erradicar la DVB en USA y otros países del mundo podría convertirse en una realidad.

Apoyo de los Médicos Veterinarios

Para iniciar exitosamente los programas de control del VDVB los veterinarios deben proporcionar recomendaciones uniformes y adecuadas para tales fines. Basado en las pérdidas biológicas y económicas causadas por la DVB, la Academia de Veterinarios Consultores de los Estados Unidos (AVC, American Academy of Veterinary Consultants, 2001) aprobó el siguiente decreto:

“La industria de carne y leche está sufriendo grandes pérdidas debido a los efectos de la infección con el VDVB. La naturaleza altamente mutante del VDVB ha obstaculizado el éxito de los actuales programas de control. Además, debido a que los animales PI son la fuente primaria de infección, los procedimientos diagnósticos deben estar dirigidos a la identificación de esos portadores infectados. Según la AVC, la industria ganadera debe adoptar medidas de control y perseguir la eventual erradicación del VDVB de Norteamérica”.

Después de esta declaración la AVC creo un comité para el desarrollo de estrategias para apoyar las metas de dicha resolución. Es importante que los veterinarios proporcionen el asesoramiento técnico en la implementación de los programas de prevención y control del VDVB. Adicionalmente, la educación continua sobre la DVB es una responsabilidad importante que debe ser asumida por los Médicos Veterinarios y representa la clave para el éxito de tales programas.

Apoyo de la industria ganadera

Las decisiones en la organización y desarrollo de las medidas de prevención y control de las enfermedades infecciosas que afectan económicamente la ganadería deben venir de la industria ganadera. Es importante notar que en los EU el control sanitario gubernamental y los esfuerzos de erradicación en la ganadería han estado enfocados principalmente en aquellas enfermedades que son zoonóticas. No fue hasta principios de 1900 que los programas gubernamentales se dirigieron al control de enfermedades no zoonóticas que tuvieron un impacto económico severo tales como la fiebre aftosa y la pleuroneumonía contagiosa bovina. En contraste, en la industria porcina se han iniciado algunas medidas de control gubernamental para enfermedades no zoonóticas de los cerdos tales como el virus de la pseudorabia y el cólera porcino (virus de la fiebre clásica porcina). Estos esfuerzos de control no han sido tomados en cuenta completamente debido a problemas económicos.

De esta manera, es razonable esperar que un programa de prevención y control organizado por la industria podría ser subestimado bajo la dirección del gobierno de los EU. Para llevar a cabo dichos programas integrados de control, diversos sectores ganaderos deben presentar propuestas unificadas para tal fin. Aunque la industria ganadera no está verticalmente integrada como la industria porcina, las recomendaciones unificadas de la industria ganadera podrían tener un efecto similar. El apoyo financiero para la prevención y control del VDVB debe venir de todas las fases del ciclo de producción. Por ejemplo, el mayor impacto económico de las infecciones del VDVB es debido a pérdidas reproductivas en explotaciones donde se lleva a cabo el cruzamiento de los animales así como también a enfermedades respiratorias en sistemas de engorde de ganado.

En los EU anualmente se sacrifican entre 30 y 35 millones de cabezas. La instauración de un programa de debito de una cuota de un dólar debería generar suficientes fondos para cubrir el diagnóstico del VDVB (4 dólares por animal) de todos los becerros en crecimiento durante 4 años. En este ejemplo, el sector de engorde de ganado cubriría los costos de las pruebas, mientras que el sector de cruzamiento (fincas dedicadas a la reproducción) sería responsable de la administración de los programas de prevención y control (toma de muestras, identificación y eliminación de los animales PI). Para que los esfuerzos de control de VDVB se hagan realidad en los EU, la industria ganadera debe tomar un enfoque nuevo e integrado para apoyar los programas de diagnóstico del VDVB. Aunque el impacto de la DVB afecta todos los sectores de la industria ganadera, el foco primario de los programas de control debe estar concentrado a nivel de cada finca individualmente.

