

## EVOLUÇÃO DA IMUNIDADE PASSIVA CONTRA O HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1<sup>1</sup>

### EVOLUTION OF PASSIVE IMMUNITY AGAINST BOVINE HERPESVIRUS TYPE 1

Sílvia de Oliveira Hübner<sup>2</sup> Rudi Weiblen<sup>3</sup> Adriana Moraes da Silva<sup>4</sup>  
Mauro Pires Moraes<sup>4</sup>

#### RESUMO

Determinou-se a evolução da imunidade colostrar contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) através de análise de amostras de soro de terneiras coletadas às 6, 12 e 24 horas após o nascimento, semanalmente dos 7 dias até os 63 dias de idade, e mensalmente até 180 dias. O estudo foi realizado através do teste de soro-neutralização (SN). Os anticorpos colostrais declinaram progressivamente. Amostras negativas começaram a aparecer no 28º dia após o nascimento, e aos 180 dias de idade foi estimado que o título médio geométrico de anticorpos (GMT) era  $\leq 1:2$ . Sugere-se que para diagnóstico de infecção pelo BHV-1 a prova de SN seja realizada após o 6º mês de idade.

**Palavras-chave:** herpesvírus bovino tipo 1, imunidade colostrar.

#### SUMMARY

The aim of the present study was to determine the evolution of the levels of anti-BHV-1 colostrar antibodies. Serum samples were obtained at 6, 12 and 24 hours post-birth, weekly through the 63<sup>rd</sup> day of age, and monthly through the 180<sup>th</sup> day. The study utilized the serum neutralization test (SN). The colostrar antibodies against BHV-1 declined gradually: the first negative samples were observed at day 28, and the geometric mean titer of antibodies (GMT) was estimated to be  $\leq 1:2$  at day 180. These data suggest that serology for BHV-1 (using the SN) should be used only in calves older than six months.

**Key words:** bovine herpesvirus type 1, colostrar immunity.

#### INTRODUÇÃO

A infecção pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) se manifesta clinicamente principalmente pelo aparecimento de uma síndrome respiratória ou genital, ocasionando rinotraqueíte, vulvovaginite ou balanopostite (MUELLER *et al.*, 1979; NOGUEIRA *et al.*, 1986; WEIBLEN *et al.*, 1991). Em vacas prenhes, a infecção pelo BHV pode acarretar morte e reabsorção embrionária, ou aborto (MURRAY, 1990; MILLER, 1991). O BHV pode também causar conjuntivite (MUELLER *et al.*, 1979), meningoencefalite em terneiros (RIET-CORREA *et al.*, 1989), e em neonatos a infecção frequentemente produz uma doença multi-sistêmica fatal (SCHUH & WALKER, 1990). As formas clínicas podem aparecer associadas (MUELLER *et al.*, 1979). O feto bovino também é extremamente suscetível ao BHV, ele sofre uma infecção generalizada de curta duração, que é invariavelmente fatal (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977).

<sup>1</sup>Parte da dissertação do primeiro autor apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária na área de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) como uma das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

<sup>2</sup>Médico Veterinário, Pós-graduando em Medicina Veterinária, UFSM.

<sup>3</sup>Médico Veterinário, Professor Titular, MsC, PhD, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Microbiologia e Parasitologia, UFSM, 97119-900, Santa Maria, RS, FAX (055) 226 1975. Autor para correspondência.

<sup>4</sup>Médico Veterinário, Pós-graduando em Medicina Veterinária, UFSM. Bolsista do CNPq.

A maior suscetibilidade dos terneiros neonatos à infecção pelo BHV-1 de forma disseminada e fatal, deve-se ao número inadequado de leucócitos funcionais e a uma resposta inflamatória anti-viral retardada e insuficiente (SCHUH *et al.*, 1992). O neonato depende totalmente do colostro para adquirir imunidade contra doenças (BRATANICH *et al.*, 1991; BELKNAP *et al.*, 1994). Há diferentes registros sobre a duração dos anticorpos contra o BHV adquiridos através do colostro (STRAUB, 1969; HYLAND *et al.*, 1975; BRAR *et al.*, 1978; BRADLEY, 1985; CORKISH, 1988).

