

Recibido 02 de noviembre de 2015 // Aceptado 17 de julio de 2016 // Publicado online 02 de noviembre de 2016

Pestivirus emergentes HoBi: impacto en salud animal y su importancia como contaminante de insumos biotecnológicos

PECORA, A.¹; PÉREZ AGUIRREBURUALDE, M.S.¹; MALACARI, D.A.¹; ZÁBAL, O.¹; BAUERMANN, F.²; RIDPATH, J.²; DUS SANTOS, M.J.¹

RESUMEN

Los virus HoBi son un grupo de Pestivirus emergentes que afecta a bovinos y bubalinos y son contaminantes muy comunes de productos biológicos. Luego de ser identificados por primera vez en Alemania a partir muestras brasileras en el año 2004, han sido reportados numerosos aislamientos de virus HoBi en Brasil, Italia y algunos países asiáticos. De este modo, este patógeno ha generado preocupación en veterinarios y productores de rodeos bovinos y bubalinos al haber estado involucrado en eventos de cuadros respiratorios severos, abortos y animales persistentemente infectados.

Debido a la falta de un sistema de vigilancia activo para estos nuevos patógenos y a que puede confundirse con Diarrea Viral Bovina, no se conoce su verdadero impacto sobre las poblaciones bovinas. En Argentina, la presencia de los virus HoBi no ha sido estudiada, ni desde el punto de vista epidemiológico ni en cuanto a su potencial como agente adventicio en productos biológicos y líneas celulares. El objetivo de este artículo es brindar un análisis de la situación epidemiológica mundial de los virus HoBi para generar un acercamiento y despertar el interés de los veterinarios, virólogos y autoridades sanitarias por este patógeno emergente. Es fundamental lograr una mayor inversión y participación en actividades de investigación interdisciplinarias para aclarar aspectos básicos de la epidemiología de estos nuevos patógenos y de su posible impacto en los sistemas productivos de los países de Sudamérica.

Palabras clave: Virología, agentes contaminantes.

ABSTRACT

HoBi-like viruses are a group of emerging Pestiviruses which affects cattle and water buffaloes and are common contaminants of biological products. After the first detection from Brazilian samples in Germany in 2004, several HoBi-like isolates have been reported in Brazil, Italy and some countries of Asia. Thus, this pathogen has caused concern to cattle and buffalo farmers and veterinarians as it has been involved in events of severe respiratory symptoms, abortions and persistently infected animals and mucosal like-disease.

Due to the lack of an active surveillance system for HoBi-like viruses and since infections with them can be mistaken for bovine viral diarrhea, the true impact on cattle populations is unknown. In Argentina, the existence of HoBi-like viruses has not been studied, nor from an epidemiological point of view or in terms of its potential as an adventitious agent in biological products and cell lines. The aim of this article is to provide an analysis of the worldwide epidemiological situation of HoBi-like viruses, in order to generate an approach and to awaken interest in veterinarians, virologists and health authorities for this emerging pathogen. It is essential to achieve greater investment and participation in interdisciplinary research to

¹Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina.
Correo electrónico: pecora.andrea@inta.gov.ar

²Ruminant Disease and Immunology Research Unit, National Animal Disease Center, USDA, Agricultural Research Service, Iowa, Estados Unidos.

clarify basic aspects of the epidemiology of this new pathogen and to establish its possible impact on the productive systems of the South American countries.

Keywords: Virology, animal health, contaminant agents.

INTRODUCCIÓN

El género Pestivirus, de la familia *Flaviviridae*, está compuesto por los Virus de la Diarrea Viral Bovina de los tipos 1 y 2 (VDVB 1 y VDVB 2), Virus de la Peste Porcina Clásica (VPPC) y el Virus de la Enfermedad de las Fronteras (VEF) (Collett *et al.*, 2005). Los VDVB 1 y VDVB 2 son importantes patógenos que afectan principalmente a bovinos y la circulación de este virus en sistemas productivos resulta en pérdidas económicas significativas en todo el mundo (Houe, 2003). La infección con VDVB resulta en un amplio rango de manifestaciones, que van desde una enfermedad respiratoria o gastrointestérica leve a síndromes hemorrágicos, dependiendo de la virulencia del virus y del estado inmunológico y reproductivo del animal. Los VDVB pueden atravesar la placenta e infectar al feto en cualquier estadio de la gestación provocando infertilidad transitoria, abortos, malformaciones congénitas o nacimiento de animales persistentemente infectados (PI). Estos últimos son la principal fuente de diseminación del virus y, al ser susceptibles a la reinfección por una cepa citopática, pueden padecer el cuadro conocido como “enfermedad de las mucosas” (Baker, 1995).