Programa nacional de identificación y seguimiento

El establecimiento de un programa nacional de identificación facilitará la habilidad para identificar los rebaños con problemas de DVB. Este sistema que incluye pruebas de rutina del VDVB ayudaría a rastrear las fincas con problemas. Aquellos animales identificados como PI en las fincas de engorde de ganado permitirían determinar la presencia del virus en las explotaciones dedicadas a la reproducción (por ejemplo, sistema vaca–maute) de donde provinieron dichos animales. Debido a que

los animales PI son el resultado de la infección en el útero, el rebaño de origen de la madre de dicho becerro sería considerado sospechoso (Wittum *et al.*, 2001).

Dada la dificultad en la identificación rutinaria de los rebaños infectados con el VDVB, la habilidad para rastrear el origen de la infección ayudaría a facilitar la identificación de los rebaños infectados (fuentes de infección). Los rebaños infectados con el VDVB son de alto riesgo y justifican la inversión económica de un programa de diagnóstico y eliminación (Kelling *et al.*, 2000). Aun cuando no se cuente con un programa nacional de identificación, la detección de animales PI debe ser notificada por el veterinario a los individuos relacionados con el rebaño de origen, para asegurar que la enfermedad sea reconocida y que sean tomadas medidas de prevención y control apropiadas.

Estrategias de control que benefician segmentos apropiados de la industria ganadera

Para lograr la eficiencia de los programas de control del VDVB es necesario desarrollar métodos que tomen en cuenta las diferencias de manejo entre las ganaderías dedicadas a la producción de carne y aquellas enfocadas en la producción de leche. Los diferentes sistemas de manejo de los rebaños de leche y carne presentan ventajas y desventajas para el control y prevención del VDVB. La meta final del programa de prevención y control de la DVB es eliminar las posibilidades de nacimiento de becerros PI (Kelling *et al.*, 2000).

Cuando se considera un escenario que incluye nueve meses de gestación y una estación de cruzamiento de 60 días en rebaños de carne, existe solo una ventana de un mes para asegurar que las infecciones persistentes de los becerros bajo amamantamiento no sean transferidas a la próxima generación de becerros. Bajo estas condiciones es necesario un enfoque agresivo de control para eliminar exitosamente el mantenimiento cíclico de infecciones persistentes en los sistemas de producción de carne.

La temporada de partos en la mayoría de las fincas de carne (bajo un sistema vaca-maute), ofrece una buena oportunidad para concentrar el diagnóstico del VDVB en los neonatos y de esta manera identificar y eliminar los animales PI antes del comienzo de la temporada de cruzamiento. Esta estrategia de diagnóstico podría eliminar exitosamente el VDVB de un rebaño en un año si los portadores son detectados. La desventaja del manejo en sistemas de carne vaca-maute es el impacto económico severo que puede tener la introducción del VDVB dentro de una población susceptible. En este tipo de sistemas es común encontrar una alta proporción de becerros identificados como PI en un momento determinado debido a la introducción de los animales infectados y la exposición al virus de la toda la población de hembras susceptibles preñadas con menos de 125 días de gestación.

En contraste, en la mayoría de los rebaños lecheros solo aproximadamente el 30% de las vacas se encuentran preñadas con menos de 125 días de gestación en un momento determinado. De esta manera, el impacto de la introducción del VDVB podría ser moderado en la mayoría de los sistemas de producción lechera. En los rebaños de carne los becerros amamantados comúnmente están en contacto con el rebaño en cruzamiento durante la gestación temprana (antes de los 125 días de gestación), mo-

mento en el cual el feto es susceptible a una infección persistente con el VDVB. Por esta razón los becerros PI durante el amamantamiento son considerados la fuente primaria de infección de VDVB en los rebaños en reproducción, causando disminución en la tasa de concepción, muerte embrionaria, aborto, alta mortalidad pre-destete y la aparición de becerros PI en la próxima generación (Kelling *et al.*, 2000).

