

Monitoração de anticorpos neutralizantes para o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina em bezerros*

Monitoring of neutralizing antibodies against infectious bovine rhinotracheitis virus in calves

Sandra Possebon Gatti MOREIRA¹; Samir Issa SAMARA¹;
Gonçala Maria Martins ARITA²; Fernando FERREIRA³;
Gener Tadeu PEREIRA¹

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Sandra Possebon Gatti Moreira
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n 14884-000 – Jaboticabal – SP
e-mail: moreira@fcav.unesp.br

1- Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal – SP
2- Laboratório Regional de Apoio Animal – Lara, Campinas – SP
3- Departamento de Medicina Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP – SP

RESUMO

O presente estudo foi realizado em uma fazenda do município de Viradouro, localizada no Nordeste do Estado de São Paulo. Teve como objetivo monitorar ao longo de 8 meses os títulos de anticorpos neutralizantes para o BHV-1, em bezerros nascidos de vacas que estavam ou não infectadas naturalmente por este vírus e que foram vacinadas e revacinadas contra a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) antes do parto. Foram analisados, através do teste de soroneutralização, os soros sanguíneos de 34 bezerros, divididos em quatro grupos. Os resultados obtidos demonstraram que nos grupos de bezerros nascidos de vacas reagentes e não vacinadas os anticorpos de origem colostrar persistiram, em média, até os 3 meses de idade. De modo geral, bezerros nascidos de vacas vacinadas, independentemente de estarem infectadas ou não, apresentaram médias de títulos de anticorpos maiores que as médias demonstradas por bezerros provenientes de vacas não vacinadas. No entanto, devido à elevada prevalência do BHV-1 (86,8%) no local de estudo, mesmo esses títulos de anticorpos não impediram a infecção desses animais. A alta prevalência do BHV-1 resultou na detecção de anticorpos de origem materna em bezerros nascidos de vacas que, inicialmente, não foram reagentes ao teste de soroneutralização, provavelmente como resultado da soroconversão das respectivas mães no intervalo transcorrido entre a triagem e o momento do parto. A alta prevalência observada também ocasionou a infecção dos bezerros, filhos de vacas não vacinadas, após o declínio dos anticorpos de origem colostrar.

UNITERMOS: Rinotraqueíte infecciosa bovina; Herpesvírus 1 bovino; Bezerros.

INTRODUÇÃO

Entre os membros da família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* encontram-se o herpesvírus bovino tipo-1 (BHV-1) e o herpesvírus bovino tipo 5 (HVB-5), responsáveis por várias enfermidades que afetam os sistemas reprodutivo, respiratório e nervoso, principalmente dos bovinos.

Os principais fatores que vêm contribuindo para a difusão dessas enfermidades são: a introdução nos rebanhos de animais oriundos de leilões ou de importações, sem exigências sanitárias necessárias para prevenir a infecção; a crescente utilização de confinamentos para a engorda de animais; a não-obrigatoriedade do controle virológico do sêmen comercializado no País; e principalmente a falta de informação dos criadores, das autoridades e veterinários sobre estas viroses⁷.

Em outros países, variadas formas de controle e a erradicação são propostas por diversos pesquisadores. Na Europa, a utilização de vacinas com marcadores genéticos, juntamente com o manejo higiênico-sanitário adequado, vem alcançando resultados positivos no que se refere ao controle dessa virose.

No Brasil, o controle das enfermidades provocadas pelo BHV-1 baseia-se principalmente na vacinação com vacinas convencionais, pois são essas as únicas disponíveis em nosso mercado. A utilização dessas vacinas objetiva, principalmente, reduzir os sinais da doença após infecção e desse modo diminuir o impacto econômico das infecções pelo BHV-1⁸.

Outra forma de proteção dos bovinos é a transferência de imunidade passiva através do colostro. Essa é a primeira e mais importante forma de se manter a saúde dos bezerros nos primeiros dias após o nascimento⁵.

Associando fatores como a maior susceptibilidade de animais jovens, as perdas econômicas causadas por esta enfermidade e as restrições impostas para o comércio entre países; torna-se evidente a necessidade de intensificar os estudos sobre o BHV-1 e suas implicações dentro da pecuária bovina brasileira.