É de grande importância a realização de precoces diagnósticos de infecção pelo BHV-1, pois a característica dos herpesvírus de estabelecerem infecção latente em seus hospedeiros (GIBBS & RWEYEMAMU, 1977), e o fato de ser eliminado de forma intermitente em bovinos clinicamente sadios, submetidos a situações estressantes (SNOWDON, 1965), tornam os bovinos recuperados permanentes fontes de infecção para bovinos suscetíveis, podendo ocasionar surtos de proporções imprevisíveis (SHEFFY & RODMAN, 1973; MUELLER *et al.*, 1979; VILLA *et al.*, 1986; MILLER, 1991).

Este trabalho teve como objetivo obter informações sobre a concentração e duração dos anticorpos colostrais, e sobre a idade para realização de um precoce diagnóstico, nas condições de criação de bovinos leiteiros do Estado do Rio Grande do Sul, através da análise de amostras de soro pelo teste de soro-neutralização (SN).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais de experimentação

Vacas da raça Holandesa, com diferentes idades e próximas do parto, e as filhas destas vacas, foram utilizadas no experimento. Os bovinos eram provenientes de uma propriedade produtora de leite tipo B da região central do Estado do Rio Grande do Sul. Somente fêmeas foram incluídas, pois o manejo da propriedade determina que os machos sejam descartados logo após o nascimento. O manejo local também determina que após o nascimento as ternейras sejam retiradas das suas mães e colocadas em ternейras individuais. Para assegurar que houve ingestão de colostro, era fornecido um "pool" de colostro nos dois primeiros dias de vida. A partir de então, os animais recebiam uma mistura de leite *in natura* de várias vacas e, gradativamente, o concentrado e o feno iam sendo incluídos na dieta. Aproximadamente aos dois meses de idade efetuava-se o desmame, e então as

ternейras eram conduzidas para piquetes com até seis animais.

### Material para exames

Foram coletadas amostras de sangue através de punção da veia jugular com agulhas 40 x 20, ou dos vasos caudais, com tubos de ensaio contendo vácuo. As amostras eram devidamente identificadas, e após a coleta, mantidas em posição inclinada, ou submetidas à centrifugação à 1500rpm por 10 minutos, para retração do coágulo e separação do soro. Posteriormente as amostras de soro eram transferidas para outros frascos, aquecidas em banho-maria à 56°C durante 30 minutos, visando inativar o complemento, e então estocadas à -18°C até a execução do teste.

As coletas eram realizadas periodicamente. Para verificar o *status* de infecção para o herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) nas vacas, foram analisadas amostras de soro retiradas aproximadamente aos 28 dias antes do parto. Nas ternейras procurou-se efetuar a retirada de sangue às 6, 12 e 24 horas após a ingestão do colostro e aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 90, 120, 150, e 180, dias de idade. Desta maneira, pôde ser determinada a evolução dos anticorpos contra o BHV adquiridos passivamente através da ingestão de colostro.

### Método sorológico

#### Soro-neutralização (SN)

Os testes de SN foram executados conforme técnica descrita por CARBREY *et al.* (1971) visando detectar anticorpos contra o BHV-1. O vírus foi preparado em células MDBK (células de rim de bovino). O soro controle positivo foi obtido através de inoculações sucessivas de BHV, via endovenosa e intramuscular, em coelhos, e posterior sangria. O soro controle negativo utilizado foi soro bovino fetal (SBF). O soro controle positivo e negativo eram divididos em alíquotas de 2ml, submetidos a temperatura de 56°C por 30 minutos, visando inativação do complemento, e armazenados à -18°C até o momento da utilização. A titulação do vírus foi realizada pelo método de REED & MUENCH (1938), que é baseado na última diluição de vírus que provoca efeito citopatógeno em 100% do cultivo celular. Foram analisadas um total de 204 amostras de soro, sendo 82 para verificar a prevalência entre as vacas, e 122 correspondentes a coletas de 11 ternейras que apresentaram-se soropositivas após ingestão de colostro.