En Argentina, el VDVB es endémico y la estrategia que se emplea para controlarlo consiste en la vacunación con formulaciones inactivadas. Con respecto al VPPC, este pudo ser erradicado en el país luego de intensas campañas de vacunación, y en referencia al VEF, no se ha investigado su circulación en el territorio argentino.

Este artículo presenta una revisión de los virus emergentes HoBi, que han sido reportados últimamente en varios países del mundo, pero no han sido estudiados en Argentina ni en la mayoría de los países latinoamericanos. Consideramos que su estudio es importante desde el punto de vista de la sanidad animal de los rumiantes y de la seguridad de los productos biológicos que utilizan suero fetal bovino en su composición.

Pestivirus atípicos “HoBi”

Además de los agentes virales previamente mencionados que componen el género Pestivirus, hay otras especies tentativas que han sido propuestas, como el grupo de virus conocido como “HoBi” o “Pestivirus Atípico” (Bauermann y Ridpath, 2015). Recientemente en Italia se realizaron estudios retrospectivos en los que se analizaron lotes de suero fetal bovino (SFB) del año 1992 y se logró identificar al agente. Esto significaría que probablemente este patógeno ha estado circulando en bovinos desde hace más de 20 años.

Los virus HoBi a menudo están implicados en casos clínicos similares a los VDVB y es por ello que algunos autores lo denominan VDVB de tipo 3 o VDVB-3. El nombre tentativo “HoBi” proviene de las primeras letras de los nombres de un investigador alemán (Horst Schirrmeyer) y de su asistente (Birgit Meinke), quienes lograron uno de los primeros aislamientos de este Pestivirus a partir de una línea celular ovina cuyo medio de cultivo fue suplementado con SFB de origen brasilero –conocido como “lote 547”– contaminado con este agente (Schirrmeyer *et al.*, 2004).

Los virus HoBi han sido aislados a partir de casos clínicos en diversos países como Italia, Bangladesh, India y Brasil (figura 1). Asimismo, en Tailandia se ha comprobado seroconversión para el virus HoBi en cuatro rodeos bovinos y además se detectó un animal virémico a través de los métodos de ELISA y RT-PCR (Kampa *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2009).

Particularmente en Italia, en el año 2009, los virus HoBi generaron un brote de cuadros respiratorios afectando terneros de 6-7 meses (Decaro *et al.*, 2011). En este episodio, estos virus fueron detectados a partir de muestras de hisopados nasales y también en pulmones luego de realizar las necropsias de dos animales muertos. Los signos clínicos asociados a estos cuadros fueron hipertermia, tos, descarga nasal seromucosa, leucopenia y frecuencia respiratoria acelerada. En el año 2011, también en Italia, se comprobó que los virus HoBi fueron causantes de abortos bovinos (Decaro *et al.*, 2012a).

En India y Bangladesh los aislamientos de virus HoBi se obtuvieron a partir de bovinos de establecimientos con historias de problemas respiratorios, entéricos o reproductivos (Haider *et al.*, 2014; Mishra *et al.*, 2014).

En Brasil, los virus HoBi son endémicos en ganado bovino y probablemente también en bubalinos, habiéndose reportado casos naturales de abortos, enfermedad respiratoria y enfermedad de las mucosas (Cortez *et al.*, 2006; Bianchi *et al.*, 2011; Weber *et al.*, 2014; Bauermann y Ridpath, 2015). Uno de los primeros aislamientos de virus HoBi, “BrazBuf9” (Stalder *et al.*, 2005) fue identificado a fines de los 90 en búfalos de agua.

En Argentina los virus HoBi no han sido estudiados en rodeos bovinos ni en búfalos, así como tampoco se han estandarizado las técnicas diagnósticas para lograr su detección. No hay disponible información acerca de la situación en el resto de los países latinoamericanos hispanoparlantes, por lo cual se desconoce por completo la situación epidemiológica.



