

ANTICORPOS NEUTRALIZANTES CONTRA O *ALPHAHERPESVIRUS BOVINO 1* EM BOVINOS DO SUL DO BRASIL

LARIANE DA SILVA BARCELOS¹; NADÁLIN YANDRA BOTTON²; MATHEUS IURI FRÜHAUF²; AMANDA DE OLIVEIRA BARBOSA²; PAULO RICARDO CENTENO RODRIGUES²; GEFERSON FISCHER³

¹Universidade Federal de Pelotas – larianebarcelos@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – nadalinyb@gmail.com; matheus.fruhauf@outlook.com; barbosa.oamanda@gmail.com; priccenteno@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – geferson.fischer@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) é uma enfermidade que afeta a saúde do rebanho e, conseqüentemente, impacta negativamente o rendimento produtivo dos animais infectados (TAKIUCHI et al., 2005). Ela é causada pelo *Alphaherpesvirus bovino 1* (BoHV-1), um vírus de genoma DNA fita dupla e envelopado, que pertence à família *Herpesviridae* (ICTV, 2020).

O fator mais preocupante da presença de BoHV-1 no rebanho está relacionado a conseqüências reprodutivas, como aumento nas taxas de retorno ao cio, abortos e casos de Balanopostite Pustular Infecciosa (IPB) em machos ou Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IPV) em fêmeas (DA COSTA et al., 2017). A IBR também pode apresentar-se com sinais clínicos relacionados ao sistema respiratório, como descarga nasal serosa, tosse, hiperpneia ou dispneia e também conjuntivite (FRANCO; ROEHE, 2017; VIU et al., 2014).

Animais infectados, mesmo que permaneçam como casos subclínicos, tornam-se portadores do BoHV-1 (estabelecimento de latência) e podem voltar a excretá-lo ao longo da vida (JONES, 2016). A principal fonte de transmissão de IBR nos rebanhos são as secreções reprodutivas, mas secreções respiratórias e/ou oculares de animais infectados também podem disseminar o vírus (VIU et al., 2014). Integrante da lista de doenças de notificação obrigatória mensal (OIE, 2019), a IBR pode ser diagnosticada através da identificação do BoHV-1 em amostras de aborto, por exemplo, através de testes como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (TAKIUCHI et al., 2005). No entanto, é rotineiramente diagnosticada através de testes sorológicos, como o soroneutralização (SN), considerada padrão-ouro na identificação de anticorpos neutralizantes contra o BoHV-1 (HOLZ et al., 2010).

O presente trabalho tem como objetivo apresentar um estudo retrospectivo de anticorpos neutralizantes contra o BoHV-1 em amostras de sangue de bovinos do sul do Brasil. As amostras foram recebidas no Laboratório de Virologia e Imunologia (LabVir) da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) nos anos de 2018, 2019 e 2020.

2. METODOLOGIA

Foram recebidas pelo LabVir/UFPEL, ao longo dos anos de 2018 a 2020, 906 amostras de sangue bovino para análise de anticorpos neutralizantes contra o BoHV-1. As amostras foram advindas de 47 propriedades rurais, de cidades do Rio Grande do Sul: Arroio Grande, Bagé, Bom Jesus, Cacique Doble, Candiota,

Capão do Leão, Dom Pedrito, Morro Redondo, Pedras Altas, Pedro Osório, Pelotas, Piratini, Rio Grande, Santa Vitória do Palmar, São João da Urtiga, São José do Norte e Tupanci do Sul; e Santa Catarina: Arabutã. As amostras foram recebidas em tubos de coleta sem anticoagulante e refrigeradas.

Primeiramente, retirou-se o soro das amostras (separação natural ou por centrifugação, quando necessário). Uma vez obtidas, as amostras de soro foram utilizadas para realização do teste, feito em capela de fluxo laminar. Todas as amostras foram submetidas ao teste de soroneutralização (SN) em microplacas de 96 poços (KASVI®).

A cada poço da placa, foram adicionados 25µL de Meio Essencial Mínimo (MEM), suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB). Após, 25µL da amostra de soro a ser testada foi acrescentada na primeira linha da placa, sendo diluída de forma seriada ao longo da mesma. Em seguida, 25µL do vírus (BoHV-1, cepa Cooper), com título previamente determinado, sob 100 DICC₅₀ (doses infectantes para 50% dos cultivos celulares) foram adicionados. Ao fim desse processo, as microplacas foram submetidas à incubação em estufa (37 °C e 5% de CO₂) por 1 hora.

Em seguida, adicionou-se aproximadamente 30.000 (50µL) células *Madin-Darby bovine kidney* (MDBK) à microplaca e incubou-se novamente em estufa a 37°C com 5% de CO₂ por 72h, momento em que são feitas as leituras. A leitura da SN é realizada através de microscópio óptico invertido, pela identificação ou não de focos de efeito citopático. Os testes foram validados pelo controle celular (poços sem adição do vírus) e retrotitulação (controle de vírus).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 906 amostras de soro bovino, das quais 421 eram provenientes de animais vacinados e 485 de animais não vacinados contra o BoHV-1. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 1, a seguir:

Tabela 1. Resultados da análise de anticorpos neutralizantes em amostras de sangue de bovinos do sul do Brasil

	Positivo	Negativo	Total
Vacinado	328	93	421
Não vacinado	117	368	485
Total	445	461	906

Os animais vacinados representam 73,71% (328/445) dos resultados positivos obtidos, o que pode indicar imunização pós-vacinal, uma vez que a soroneutralização não é capaz de diferir anticorpos neutralizantes de origem vacinal ou de imunidade adquirida por infecção prévia (ANZILIERO et al., 2015). Vale ressaltar que a presença de anticorpos, a exceção daqueles derivados de vacinação, indica que houve um contato com o agente, o que torna o animal portador (FRANCO; ROEHE, 2017).