Por isso, o presente estudo teve como objetivo monitorar ao longo do tempo os títulos dos anticorpos neutralizantes para o BHV-1, em bezerros nascidos de vacas que estavam ou não infectadas naturalmente por esse vírus, que aos 60 e 30 dias antes do parto foram vacinadas e revacinadas contra a IBR.

* Parte da Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Med. Vet. Preventiva) - UNESP - Campus de Jaboticabal - defendida em 06/06/2000.

MATERIAL E MÉTODO

O trabalho foi desenvolvido em uma fazenda do município de Viradouro, localizada na região Nordeste do Estado de São Paulo. O rebanho era constituído, em sua maioria, de animais da raça Holandês preto e branco, bem como de alguns animais mestiços de Holandês preto e branco com raças zebuínas.

Para a seleção dos bezerros que seriam utilizados no estudo, inicialmente, foram realizadas duas triagens entre as vacas prenhes da propriedade, totalizando 121 amostras, com 105 vacas reagentes e 14 não-reagentes ao teste de soroneutralização, em uma prevalência média de 86,8 % de animais positivos para IBR.

Terminada a triagem, as vacas foram divididas em 4 grupos com a seguinte composição: Grupo 1 (G1), com 12 vacas reagentes e que não foram vacinadas contra o BHV-1; Grupo 2 (G2), com 10 vacas reagentes e que foram vacinadas; Grupo 3 (G3), com 7 vacas não-reagentes e que não foram vacinadas; e finalmente o Grupo 4 (G4), com 5 vacas não reagentes e que foram vacinadas.

As vacas pertencentes aos grupos de não vacinadas, tanto reagentes (G1) como não-reagentes (G3), encontravam-se em média no oitavo mês de prenhez, enquanto as dos grupos de vacinadas (G2 e G4), na sua maioria, iniciavam o terço final da prenhez, permitindo, portanto, que 60 dias antes do parto fosse realizada a vacinação e o reforço 1 mês após, isto é, 30 dias antes do parto.

Foi utilizada uma vacina inativada monovalente* contra IBR na dosagem de 3 ml, aplicados por via subcutânea, conforme recomendação do fabricante.

Após o parto, os bezerros permaneceram junto à mãe durante três dias, permitindo ao recém-nascido ingerir o colostro de acordo com sua vontade. Se nas primeiras horas de vida o bezerro, por qualquer motivo, não mamasse espontaneamente, realizava-se a ordenha da mãe e o colostro era fornecido através de mamadeira. No final desse período, os bezerros eram levados para bezerreiros individuais, onde permaneciam até completarem 60 dias de vida. Dos 60 dias até os oito meses, isto é, até o término do período definido para o estudo, os bezerros permaneceram em piquetes.

As amostras de sangue foram colhidas quando os bezerros completaram 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias de idade.

Todos os soros sanguíneos foram submetidos a reação de soroneutralização para a dosagem de anticorpos segundo Brasil¹.

Os dados obtidos foram submetidos a um teste de homogeneidade de variância e a dois testes de normalidade: o de Kolmogorov-Smirnov e o de Shapiro-Wilk.

A avaliação comparativa dos grupos de estudo ao longo do tempo foi realizada a partir de testes não-paramétricos. O teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis definiu em quais colheitas havia diferença estatisticamente significativa entre os grupos; o teste não-paramétrico de Mann-Whitney mostrou quais os grupos que diferiram entre si.

Para a avaliação comparativa, ao longo do tempo, das médias dos títulos de anticorpos neutralizantes de cada grupo isoladamente, foram utilizados os testes não-paramétricos anteriormente citados.

Todos os testes citados foram utilizados conforme descrito por Siegel⁶.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tab. 1 estão apresentadas as médias dos títulos de anticorpos neutralizantes dos 4 grupos de bezerros utilizados neste estudo. No Grupo 1 (filhos de vacas reagentes e não vacinadas), a média dos títulos de anticorpos que decresceu entre a colheita realizada aos 15 e 30 dias de idade tornou a aumentar aos 60 dias de vida atingindo um valor de média praticamente igual ao observado na primeira colheita. Aos 90 dias, a média voltou a diminuir e aos 120 dias foi igual a zero. Nas datas de colheita a partir dos 150 dias de vida houve uma tendência crescente, não somente pelo aumento do número de bezerros que gradativamente tornaram-se soropositivos, mas por uma elevação individual dos títulos de cada animal. Porém, apenas entre a colheita realizada aos 210 e 240 dias houve uma elevação na média dos títulos de 0,85 para 1,71 (aumento de 0,86), indicando a ocorrência de uma possível infecção ativa no rebanho⁹, que em logaritmo decimal é caracterizado por um acréscimo de 0,60 no valor dos títulos correspondentes.