Figura 1. Distribución de los virus HoBi aislados hasta la fecha. Se han detectado virus HoBi en lotes de suero fetal bovino (SFB) generados en Brasil, México*, Canadá*, Estados Unidos* y en Australia* (Xia *et al.*, 2011). Sin embargo, de esos 5 países, solo en Brasil se aisló el virus a partir de infecciones naturales en bovinos y búfalos de agua (Bianchi *et al.*, 2011; Cortez *et al.*, 2006). Dentro de Europa, en Italia se aisló al virus HoBi a partir de casos clínicos en bovinos (Decaro *et al.*, 2011; Decaro *et al.*, 2012a). En India, Tailandia y Bangladesh se aislaron virus HoBi en establecimientos con problemas respiratorios y reproductivos (Mishra *et al.*, 2014; Kampa *et al.*, 2009). En China se ha aislado al virus HoBi a partir de una línea celular bovina (Mao *et al.*, 2012).

Diversidad genética

En comparación con el resto de los Pestivirus, la identidad de las secuencias de la proteasa viral “Npro” y la proteína inmunodominante “E2” de los virus HoBi es menor al 70%, lo que representa importantes diferencias génicas (Liu *et al.*, 2009). De manera similar, estudios de seroneutralización y caracterización con anticuerpos monoclonales revelaron diferencias antigénicas marcadas entre los virus HoBi y los demás Pestivirus (Bauermann *et al.*, 2012).

Actualmente, se sugiere que existen cuatro clados de virus HoBi, en los que se agrupan las cepas brasileñas, tailandesas, italianas y de India/Bangladesh. Recientemente, se ha reportado que en India y Bangladesh existen cepas de virus HoBi pertenecientes a más de un clado (Haider *et al.*, 2014; Mishra *et al.*, 2014; Bauermann y Ridpath, 2015). Esto abriría la posibilidad de que en realidad los virus HoBi hayan surgido en Asia. Debido a que las razas principales de búfalos provienen de esas regiones, de donde fueron exportadas a otros continentes, hay quienes sospechan que los virus HoBi han estado primeramente en estos animales y se han diseminado imperceptiblemente (Bauermann *et al.*, 2013b). Entonces, ¿los virus HoBi son realmente emergentes, u ocurrió que en el mundo no se contaba con técnicas adecuadas para detectarlos?

Presentaciones clínicas de los virus HoBi en casos naturales y en infecciones experimentales

En cuanto al potencial patogénico de los virus HoBi, se han aislado a partir de casos clínicos naturales de enfer-

medad respiratoria, diarrea y problemas reproductivos incluyendo abortos. Sin embargo, también se han detectado a estos Pestivirus en animales aparentemente sanos (Schirmer *et al.*, 2004; Decaro *et al.*, 2011; Decaro *et al.*, 2012a; Mishra *et al.*, 2014). El hecho de que los virus HoBi coexistan con los VDVB en ciertas regiones dificulta la investigación de su impacto específico y las estimaciones de pérdidas económicas que estos virus generan.

Experimentalmente se ha logrado infectar terneros utilizando diferentes cepas de virus HoBi, generando cuadros respiratorios, acompañados de hipertermia, leucopenia y posterior seroconversión (tabla 1). Asimismo, se han infectado vacas preñadas obteniendo abortos y nacimiento de animales persistentemente infectados (Bauermann *et al.*, 2014a).

Dentro de los Pestivirus, las infecciones con VDVB y VEF no se restringen a bovinos y ovinos respectivamente, sino que también ocurren infecciones de VEF en bovinos y viceversa. Solamente existe una restricción etiológica en infecciones con VPPC en rumiantes. Con respecto a los virus HoBi, se reportó que fue posible infectar experimentalmente corderos con éxito, generando signos respiratorios (secreción nasal), hipertermia moderada, leucopenia, viremia y excreción viral a través de secreciones nasales y materia fecal. Asimismo, se comprobó experimentalmente que estos virus pueden generar abortos, malformaciones e inclusive animales persistentemente infectados en ovejas preñadas. Contrariamente, cerdos inoculados con el mismo virus no presentaron signos clínicos, leucopenia ni PCR positiva los días posteriores a la infección (Decaro *et al.*, 2012b; Decaro *et al.*, 2015).

