

XVIII

CIC

XI ENPOS
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:
por uma ciência do devir



AVALIAÇÃO DA IMUNIDADE HUMORAL EM REBANHOS VACINADOS E NÃO VACINADOS CONTRA HERPERVIRUS BOVINO TIPO 1

SILVA, Luis Gustavo Crochemore; SIEDLER, Bianca Sica; NUNES, Cristina Freitas; MUNHOZ, Livia Silveira; FINGER, Paula Fonseca; VILELA, Camila de Oliveira; CASTRO, Clarissa Caetano; VIDOR, Telmo; FISCHER, Geferson; HÜBNER, Silvia de Oliveira.

Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. gugacrochemore@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) pertence à família *Herpesviridae*, subfamília *Alfaherpesvirinae*, gênero *Varicellovírus* e tem distribuição mundial (Gibbs & Rweyemamu, 1977; Hedger & Hamblin, 1978; Ackermann *et al.*, 1990; Duhran & Hassard, 1991). Animais infectados com o vírus podem apresentar problemas respiratórios ou genitais em fêmeas e machos, sendo os quadros conhecidos como Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IPV) e Balanopostite Pustular Infecciosa (IPB), respectivamente (Weiblen, 1992). O impacto econômico desta enfermidade é observado pelo retardo do crescimento de animais jovens, menor produção leiteira, redução da eficiência reprodutiva e abortos (Bortot *et al.*, 2009). Após a infecção, os abortos podem ocorrer em qualquer período da gestação, embora sejam mais frequentes no terço final (Miller, 1991; Weiblen, 1992), dessa forma o vírus traz grandes prejuízos reprodutivos e genéticos. O BoHV-1 causa infecções latentes que podem ser reativadas periodicamente resultando em liberação de partículas virais e conseqüente infecção de animais suscetíveis (Ackermann *et al.*, 1982; Fenner *et al.*, 1993).

O herpesvírus está presente de forma enzoótica no Brasil há vários anos, com evidências sorológicas da infecção em todos os locais onde foi pesquisado. Nos primeiros estudos sorológicos realizados no Rio Grande do Sul, foram encontrados 33% de soros positivos entre os testados (Wizigmann *et al.*, 1972).

Para o controle da enfermidade é recomendado o uso de vacinação, pois o vírus é altamente contagioso e a ocorrência de surtos é imprevisível (Van Donkersgoed & Babiuk, 1991). Alguns estudos indicam que rebanhos vacinados adequadamente têm melhora nos índices reprodutivos (Dias, 2006). No Brasil comercialmente são utilizadas vacinas inativadas ou vivas, neste caso termo-sensíveis.

Diante do exposto, tivemos como objetivo avaliar a imunidade humoral em rebanhos bovinos vacinados e não vacinados, mediante a titulação de anticorpos específicos, a fim de obter um perfil do nível de imunidade contra o BoHV-1 nesses rebanhos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 129 amostras de bovinos imunizados com vacinas comerciais e 358 amostras de bovinos não vacinados, totalizando 487 amostras. As amostras foram oriundas de propriedades da região sul do Rio Grande do Sul, as quais possuíam histórico de problemas reprodutivos. Foram considerados como sendo vacinados, aqueles que receberam pelo menos uma dose de vacina. Não havia informações a respeito do tipo de vacina utilizada (inativada ou viva) e sobre o tempo decorrido da última dose. As amostras de sangue foram remetidas espontaneamente (amostragem de demanda) ao Laboratório de Virologia e Imunologia da Universidade Federal de Pelotas no período decorrente dos anos de 2008 e 2009, e após a obtenção de soro foram submetidas à técnica de soroneutralização (SN).

A SN é uma técnica padrão aceita internacionalmente para detecção de anticorpos contra os herpesvírus bovinos. As amostras de soro foram diluídas em microplacas em série, a partir de 1:2 a 1:256, em meio Eagle (MEM; Gibco BRL, UK), e incubadas por 1 hora a 37°C com 100 doses infectantes para 50 % dos cultivos celulares (DICC₅₀) da amostra Los Angeles de BoHV-1. Após a incubação, uma suspensão contendo cerca de 40.000 células MDBK (Madin Darby Bovine Kidney), foi adicionada. As microplacas foram então incubadas a 37°C em atmosfera contendo 5 % de CO₂ por até três dias. A leitura das microplacas foi realizada quando a titulação reversa confirmava as 100 DICC₅₀, e os títulos de anticorpos foram definidos como a recíproca da maior diluição capaz de inibir totalmente o efeito citopático do vírus. Amostras de soro com título < 2 foram consideradas negativas. Animais com títulos de anticorpos iguais ou superiores a 8 foram considerados com níveis satisfatórios de resposta humoral.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 129 bovinos vacinados e analisados, 109 (84,5%) apresentaram anticorpos, dentre esses, 78 (60,5%) apresentaram anticorpos neutralizantes considerados satisfatórios para a proteção contra enfermidade. Uma parcela dos animais (n=20/15,5%) não apresentou anticorpos contra o BoHV-1 e 31 bovinos vacinados (24%), embora tenham apresentado anticorpos, estes existiam em baixos níveis, indicando falha na imunização (Tabela 1). Várias razões podem explicar, ao menos parcialmente, a falha na indução de imunidade. Foi considerado como vacinado o bovino que havia sido imunizado pelo menos uma vez, porém, se a vacinação foi realizada em um animal muito jovem, os anticorpos maternos podem ter interferido no desenvolvimento de uma imunidade ativa. Também pode ter sido realizada a imunização em animais com sistema imunológico debilitado. Sabendo que as vacinas para essa enfermidade conferem imunidade humoral durante um curto período, talvez alguns animais já estivessem com baixos níveis de anticorpos por haver decorrido muito tempo da última dose. Além disso, deve-se considerar que o estoque e o manejo das vacinas podem influenciar sua eficácia, e que as vacinas podem apresentar diferentes capacidades imunogênicas. Contudo, diante do grande número de bovinos não reagentes ou com títulos de anticorpos considerados incompatíveis com a proteção, a qualidade das vacinas comerciais contra o BoHV-1 utilizadas no Brasil deve ser reavaliada.