As amostras negativas foram aquelas em que houve lise celular em todas as diluições de soro, e eram consideradas positivas para a presença de anti-

corpos contra o BHV aquelas em que em alguma diluição houve completa inibição da lise celular. As amostras foram consideradas como tóxicas quando havia lise celular no poço em que havia somente soro, MEM e as células.

### Análise estatística

Para verificar a evolução dos anticorpos para BHV-1, e também para verificar correlação entre os títulos de anticorpos das terneiras e de suas mães, foi utilizado o método de regressão, conforme descrito por STEEL & TORRIE (1980).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi determinada a presença de anticorpos nas vacas do rebanho leiteiro deste estudo contra o BHV-1, através de análise feita pela prova de SN. O nº de animais positivos foi de 7,3% (06/82).

Na Figura 1 observa-se a evolução dos anticorpos contra o BHV-1 no soro de terneiras, a partir da ingestão de colostro até 180 dias de idade. A análise de regressão mostrou a existência de correlação entre o título médio geométrico de anticorpos (GMT) e a idade ( $R^2=0,65$ ). Através da equação obtida observa-se que houve uma queda progressiva do GMT em função da idade, e pode ser previsto que aos 180 dias de vida os animais apresentem somente um  $GMT \leq 2$ .

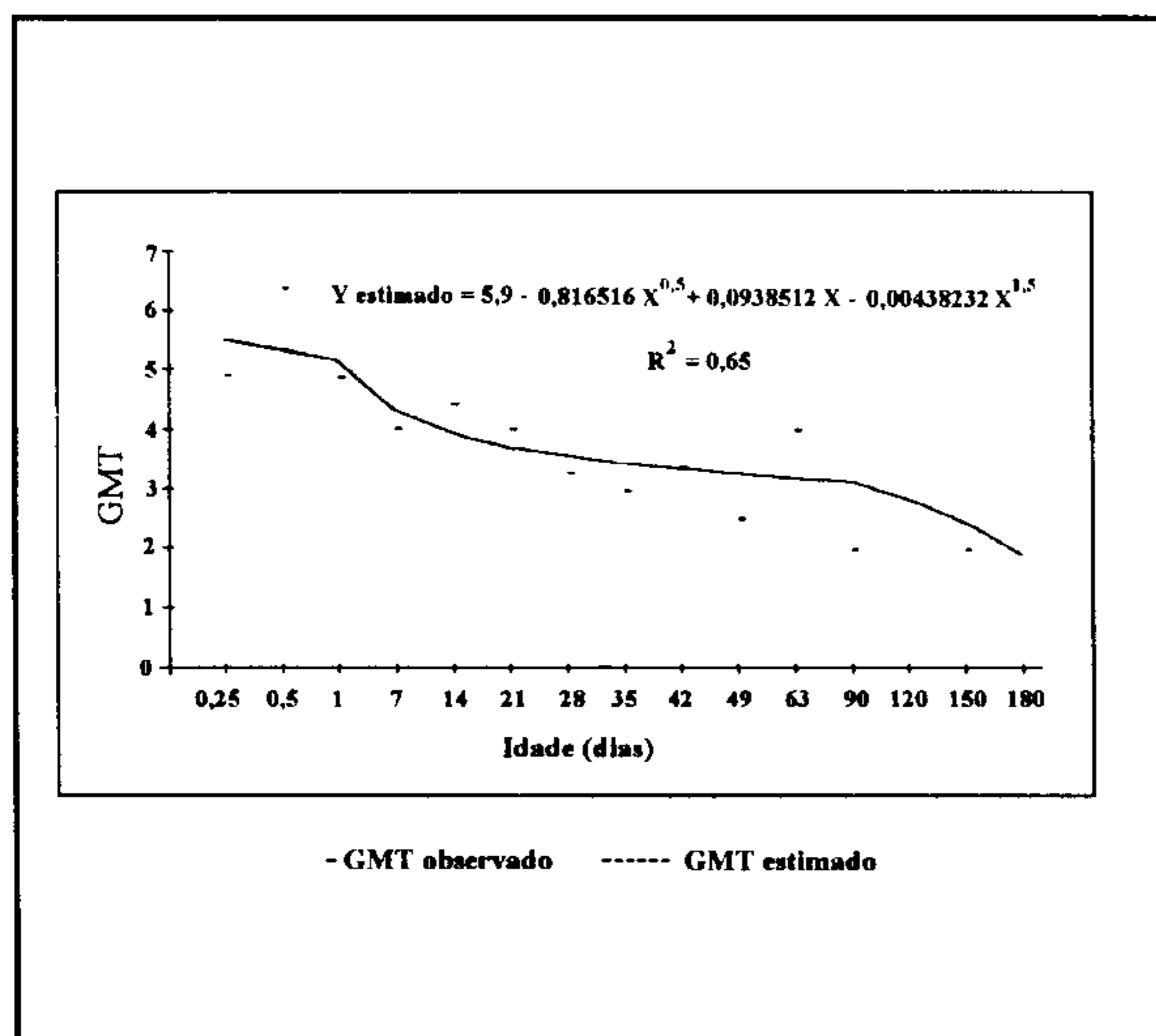


Figura 1. Evolução do título médio geométrico de anticorpos (GMT) contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BHV-1) no soro de 11 terneiras desde o nascimento até 180 dias de vida, medido através da prova de soro-neutralização (SN).

Os anticorpos passivos contra o BHV-1 foram determinados pela prova de soro-neutralização (SN), por ser considerada de grande especificidade e sensibilidade (BLACK, 1970). Devido a baixa prevalência de anticorpos para BHV entre as vacas deste estudo (7,3%), foram encontradas somente 11 