Bioseguridad y desarrollo de un plan operativo estándar

Resulta esencial asegurar el seguimiento de las prácticas de bioseguridad, tomando en cuenta la alta inversión requerida para el establecimiento del programa de prevención y control del VDVB. La introducción de animales es la vía de entrada más común del VDVB dentro de los rebaños de leche y carne. Es importante destacar que los procedimientos operativos deben ser desarrollados haciendo énfasis en las condiciones bajo las cuales se lleva a cabo la introducción de los animales en el rebaño (Kelling *et al.*, 2000).

La compra de toros, novillas y vacas vacías representa un riesgo mínimo de introducción del VDVB en el rebaño cuando estos son sometidos a las respectivas pruebas de diagnóstico (para asegurar que no están persistentemente infectados) y a una cuarentena de 30 días antes de su incorporación. El periodo de cuarentena de 30 días es la base de todos los procedimientos de bioseguridad para prevenir la introducción de animales con infección aguda. Si se compran hembras preñadas el feto debe ser tratado de la misma manera como un nuevo ingreso. Las hembras preñadas deben ser sometidas al diagnóstico para asegurar el estatus negativo de infección persistente y el becerro neonato también deberá ser sometido al diagnóstico para asegurar que no está persistentemente infectado antes de la introducción de ambos dentro del rebaño. Es primordial evitar el contacto del rebaño con cualquier animal con un estatus desconocido del VDVB.

Además, se deben considerar otras vías de transmisión del VDVB tales como: fomites, transplante de embriones, inseminación artificial y fauna silvestre, entre otros (Kirkland *et al.*, 1991; Gunn, 1993; Nielsen *et al.*, 2000; Frolich *et al.*, 2002). Se recomienda que el semen utilizado para la inseminación artificial sea recolectado de acuerdo a las normas de certificación para la producción de semen.

Actualmente el potencial para erradicar el VDVB es un problema discutible. Existen muchos reportes que apoyan la hipótesis de que el VDVB puede ser erradicado, y es evidente que existe un gran potencial para dicha erradicación, tal como ha sido sugerido en muchos países de Europa. Sin embargo, las industrias ganaderas de Europa y los EU están organizadas y manejadas de manera diferente. El éxito de las medidas de bioseguridad en los servicios de semen certificado para la inseminación artificial en la prevención de la DVB en rebaños cerrados indica que los rebaños negativos a VDVB pueden ser mantenidos libres de infección por muchos años. Adicionalmente, el hecho de que un pestivirus (relacionado con el VDVB) como lo es el virus de la Fiebre Porcina Clásica haya sido erradicado de los EU proporciona bases suficientes para pensar que el VDVB puede ser erradicado. Sin embargo, algunos factores como las vacunas de virus vivo modificado, los reservorios de la fauna silvestre y la ausencia de una integración y control vertical en la industria ganadera podrían disminuir las posibilidades de erradicar el VDVB de las poblaciones bovinas de los EU.

Programas de Vacunación eficientes

Además de la eliminación de los reservorios persistentemente infectados, la transmisión del VDVB puede ser reducida mediante un adecuado programa de vacunación. Basado en los estudios de campo y experimentales, está claro que los programas de vacunación limitan la transmisión gestacional y postnatal del VDVB. Aunque existen variaciones en los títulos de anticuerpos neutralizantes inducidos por las vacunas de virus inactivado y virus vivo modificado, la vacunación disminuye el porcentaje de animales virémicos y la transmisión del VDVB, además de disminuir las pérdidas asociadas con la enfermedad (Hamers *et al.*, 2000, 2002). La determinación de los títulos de anticuerpos en el suero no es una medida adecuada de la eficiencia de las vacunas (Cortese *et al.*, 1998; Ridpath *et al.*, 2003). Según la experiencia del autor, las hembras vacunadas expuestas al VDVB durante la preñez temprana pueden producir becerros persistentemente infectados.