Dentre os 358 bovinos não vacinados 231 (64,5%) possuíam anticorpos e os restantes 127 (35,5%) eram soronegativos. Dentre os soropositivos, 158 (44,1%) obtiveram altos níveis de anticorpos neutralizantes (≥ 8), o que sugere a ocorrência de imunização devido à exposição natural. No Rio Grande do Sul, os levantamentos realizados indicam grandes diferenças nas taxas de soroprevalência encontradas (Ravazzolo *et al.*, 1989; Lovato *et al.*, 1995), as quais podem estar associadas ao uso cepas de vírus distintas.

Tabela 1. Níveis de anticorpos neutralizantes em bovinos vacinados e não vacinados contra o Herpesvirus bovino tipo 1.

Títulos de anticorpos	Não Vacinados		Vacinados	
	Nº	(%)	Nº	(%)
NEG	127	35,5	20	15,5
< 8	73	20,4	31	24
≥ 8	158	44,1	78	60,5
TOTAL	358		129	

Nas propriedades analisadas onde não havia programa de vacinação contra o BoHV-1, foi detectado um grande número de animais reagentes, o que indica alta exposição ao vírus. Tal observação evidencia a necessidade de adoção de medidas preventivas, tais como a vacinação, visando reduzir o percentual de animais infectados e os prejuízos econômicos causados pelo vírus. Nos rebanhos vacinados houve um aumento no percentual de animais com uma resposta humoral contra o BoHV-1 satisfatória.

4. CONCLUSÃO

Diante do grande número de bovinos não reagentes ou com títulos de anticorpos considerados incompatíveis com a proteção, a qualidade das vacinas comerciais contra o BoHV-1 utilizadas no Brasil deve ser reavaliada. Nesse sentido, se justificam a continuidade de pesquisas relacionadas ao uso de novos adjuvantes ou imunomoduladores que potencializem a resposta imune, para que no futuro se possa ter vacinas mais eficazes para combater as enfermidades ocasionadas pelo BoHV-1.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMANN, M.; BELAK, S.; BITSCH, V.; EDWARDS, S.; MOUSSA, A.; ROCKBORN, G.; THIRY, E. Round table on infectious rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus infection diagnosis and control. **Veterinary Microbiology**, v. 23, p. 361-370, 1990.
- ACKERMANN, M.; PETERHANS, E.; WYLER, R. DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia during latently infected calves. **American Journal. Veterinary Research**, v.43, n. 1, p.36-43, 1982.
- BORTOT, D. C.; BARIANI, M. H.; ZAPPA, V. Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina, **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ISSN: 1679-7353, ano VII, n.12, 2009.

DIAS, M. M. **Análise da soroprevalência do herpesvírus bovino Tipo -1 e do cortisol sérico em diferentes situações de manejo no Rio Grande do Sul.** 2006. 84 f. Expositivo (Doutorado) - UFRGS, Porto Alegre, 2006.

DUHRAN, J.K.; HASSARD, L. E. Prevalence of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3, bovine respiratory syncytial, and bovine diarrhea viruses in cattle in Saskatchewan and Alberta. **Canadian Veterinary Journal Research**, v. 31, p. 815-820, 1991.

FENNER, F. J.; GIBBS, E. P. J.; MURPHY, F. A.; ROTT, R.; STUDERT, M. J.; WHITE, D. O. **Veterinary Virology**, 2ª ed. San Diego: Academic Press, 1993a. 666p.

GIBBS, E. P.; RWEYEMAMU, M. M. Bovine herpesviruses. Part 1. Bovine herpesvirus 1. **Veterinary Bulletin**, v. 47, n. 5, p. 317-343, 1977.

HEDGER, R. S.; HAMBLIN, C. Neutralizing antibodies to bovid herpesvirus 1 (Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvo-Vaginitis) in African wildlife with special reference to the cape Buffalo (*Syncerus caffer*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 88, p. 211-218, 1978.

LOVATO, L.T. et al. Herpesvírus bovino tipo1 (BHV1): inquérito soro-epidemiológico no rebanho leiteiro do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.25, n.3, p.425-430, 1995.

MILLER, J. M. The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. **Veterinary Medicine**, v. 86, n. 1, p. 95-98, 1991.

RAVAZZOLO, A. P.; PIZZOL, M. D.; MOOJEN, V. **Evidência da presença de anticorpos para o vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos em bovinos de alguns municípios do Estado do Rio Grande do Sul.** Arquivo da Faculdade de Veterinária – UFRGS, v.17, p. 89-95, 1989.

VAN DONKERSGOED, J.; BABIUK, L.A. Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Medicine**, v.86, n.1, p.86-94, 1991.

WEIBLEN, R. Doenças víricas que interferem na produção leiteira. In: CHARLES, T. P., FURLONG, J. **Doenças dos bovinos de leite adultos.** Coronel Pacheco, Embrapa-CNPGL, p. 45-62, 1992.

WIZIGMANN, G.; VIDOR, T.; RICCI, Z.M.T Investigações sorológicas sobre a ocorrência e incidência dos vírus PI-3, IBR e diarréia a vírus - Enfermidade das Mucosas dos bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, Porto Alegre- RS. v. 1, p. 52-58, 1972.