Através de uma análise estatística realizada somente entre as médias dos títulos de anticorpos desse grupo, evidenciou-se que a média aos 240 dias foi maior do que praticamente todas as outras médias anteriores, reforçando, ainda mais, a possibilidade de infecção após o declínio dos anticorpos de origem colostrálica.

Por outro lado, as médias dos títulos de anticorpos neutralizantes no grupo 2 (filhos de vacas reagentes e vacinadas) sempre estiveram altas, mas não seguiram um padrão específico, pois apesar de seus valores variarem de 1,35 até 2,10, não apresentaram uma tendência crescente nem mesmo decrescente. Uma das possibilidades nessa situação é que as mães soropositivas ao serem vacinadas foram conduzidas a um estado de hiperimu-

Tabela 1

Média dos títulos dos anticorpos soroneutralizantes (logS/N50%) determinados em amostras sanguíneas de bezerros dos Grupos 1 (filhos de vacas reagentes e não vacinadas), Grupo 2 (filhos de vacas reagentes e vacinadas), Grupo 3 (filhos de vacas não-reagentes e não vacinadas) e Grupo 4 (filhos de vacas não-reagentes e vacinadas), colhidas periodicamente após o nascimento, no município de Viradouro, no Estado de São Paulo, no ano de 1998/1999 (Jaboticabal, São Paulo, 2000).

Colheita (dias após o nascimento)	Médias (\bar{X}) dos títulos de anticorpos S/N			
	Grupo 01	Grupo 02	Grupo 03	Grupo 04
	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
15	1,39	1,56	0,60	1,80
30	1,19	2,10	1,07	1,50
60	1,36	1,41	0,58	1,65
90	0,51	1,35	0,34	1,38
120	0,00	1,65	0,51	1,50
150	0,38	1,49	1,19	1,89
180	0,30	1,61	1,54	1,31
210	0,85	1,55	1,37	1,76
240	1,71	1,87	1,46	1,88

* IBR-Vac- IRFA Química e Biotecnologia Industrial, número de partida 003/96.

nização, no qual, segundo Lemaire et al.³, o antígeno vacinal é capaz de reforçar a resposta de memória do vírus de campo e, conseqüentemente, manter nos bezerros maior persistência dos anticorpos de origem colostrál.

No entanto, pelo estudo realizado por Lemaire et al.⁴, foi demonstrado que a presença de anticorpos maternos, em bezerros com um mês de vida, não impediam a replicação viral primária nem tampouco a excreção viral após o desafio. Os bezerros do experimento em apreço, após um período de 9 meses, foram submetidos a uma imunossupressão e novamente houve o isolamento do vírus das secreções nasais desses animais. Portanto, esses autores determinaram que a infecção pelo BHV-1 de animais com imunidade passiva não impedia a indução de uma infecção latente, que foi comprovada tanto pela soroconversão como pela reexcreção viral após o tratamento com dexametasona.

Esse trabalho citado anteriormente daria suporte para se aventar a possibilidade de que os animais desse Grupo 2 (filhos de vacas reagentes e vacinadas) teriam sido infectados naturalmente, baseando-se, para isso, na persistência de altos títulos por um longo período, que foi além da viabilidade dos anticorpos de origem colostrál. Apesar dessa argumentação ser discrepante quando o aumento das médias é avaliado de acordo com Weiblem⁹, deve-se considerar que, quando comparado o comportamento sorológico desses bezerros com os do Grupo 1, em nenhum momento do estudo, houve, como esperado, uma tendência decrescente em relação aos títulos de anticorpos de origem colostrál.

Na análise estatística, pelo teste de Mann-Whitney, o Grupo 1 (filhos de vacas reagentes e não vacinadas) e o Grupo 2 (filhos de vacas reagentes e vacinadas) diferiram significativamente em todas as colheitas nas quais o teste de Kruskal-Wallis apontou haver diferenças estatisticamente significantes entre grupos. Portanto, houve evidência que as médias dos títulos de anticorpos neutralizantes foram maiores no grupo de bezerros nascidos das vacas reagentes e vacinadas quando comparadas as médias do grupo de bezerros nascidos de vacas reagentes e não vacinadas.