La ventaja de prevenir los casos clínicos de DVB en el ganado es insignificante cuando se considera la prevención y control total de la enfermedad. Los programas de vacunación en rebaños en cruzamiento deben ser diseñados principalmente para prevenir las infecciones fetales, lo cual resulta más difícil que la prevención de los casos clínicos después de una infección aguda. Las evidencias experimentales indican que la vacunación de las vacas preñadas proporciona cierta protección a los fetos. Sin embargo, dicha protección no logra cubrir el 100 % de los fetos de las vacas expuestas al virus. La eficiencia de la vacunación materna en la protección fetal varía entre 25 y 100% para las vacunas inactivadas (Brownlie *et al.*, 1995) y entre 58 y 88 % para las vacunas vivas modificadas (Cortese *et al.*, 1998; Brock *et al.*, 2001).

Aunque las vacunas no son 100 % efectivas, las vacas producen niveles significativos de anticuerpos contra el VDVB después de la vacunación. Sin embargo, una cantidad suficiente del virus escapa de la inactivación de los anticuerpos circulantes en algunas hembras y el virus puede causar infección transplacentaria, aborto y el desarrollo de una infección fetal persistente, por lo cual los programas de vacunación como única herramienta resultan inadecuados para el control del VDVB (Brock *et al.*, 2001).

Vigilancia continúa y monitoreo

Con el establecimiento de los métodos de prevención y control del VDVB resulta imprescindible que las medidas tomadas sean evaluadas continuamente para determinar su efectividad. Las medidas de bioseguridad deben ser evaluadas a través de pruebas de diagnóstico constantes para asegurar que el virus no haya sido introducido. Una vez que se reduzca la prevalencia del VDVB en el rebaño es importante asegurar que el VDVB no sea introducido en poblaciones susceptibles. El uso continuo de las vacunas reducirá las pérdidas potenciales debido a la introducción del VDVB, especialmente en aquellos escenarios en los cuales diferentes poblaciones de animales están mezcladas en el mismo lote. La vacunación de los animales comprados antes de ingresar al rebaño es muy importante para reducir el número de animales PI en la finca.

Investigación y desarrollo

Algunos factores limitan la prevención y control del VDVB por lo cual es necesario mayores investigaciones. Es importante estudiar en profundidad la presencia de otras especies de animales ungulados como fuente del VDVB para los rebaños susceptibles. La transmisión del VDVB entre ovinos y bovinos ha sido demostrada pero la importancia de esta vía de transmisión aun no ha sido establecida (Carlsson y Belak, 1987). De igual manera, el VDVB también ha sido aislado de cerdos, pero la importancia de los cerdos como una fuente de transmisión del virus a los rebaños bovinos susceptibles tampoco ha sido reportada (Terpstra y Wensvoort, 1988; Liess y Moening, 1990). Los rumiantes silvestres tales como los venados han sido identificados seropositivos al VDVB en Norteamérica y Europa (Davidson y Crow, 1983). Sin embargo, la existencia de venados PI aun no ha sido completamente demostrada. Por el contrario, ha sido asumido que los bovinos son una fuente de VDVB para los rumiantes silvestres. Se necesita más información para estimar los riesgos de transmisión del VDVB por otras especies animales.

Otra área de investigación extremadamente importante es el desarrollo de las vacunas. Es necesario desarrollar vacunas que contengan un sistema marcador para distinguir entre animales vacunados y no vacunados. El desarrollo de vacunas que proporcionen una eficiente protección fetal sería crucial para el éxito de los programas de prevención y control del VDVB. Debido a que las actuales vacunas no proporcionan una completa protección fetal, los esfuerzos deben estar dirigidos a evitar la exposición de las hembras preñadas al VDVB y a la producción de infecciones fetales persistentes.