Por outro lado, quase a metade das amostras de soro analisadas, 49,12% (445/906) apresentam algum título de anticorpos neutralizantes contra o BoHV-1, o que pode ser um indício de disseminação da infecção em rebanhos do sul. Esse resultado aponta para a necessidade de atenção aos sinais clínicos e testagem dos animais suspeitos via sorologia pareada, metodologia indicada pela Organização Mundial da Saúde Animal (OIE-WAHIS, 2009) que auxilia a identificação de infecções ativas. Ademais, 22,09% (93/421) dos animais

vacinados não apresentaram anticorpos neutralizantes a nível detectável pelo teste, o que pode representar uma queda natural no título, que ocorre passado certo tempo da vacinação. Essa possibilidade aponta para a necessidade de reforços anuais da vacinação no rebanho.

A soroneutralização mostra-se uma ferramenta útil na investigação clínica, pois auxilia o diagnóstico quando acompanhada de suspeita. Além disso, também pode ser utilizada em certificação de rebanhos e de reprodutores, o que contribui para que a SN seja uma das técnicas sorológicas mais utilizadas em virologia (FLORES, 2017). Com relação aos animais não vacinados, 24,12% (117/485) apresentaram algum título de anticorpos neutralizantes contra o BoHV-1, o que indica contato prévio com o agente. Os dados aqui apresentados corroboram os encontrados por BECKER et al. (2015), que também detectaram cerca de 25% de amostras de soro bovino positivas em sorologia para o agente, advindas de animais não vacinados.

É relevante destacar que fatores como a capacidade de latência, a presença de bovinos assintomáticos e a negligência no diagnóstico e controle contribuem para a manutenção da enfermidade nos rebanhos (OLIVEIRA et al., 2015), o que reforça a importância do acompanhamento sanitário, que inclui a busca por anticorpos necessários e também a vacinação periódica (PASQUALOTTO et al., 2015).

4. CONCLUSÕES

A alta taxa de positivos vacinados pode ser um indicativo de imunização dos rebanhos, que deve ser mantida através de reforços periódicos. Ademais, bovinos não vacinados e que positivaram podem representar infecções agudas, o que incita maior investigação através de sorologia pareada e avaliação de sinais clínicos. A circulação do agente nos rebanhos do sul aponta para a necessidade de maior controle com relação a sua transmissão, de modo a reduzir os impactos provocados pela enfermidade na produção bovina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANZILIERO, D.; MARTINS, M.; WEISS, M.; et al. Resposta sorológica aos herpesvirus bovino tipos 1 e 5 e vírus da diarreia viral bovina induzida por vacinas comerciais. **Ciência Rural**, v.45, n.1, p.58-63, 2015.

BECKER, A.S.; RODRIGUES, M.G.; ORLANDIN, J.R.; et al. Anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1 e o Vírus da Diarreia Viral Bovina em bovinos vacinados e não vacinados da região sul do estado do Rio Grande do Sul. **Science and Animal Health**, v.3, n.2, p.209-220, 2015.

DA COSTA, E.P.; QUEIROZ, V.L.D.; JUNIOR, A.S.; et al. BoHV-1 (o vírus da IBR) e sua relação com estruturas e órgãos genitais da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, n.1, p.254-263, 2017.

FLORES, E.F. Diagnóstico laboratorial de infecções víricas. In: FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. Santa Maria: UFSM, 2017. Cap.11, p.295-326.

FRANCO, A.C.; ROEHE, P.M. *Herpesviridae*. In: FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. Santa Maria: UFSM, 2017. Cap.17, p.333-485.

HOLZ, C.L.; CIBULSKI, S.P.; TEIXEIRA, T.F.; et al. Serum neutralization with different types and subtypes of bovine herpesvirus 1 and 5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.7, p.515-522, 2010.

ICTV: *International Committee on Taxonomy of Viruses*. **Taxonomia viral**. 2020. Online. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

JONES, C. Latency of Bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1) in Sensory Neurons. In: ONGRADI, J. **Herpesviridae**. Oklahoma, 2016. Cap.11.

OIE-WAHIS: Organização Internacional de Epizootias – *World Animal Health Information System*. **Manual de Testes de Diagnóstico e Vacinas para Animais Terrestres**. 2021. Online. Disponível em: <https://www.oie.int/fr/ce-que-nous-faisons/normes/codes-et-manuels/acces-en-ligne-au-manuel-terrestre/>

OLIVEIRA, R.A.M.; LORENZETTI, E.; ALFIERI, A.A.; et al. Prevalência das infecções latentes por BoHV-1 e BoHV-5 em bovinos de corte no Estado do Paraná. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.5, p.1217-1225, 2015.

PASQUALOTTO, W.; SEHNEM, S.; WINCK, C.A. Incidência de Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina (IBR), Diarreia Viral Bovina (BVD) e leptospirose em bovinos leiteiros da região oeste de Santa Catarina – Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.8, n.2, p.249-270, 2015.

TAKIUCHI, E.; MÉDICI, K.C.; ALFIERI, A.F.; et al. *Bovine herpesvirus type 1* abortions detected by a semi-nested PCR in Brazilian cattle herds. **Research in Veterinary Science**, v.79, p.85-88, 2005.

VIU, M.A.O.; DIAS, L.R.O.; LOPES, D.T.; et al. Rinotraqueíte infecciosa bovina: revisão. **PUBVET**, v.8, n.4, 2014.

OIE-WAHIS: Organização Internacional de Epizootias – *World Animal Health Information System*. **Listed diseases, infections and infestations in force in 2019**. 2019. Online. Disponível em: <https://www.oie.int/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases/>