No Grupo 3 (filhos de vacas não-reagentes e não vacinadas), as médias dos títulos de anticorpos apresentaram uma elevação evidente a partir dos 90 dias de idade. Porém, somente entre as colheitas dos dias 120 (título de 0,51) e 150 (título de 1,19) foi possível constatar um aumento de 0,68 nos títulos de anticorpos. Esse fato possivelmente ocorreu como conseqüência de um estímulo antigênico que não teve origem vacinal, estando, portanto, em concordância com as colocações de Weiblem⁹, segundo o qual um aumento de 0,60 ou mais nos títulos de anticorpos neutralizantes é indicativo de uma infecção ativa no rebanho.

O Grupo 3 (bezerros filhos de vacas não-reagentes e não vacinadas) diferiu estatisticamente do Grupo 2 (filhos de vacas reagentes e vacinadas), nas colheitas aos 30 e 120 dias, demonstrando que as médias dos títulos de anticorpos dos filhos de vacas não-reagentes e não vacinadas foram significativamente menores que as médias dos bezerros de mães reagentes e vacinadas. Aos 180 dias, este comportamento se alterou, e as médias foram semelhantes entre os dois grupos, provavelmente como conseqüência do aumento individual, bastante acentuado, dos títulos de anticorpos dos bezerros do Grupo 3 no momento citado. Em de-

corrência do aumento das médias nesta colheita (180 dias), o Grupo 3 (filhos de vacas não-reagentes e não vacinadas) igualmente ao Grupo 2 (filhos de vacas reagentes e vacinadas), diferiu do grupo 1 (filhos de vacas reagentes e não vacinadas). Este fato, como já citado anteriormente, pode também ser atribuído a uma infecção ativa no rebanho.

E finalmente no grupo 4 (filhos de vacas não-reagentes e vacinadas), as médias dos títulos de anticorpos deste grupo, os maiores e os menores valores observados mostram-se alternados, isto é, aumentam na colheita aos 60 dias, diminuem aos 90 e voltam a aumentar aos 120 dias de idade. Esse comportamento se repete nas demais colheitas, com os valores médios variando de 1,31 (aos 180 dias) até 1,89 (aos 150 dias de idade).

Na análise estatística, o Grupo 4 (filhos de vacas não-reagentes e vacinadas) foi semelhante ao Grupo 2 (filhos de vacas reagentes e vacinadas), pois, como nesse último, as médias dos títulos de anticorpos diferiram estatisticamente das médias demonstradas no Grupo 1 (filhos de vacas reagentes e não vacinadas), em todas as colheitas nas quais o teste de Mann-Whitney apontou haver diferenças entre grupos. Portanto, as médias dos títulos de anticorpos dos bezerros filhos de vacas não-reagentes e vacinadas foram mais altas quando comparadas as médias dos títulos de anticorpos dos filhos de vacas reagentes e não vacinadas.

No contexto geral, na colheita realizada aos 15 dias de vida, não houve diferenças estatísticas entre qualquer um dos 4 grupos estudados. Esse resultado é semelhante ao observado por Ellis et al.², que não detectaram diferenças significativas na concentração de anticorpos contra o BHV-1, nos soros de bezerros nascidos de vacas vacinadas e não vacinadas, no 10º ou 22º dias após o nascimento. Vale ressaltar que no citado trabalho não se distinguiram vacas infectadas e não infectadas, pois, de acordo com o manejo sanitário adotado no rebanho no qual o experimento foi conduzido, os animais são vacinados anualmente contra o BHV-1.

Nas colheitas aos 60, 90, 210 e 240 dias de vida, também não houve diferenças estatísticas entre os 4 grupos, impossibilitando maiores avaliações nestas idades, mas que não invalidam as informações obtidas em outros períodos do estudo.

Desta maneira, os resultados obtidos no presente trabalho contribuíram, mesmo que de forma modesta, para o conhecimento do comportamento do BHV-1 nos rebanhos bovinos que apresentam alta prevalência desse vírus e certamente suscitam novas dúvidas sobre a vacinação contra essa virose.