LITERATURA CITADA

- American Academy of Veterinary Consultants. American Academy of Veterinary Consultants annual meeting mission statement. Denver, CO, November; 2001.
- Brock KV, Cortese VS. 2001. Experimental fetal challenge using type II bovine viral diarrhea virus in cattle vaccinated with modified-live vaccine. *Vet Therap* 2:354-360.
- Brownlie J, Clarke MC, Hooper LB, *et al.* 1995. Protection of the bovine fetus from bovine viral diarrhea virus by means of a new inactivated vaccine. *Vet Rec* 137:58-62.
- Brownlie J, Clarke MC, Howard CJ. 1984. Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. *Vet Rec* 114:535-536.
- Carlsson U, Belak K. 1987. Border disease virus transmitted to sheep and cattle by a persistently infected ewe: Epidemiology and control. *Acta Vet Scand* 35:79-88.
- Cortese VS, Grooms DL, Ellis J, *et al.* 1998. Protection of pregnant cattle and their fetuses against infection with bovine viral diarrhea virus type 1 by use of a modified-live virus vaccine. *Am J Vet Res* 59:1409-1413.
- Cortese VS, Whittaker R, Ellis J, *et al.* 1998. Specificity and duration of neutralizing antibodies induced in healthy cattle after administration of a modified-live virus vaccine against bovine viral diarrhea. *Am J Vet Res* 59:848-850.
- Davidson WR, Crow CB. 1983. Parasites, diseases, and health status of sympatric populations of sika deer and white-tailed deer in Maryland and Virginia. *J Wildlife Dis* 19:345-348.

- Frolich K, Thiede S, Kozikowski T, *et al.* 2002. A review of mutual transmission of important infectious diseases between livestock and wildlife in Europe. *Ann New York Acad Sci* 969: 4-13.
- Fulton RW, Purdy CW, Confer AW. 2000. Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease: Interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-2 virus, and bovine respiratory Syncytial virus. *Can J Vet Res* 64:151-159.
- Fulton RW, Ridpath JF, Saliki JT, *et al.* 2002. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1b: predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. *Can J Vet Res* 66:181-190.
- Grooms MD, Brock KV. 1993. Impact of BVDV Persistently Infected Animals Co-mingled with Feedlot Cattle CRWAD 2002. Gunn HM: Role of fomites and flies in the transmission of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Rec* 132:584-585.
- Hamers C, di Valentin E, Lecomte C, *et al.* 2000. Virus neutralizing antibodies against a panel of 18 BVDV isolates in calves vaccinated with Rispoval RS-BVD. *J Vet Med B* 47:721-726.
- Hamers C, di Valentin E, Lecomte C. *et al.* 2002. Virus neutralizing antibodies against 22 bovine viral diarrhoea virus isolates in vaccinated calves. *Vet J* 163:61-67.
- Harkness JW. 1987. The control of bovine viral diarrhoea virus infection. *Ann Rech Vet* 18:167-174.
- Kelling CL, Grotelueschen DM, Smith DR, *et al.* 2000. Testing and management strategies for effective beef and dairy herd BVDV biosecurity programs. *Bov Prac* 34:13-22.
- Kirkland PD, Richards SG, Rothwell JT, *et al.* 1991. Replication of bovine viral diarrhoea virus in the bovine reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. *Vet Rec* 128:587-590.
- Liess B, Moenning V. 1990. Ruminant pestivirus infection in pigs. 1990. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 9:151-161.
- McClurkin AW, Coria MF, Cutlip RC. 1979. Reproductive performance of apparently healthy cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *J Am Vet Med Assoc* 174:1116-1119.
- McClurkin AW, Littledike ET, Cutlip RC, *et al.* 1984. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Can J Comp Med*; 48:156-161.
- Munoz-Zanzi CA, Hietala SK, Thurmond MC, Johnson WO. 2003. Quantification, risk factors, and health impact of natural congenital infection with bovine viral diarrhoea virus in dairy calves. *Am J Vet Res*.64:358-365.
- Nielsen SS, Roensholt L, Bitsch V. 2000. Bovine virus diarrhoea virus in free-living deer from Denmark. *J Wildlife Dis* 36:584-587.
- Ridpath JF, Neill JD, Endsley J, *et al.* 2003. Effect of passive immunity on the development of a protective immune response against bovine viral diarrhoea virus in calves. *Am J Vet Res* 64:65-69.
- Terpstra C, Wensvoort G. 1988. Natural infections of pigs with bovine viral diarrhoea virus associated with signs resembling swine fever. *Res Vet Sci* 45:137-142.
- Wittum TE, Grotelueschen DM, Brock KV, *et al.* 2001. Persistent bovine viral diarrhoea virus infection in U.S. beef herds. *Prev Vet Med* 49:83-94.