terneiras positivas para a presença de anticorpos após o consumo de colostro (Figura 1). Dos 11 animais analisados, somente 6 eram filhas de vacas com evidência de infecção latente pelo BHV-1. As terneiras restantes tornaram-se sorologicamente positivas após ingestão do "pool" de colostro oferecido. Os títulos de anticorpos contra o BHV-1 destes animais foram baixos, e variaram de 1:2 até 1:16. McGUIRE & CRAWFORD (1973) apontaram que quando quantidades relativamente pequenas de anticorpos são transmitidos, esses são catabolizados e acabam no período de um mês, caso não haja estimulação antigênica. Estas considerações talvez possam explicar porque no 28º dia já começaram a aparecer amostras de soro negativas e no 90º dia somente um animal ainda apresentava-se soropositivo. Porém, através da equação obtida pela análise de regressão (Figura 1), pôde ser estimado que o título médio geométrico de anticorpos (GMT) decline progressivamente, e aos 180 dias de idade (época do último teste), seja  $\leq 2$ . Caso este trabalho tivesse investigado um maior número de animais, ou animais com maiores títulos de anticorpos iniciais, poderia-se ter uma maior quantidade de animais com anticorpos contra o BHV-1, detectáveis até os 6 meses de idade.

A duração da imunidade passiva para o BHV deste estudo foi semelhante a citada por STRAUB (1969) e CORKISH (1988). HYLAND *et al.* (1975) acreditam que os anticorpos desapareçam aos 4 meses de idade. BRADLEY (1985) afirma que o desaparecimento é aproximadamente aos 2 meses de idade. BRAR *et al.* (1978) relatam o desaparecimento dos anticorpos colostrais entre 95 e 231 dias de idade. A variação encontrada na duração dos anticorpos colostrais para BHV-1 provavelmente é devido a diferenças nos títulos de anticorpos dos terneiros logo após o nascimento, devido a ingestão de colostro em diferentes quantidades e com variadas concentrações de anticorpos específicos.