CONCLUSÕES

Através da análise ponderada dos resultados do presente trabalho, pode-se concluir que:

- 1- Os bezerros nascidos de vacas vacinadas, infectadas ou não pelo BHV-1, apresentaram as médias de títulos de anticorpos maiores que as médias demonstradas por bezerros provenientes de vacas não vacinadas.
- 2- Apesar de os bezerros nascidos de vacas vacinadas possuírem maiores médias de títulos de anticorpos, provavelmente estes não conferiram proteção contra a infecção pelo BHV-1, em condições de elevada prevalência.

- 3- A alta prevalência do BHV-1 (86,8%) no local de estudo ocasionou a infecção dos bezerros, após o declínio dos anticorpos de origem colostrálica.
- 4- Bezerros, filhos de fêmeas que na triagem não eram reagentes, apresentaram anticorpos de origem colostrálica, provavelmente pela soroconversão das respectivas mães em consequência da alta prevalência do BHV-1 nesse rebanho.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro recebido pela FAPESP (Processo nº 98/03333-9), a colaboração da funcionária Andréa Souza Ramos de Medeiros, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP, além da solicitação do proprietário Affonso José Ferreira Filho.

SUMMARY

The present study was accomplished in a farm in the municipality of Viradouro, in Northeast region of São Paulo State, aiming at monitoring during a period of 8 month the serum neutralizing antibody titers against BHV-1, in calves born from BHV-1 naturally infected or not infected cows. These cows were vaccinated and revaccinated against Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) before parturition. The blood serum of 34 calves, separate in four groups, were analysed in this experiment. The results demonstrated that in groups of calves borned from soropositive and unvaccinated cows, the colostral antibodies persisted, in mean, until the calves were 3 months old. Calves borned from vaccinated cows, independent of these cows being infected or not, in general, presented means of antibody titers higher than the means presented by calves from unvaccinated cows. However, not even these antibody titers impeded the calves infection owing to high prevalence of BHV-1 (86.8%) in the locality of the study. The high prevalence of BHV-1 (86.8%) in the locality of the study resulted in the detection of maternal antibodies, by the serum neutralization test, in calves borned from uninfected cows, probably as a result of cows seroconversion in the interval between the screening test and parturition. The high prevalence also led to the infection of the calves from unvaccinated cows after the decline of colostral antibodies.

UNITERMS: Infectious bovine rhinotracheitis; Herpesvirus 1 bovine; Calves.

REFERÊNCIAS

- 1- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Procedimento operacional padrão**. Campinas, 1997. p. 1-4.
- 2- ELLIS, J. A. et al. Effects of perinatal vaccination on humoral and cellular immune responses in cows and young calves. **Scientific Reports**, v. 208, n. 3, p. 393-400, 1996.
- 3- LEMAIRE, M.; PASTORET, P. P.; THIRY, E. Le contrôle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. **Annales Médecine Vétérinaire**, v. 138, n. 3, p. 167-180, 1994.
- 4- LEMAIRE, M. et al. Latent bovine herpesvirus 1 infection in calves protected by colostral immunity. **Veterinary Record**, v. 137, n. 3, p. 70-71, 1995.
- 5- POSPÍŠIL, Z.; KREJČÍ, J.; RODÁK, L. Demonstration of colostral antibodies in the nasal secretions of calves and their protective effect against infection. **Acta Veterinaria BRNO**, v. 52, n. 1/2, p. 59-65, 1983.
- 6- SIEGEL, S. **Nonparametric Statistics for the behavioral sciences**. Tokyo: McGraw-Hill Book, 1956. 312 p.
- 7- SILVA, A. M. et al. (Org.). Herpesvírus bovino (tipo 1 e 5) e vírus da diarreia viral bovina (BVDV). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...**
- 8- VAN OIRSCHOT, J. T.; KAASHOEK, M. J.; RIJSEWIJK, F. A. M. Advances in the development and evaluation of bovine herpesvirus 1 vaccines. **Veterinary Microbiology**, v. 53, n. 1/2, p. 43-54, 1996.
- 9- WEIBLEN, R. Bovine herpesvirus type-1. **Virus Reviews Research**, v. 4, p. 20-21, 1999. Supplement 1.

Recebido para publicação: 03/10/2000

Aprovado para publicação: 02/07/2001