Cepa de referencia	Temperatura rectal	Signos respiratorios	% de leucopenia	Viremia	Excreción viral	Seroconversión
Hobi D32/00	aumento leve	sin signos clínicos	leucopenia leve	(+) 5 dpi	(+) 3-6 dpi en hisopados nasales	verificada
Italy-1/10-1	40 °C 3 y 7 dpi	secreción nasal seromucosa	50% 3-10 dpi	(+) 5-24 dpi	(+) 5-21 dpi en secreciones nasales (+) 7-21 dpi en materia fecal	verificada
Th04_Khonkean	39 °C 7-10 dpi	secreciones nasales y oculares, tos y conjuntivitis	40% 5-7 dpi	(+) 5-9 dpi	(+) 5-7 dpi en secreciones nasales	verificada
Hobi_D32/00	aumento leve	sin signos clínicos	65% 9 dpi	(+) 3-9 dpi intermitente	(+) 3-9 en secreciones nasales intermitentes	verificada

Tabla 1. Descripción de las manifestaciones clínicas luego de infecciones experimentales de terneros con virus HoBi (adaptado de Bauermann *et al*, 2013b); dpi: días posinfección.

Herramientas diagnósticas y de profilaxis para los virus HoBi

Los test diagnósticos diseñados para detectar VDVB que se utilizan actualmente suelen fallar para detectar a los virus HoBi. Hasta el momento, no se han desarrollado anticuerpos monoclonales específicos para este grupo de Pestivirus y no es posible diferenciarlos de los VDVB a través de técnicas como aislamiento viral. En el campo de la biología molecular, se han descrito varios cebadores capaces de detectar específicamente a los virus HoBi en reacciones de RT-PCR (Bauermann y Ridpath, 2015). Recientemente, se ha desarrollado en Italia una PCR Multiplex en tiempo real que permite detectar y diferenciar a los virus HoBi, VDVB-1 y VDVB-2 (Mari *et al.*, 2015).

Ante la falta de kits diagnósticos comerciales para detectar anticuerpos específicos contra los virus HoBi, algunos investigadores optan por realizar ensayos clásicos de seroneutralización contra estos virus y contra VDVB en paralelo para luego comparar los títulos de anticuerpos neutralizantes de los animales contra esos patógenos (Bauermann *et al.*, 2013b).

En cuanto a las herramientas de profilaxis, se ha demostrado que tanto las vacunas atenuadas como las inactivadas contra VDVB producen una protección débil contra los virus HoBi (Bauermann *et al.*, 2013a). Por un lado, esta baja protección que conferirían las vacunas comerciales formuladas con VDVB 1 y 2 contra los virus HoBi podría repercutir en un alto número de animales susceptibles, con la generación de animales persistentemente infectados que excreten el virus en la mayor parte de sus fómites. Actualmente no existen en el mundo vacunas comerciales diseñadas para proteger al ganado contra los virus HoBi. Por otro lado, esta carencia puede ser útil para realizar tareas de vigilancia serológica.

Hallazgos en líneas celulares e insumos biotecnológicos

Los Pestivirus en general y los virus HoBi en particular son una amenaza para la inocuidad de las líneas celulares y productos biológicos. Hasta la fecha se han reportado varios estudios que determinaron la presencia de los virus HoBi en lotes de SFB, que sugieren la diseminación del agente a través de líneas celulares (Mao *et al*, 2012; Giangaspero, 2013; Xia *et al.*, 2011; Xia *et al.*, 2013). La diseminación de los virus HoBi no solo afecta la producción animal, sino que también amenaza al estado de "Pestivirus free" que algunos países europeos han logrado luego de inmensos esfuerzos.

En el ámbito del laboratorio, el SFB es utilizado para para la amplificación de células en cultivos para propagar virus empleados en investigación y para la formulación de vacunas y en otros procesos como trasplante embrionario. También se ha sugerido que es el principal "chivo expiatorio" para explicar la amplia diseminación de los virus HoBi (Giangaspero, 2013). En este sentido, se ha reportado la detección de material genético de los virus HoBi en lotes de SFB provenientes de varios países como Brasil, Australia, Canadá, México y Estados Unidos (Xia *et al.*, 2011) (figura 1). Sin embargo, no pudo determinarse si la contaminación con estos agentes se dio en los países de origen o durante la mezcla de lotes de SFB de diferentes procedencias, que se realiza en muchos casos en países europeos (Bauermann *et al.*, 2014b). Frente a esta problemática, hay algunos puntos para destacar: En primer lugar, la diseminación de los Pestivirus podría reducirse o incluso evitarse si el SFB se comercializara únicamente irradiado. En segundo lugar, actualmente no se exige la determinación de virus HoBi en los estudios de rutina para el uso de SFB, líneas celulares o cepas vacunales. Y por último, pero no menos importante, hay que aclarar que el proceso de filtración que

se utiliza comúnmente durante la manufactura del SFB no evita la presencia de Pestivirus, debido al pequeño tamaño de las partículas virales.

Todo esto debe ser tenido en cuenta al momento de trabajar con técnicas de trasplante embrionario y con insumos biológicos a escala de investigación como a escala industrial, de manera de poder asegurar la calidad de los productos.

En resumen, tal como han señalado los Dr. Schweizer y Peterhans, "es probable que haya más científicos que trabajan con Pestivirus que científicos que trabajan conscientemente con Pestivirus" (Schweizer y Peterhans, 2014).

CONCLUSIONES

El número creciente de reportes sobre los Pestivirus HoBi plantea dos preocupaciones principales: una relacionada con la aparición y propagación de estos patógenos, con consecuencias en el área de salud animal y control de enfermedades. La segunda preocupación está relacionada con el problema de la contaminación de lotes de SFB, con implicancias para la bioseguridad de los productos biológicos que lo contienen, tales como las vacunas, los reactivos de diagnóstico, kits y otros productos de la bioindustria.

Específicamente en el área de salud animal, es importante determinar si los virus HoBi circulan en nuestros rodeos, y de forma complementaria saber si las herramientas tanto de profilaxis como de detección del VDVB en nuestro país sirven de igual manera para detectar y enfrentar a este agente viral.

Asimismo, se debe reconocer la relevancia que tiene la calidad de los insumos biológicos que utilizamos, no solo con fines académicos, sino también para la utilización de líneas celulares utilizadas para los servicios de diagnóstico y formulación de vacunas a nivel industrial. En este aspecto, es importante concientizar sobre el impacto que pueden generar los virus adventicios.

Por último, consideramos que esta problemática requiere la profundización de las investigaciones a nivel nacional e internacional para saber cuál es la situación real frente a los virus HoBi, cuál es el impacto económico que generan y si son verdaderamente virus emergentes.

BIBLIOGRAFÍA

- BAKER, J., 1995. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pr.* 3, 425–45.
- BAUERMANN, F.V.; FALKENBERG, S.M.; VANDER LEY, B.; DECARO, N.; BRODERSEN, B.W.; HARMON, A.; HESSMAN, B.; FLORES, E.F.; RIDPATH, J.F.; 2014a. Generation of calves persistently infected with HoBi-like pestivirus and comparison of methods for detection of these persistent infections. *J. Clin. Microbiol.* 52(11): 3845–52. doi:10.1128/JCM.01563-14.
- BAUERMANN, F.V.; FLORES, E.F.; FALKENBERG, S.M.; WEIBLEN, R.; RIDPATH, J.F.; 2014b. Lack of evidence for the presence of emerging HoBi-like viruses in North American fetal bovine serum lots. *J. Vet. diagnostic Investig.* 26, 10–7. doi:10.1177/1040638713518208.
- BAUERMANN, F.V.; FLORES, E.F.; RIDPATH, J.F.; 2012. Antigenic relationships between Bovine viral diarrhoea virus 1 and 2 and HoBi virus: possible impacts on diagnosis and control. *J. Vet. diagnostic Investig.* 24, 253–61. doi:10.1177/1040638711435144.
- BAUERMANN, F.V.; HARMON, A.; FLORES, E.F.; FALKENBERG, S.M.; REECY, J.M.; RIDPATH, J.F. 2013a. In vitro neutralization of HoBi-like viruses by antibodies in serum of cattle immunized with inactivated or modified live vaccines of bovine viral diarrhoea viruses 1 and 2. *Vet. Microbiol.* 166, 242–245.
- BAUERMANN, F.V.; RIDPATH, J.F. 2015. HoBi-like viruses – the typical "atypical bovine pestivirus." *Anim. Heal. Res. Rev.* 16, 64–69. doi:10.1017/S146625231500002X
- BAUERMANN, F.V.; RIDPATH, J.F.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F. 2013b. HoBi-like viruses: an emerging group of pestiviruses. *J Vet Diagn Invest.* 25 (1), 6–15.
- BIANCHI, E.; MARTINS, M.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F.; E. 2011. Perfil genotípico e antigênico de amostras do vírus da diarréia viral bovina isoladas no Rio Grande do Sul (2000-2010). *1. Pesq. Vet. Bras.* 31, 649–655.
- COLLETT, S.M.; GOULD, E.A.; HEINZ, F.X.; HOUGHTON, M.; MEYERS, G.; PURCELL, R.H.; RICE, C.M. 2005. Family flaviviridae. En: Press, A. (Ed.), 8th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, pp. 979–996.
- CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B.; CASTRO, A.M.M.G.; DE SOARES, R.M.; PINTO, A.M.V; ALFIERI, A.A.; FLORES, E.F.; LEITE, R.C.; RICHTZENHAIN, L.J. 2006. Genetic characterization of Brazilian bovine viral diarrhoea virus isolates by partial nucleotide sequencing of the 5' -UTR region 1. *Pesq. Vet. Bras.* 26, 211–216.
- DECARO, N.; LOSURDO, M.; LAROCCA, V.; LUCENTE, M.S.; MARI, V.; VARELLO, K.; PATRUNO, G.; CAMERO, M.; SCIARRA, M.; OCCHIOGROSSO, L.; TEMPESTA, M.; IULINI, B.; BUONAVOGLIA, C. 2015. HoBi-like pestivirus experimental infection in pregnant ewes: Reproductive disorders and generation of persistently infected lambs. *Vet. Microbiol.* 178, 173–180. doi:10.1016/j.vetmic.2015.05.011
- DECARO, N.; LUCENTE, M.S.; MARI, V.; CIRONE, F.; CORDIOLI, P.; CAMERO, M.; SCIARRETTA, R.; LOSURDO, M.; LORUSSO, E.; BUONAVOGLIA, C. 2011. Atypical pestivirus and severe respiratory disease in calves, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1549–1552. doi:10.3201/eid1708.101447
- DECARO, N.; LUCENTE, M.S.; MARI, V.; SCIARRETTA, R.; PINTO, P.; BUONAVOGLIA, D.; MARTELLA, V.; BUONAVOGLIA, C. 2012a. Hobi-like pestivirus in aborted bovine fetuses. *J. Clin. Microbiol.* 50, 509–12. doi:10.1128/JCM.05887-11
- DECARO, N.; MARI, V.; LUCENTE, M.S.; SCIARRETTA, R.; MORENO, A.; ARMENISE, C.; LOSURDO, M.; CAMERO, M.; LORUSSO, E.; CORDIOLI, P.; BUONAVOGLIA, C.; 2012b. Experimental infection of cattle, sheep and pigs with "Hobi"-like pestivirus. *Vet. Microbiol.* 155, 165–71. doi:10.1016/j.vetmic.2011.08.030
- GIANGASPERO, M. 2013. Pestivirus Species Potential Adventitious Contaminants of Biological Products. *Trop. Med. Surg.* 01, 1–4. doi:10.4172/2329-9088.1000153
- HAIDER, N.; RAHMAN, M.; KHAN, S.; MIKOLON, A.; GURLEY, E.; OSMANI, M.; SHANTA, I.; PAUL, S.; MACFARLANE-BERRY, L.; ISLAM, A.; DESMOND, J.; EPSTEIN, J.; DASZAK, P.; AZIM, T.; LUBY, S.; ZEIDNER, N.; RAHMAN, M.Z. 2014. Identification and epidemiology of a Rare HoBi-Like Pestivirus Strain in Bangladesh. *Transbound Emerg Dis.* 61, 193–198.

- HOUE, H. 2003. Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals* 31, 137–143. doi:10.1016/S1045-1056(03)00030-7
- KAMPA, J.; ALENIUS, S.; EMANUELSON, U.; CHANLUN, A.; AIUMLAMAI, S. 2009. Bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in dairy herds: Self clearance and the detection of seroconversions against a new atypical pestivirus. *Vet. J.* 182, 223–230. doi:10.1016/j.tvjl.2008.07.006
- LIU, L.; KAMPA, J.; BELÁK, S.; BAULE, C.; 2009. Virus recovery and full-length sequence analysis of atypical bovine pestivirus Th/04_KhonKaen. *Vet. Microbiol.* 138, 62–8. doi:10.1016/j.vetmic.2009.03.006
- LIU, L.; XIA, H.; BAULE, C.; BELÁK, S. 2009. Maximum likelihood and Bayesian analyses of a combined nucleotide sequence dataset for genetic characterization of a novel pestivirus, SVA/cont-08. *Arch. Virol.* 154, 1111–1116. doi:10.1007/s00705-009-0419-4
- MAO, L.; LI, W.; ZHANG, W.; YANG, L.; JIANG, J. 2012. Genome sequence of a novel Hobi-like pestivirus in China. *J. Virol.* 86, 12444. doi:10.1128/JVI.02159-12
- MARI, V.; LOSURDO, M.; LUCENTE, M.S.; LORUSSO, E.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; PATRUNO, G.; BUONAVOGLIA, D.; DECARO, N. 2015. Multiplex real-time RT-PCR assay for bovine viral diarrhoea virus type 1, type 2 and HoBi-like pestivirus. *J. Virol. Methods*. doi:10.1016/j.jviromet.2015.12.003
- MISHRA, N.; RAJUKUMAR, K.; PATERIYA, A.; KUMAR, M.; DUBEY, P.; BEHERA, S.P.; VERMA, A.; BHARDWAJ, P.; KULKARNI, D.D.; VIJAYKRISHNA, D.; REDDY, N.D. 2014. Identification and molecular characterization of novel and divergent HoBi-like pestiviruses from naturally infected cattle in India. *Vet. Microbiol.* 174(1-2):2. doi:10.1016/j.vetmic.2014.09.017
- SCHIRRMEIER, H.; STREBELOW, G.; DEPNER, K.; HOFFMANN, B.; BEER, M.; 2004. Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species. *J. Gen. Virol.* 85, 3647–52. doi:10.1099/vir.0.80238-0
- SCHWEIZER, M.; PETERHANS, E. 2014. Pestiviruses supplemental material 2. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2, 141–163. doi:10.1146/annurev-animal-022513-114209
- STALDER, H.; MEIER, P.; PFAFFEN, G.; WAGECK-CANAL, C.; RÜFENACHT, J.; SCHALLER, P.; BACHOFEN, C.; MARTI, S.; VOGT, H.R.; PETERHANS, E. 2005. Genetic heterogeneity of pestiviruses of ruminants in Switzerland. *Prev. Vet. Med.* 72, 37–41. doi:10.1016/j.prevetmed.2005.01.020
- WEBER, M.N.; SILVEIRA, S.; CANAL, C.W.; 2011. Bovine Viral Diarrhoea in Brazil: Current Status and Future Perspectives. *Br. J. Virol.* 1, 92–97.
- XIA, H.; LARSKA, M.; GIAMMARIOLI, M.; DE MIA, G.M.; CARDETI, G.; ZHOU, W.; ALENIUS, S.; BELÁK, S.; LIU, L. 2013. Genetic detection and characterization of atypical bovine pestiviruses in foetal bovine sera claimed to be of Australian origin. *Transbound. Emerg. Dis.* 60, 284–288. doi:10.1111/j.1865-1682.2012.01341.x
- XIA, H.; VIJAYARAGHAVAN, B.; BELAK, S.; LIU, L. 2011. Detection and Identification of the Atypical Bovine Pestiviruses in Commercial Foetal Bovine Serum Batches. *PLoS One* 6, 2–4. doi:10.1371/journal.pone.0028553