Ao quantificar-se os anticorpos para BHV-1, obtidos nas terneiras com uma semana de vida, não houve correlação com os determinados nas mães 28 dias antes do parto, através da análise estatística pelo método de regressão. Isso provavelmente deveu-se a retirada imediata do animal de sua mãe após o nascimento, e ao fornecimento de uma mistura de colostro durante os primeiros 2 dias de vida. Conforme infor-

mações obtidas na literatura, os títulos de anticorpos específicos nos terneiros, após a ingestão de colostro, dependem do volume de colostro, composição, tempo de administração pós-parto, e modo de consumo, estimando-se que 2 a 3 litros de colostro ingerido dentro das primeiras 12 horas do nascimento seja suficiente para a aquisição de adequada quantidade de imunoglobulinas (STOTT *et al.*, 1979; EDWARDS & BROOM, 1982; WHITE, 1987; FALLON, 1990). Embora não tenha sido realizado a titulação de anticorpos nos colostros oferecidos, ou a determinação da concentração de imunoglobulinas, supõe-se que a concentração de anticorpos no "pool" de colostro oferecido aos animais não era equivalente ao colostro de suas mães. O consumo de colostro de baixa qualidade e com pouca concentração de anticorpos contra o BHV-1 pode acarretar falha na proteção contra as formas clínicas de infecção (BRATANICH *et al.*, 1991; SCHUH *et al.*, 1992; BELKNAP *et al.*, 1994). Apesar de infecções pelo BHV manifestarem-se muitas vezes subclínicamente, neste trabalho isto provavelmente não ocorreu, pois pela análise dos títulos de anticorpos encontrados, não houve a soro-conversão que se faz necessária para diagnosticar infecção ativa pelo BHV (FENNER *et al.*, 1987).

Nas condições em que este trabalho foi realizado, pode-se estimar que as ternheiras perdem a sorologia positiva como efeito da imunidade passiva após 180 dias de idade, quando a prova de SN poderá ser utilizada para diagnosticar infecção ativa pelo BHV-1.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELKNAP, E.B., COLLINS, J.K., AYERS, V.K. *et al.* Experimental infection of neonatal calves with neurovirulent bovine herpesvirus type 1.3. *Vet Pathol*, v. 31, p. 358-365, 1994.
- BLACK, J.W. Use of the microtiter serum neutralization test for the diagnosis of IBR, BVD, and other bovine and porcine viral diseases. In: ANNUAL MEETING US LIVESTOCK SANITARY ASSOCIATION, 1970, *Proceedings...* Livestock Sanitary Association, 1970. p. 515-521.
- BRADLEY, J.A. Eradication of infectious bovine rhinotracheitis virus (Bovine Herpesvirus 1) from a herd of beef cattle. *Can Vet J*, v. 26, n., p. 195-198, 1985.
- BRAR, J.S., JOHNSON, D.W., MUSCOPLAT, C.C. *et al.* Maternal immunity to infectious bovine rhinotracheitis and bovine diarrhea viruses: duration and effect on vaccination in young calves. *Am J Vet Res*, v. 39, p. 241-244, 1978.
- BRATANICH, A.C., SARDI, S.I. SMITSAART, E.N. *et al.* Comparative studies of BHV-1 variants by *in vivo-in vitro* tests. *J Vet Med*, v. 38, p. 41-48, 1991.
- CARBREY, E.A., BROWN, L.N., CHOW, T.L. Recommended standard laboratory techniques for diagnosing infectious bovine rhinotracheitis, bovine virus and shipping fever (parainfluenza-3). In: ANNUAL MEETING U.S. ANIMAL HEALTH ASSOCIATION, 1971. *Proceedings...* Animal Health Association, 1971. p. 629-648.
- CORKISH, J.D. An attempt to establish a herd serologically negative for infectious bovine rhinotracheitis. *Vet Rec*, v. 122, p. 552-554, 1988.
- EDWARDS, S.A., BROOM, D.M. Behavioral interaction of dairy cows with their newborn calves and the effect of parity. *Am Behavior*, v. 30, p. 525-535, 1982.
- FALLON, R.J. Immunoglobulins and the newborn calf. In: PROCEEDINGS OF ALLTLCHIS SIXTH ANNUAL SYMPOSIUM, 1990. Nicholasville, Kentucky. *Proceedings...*Kentucky, Lyons, 539 p, p. 296-313, 1990.
- FENNER, F., BACHMANN, A., GIBBS, E.P.J. *et al.* *Veterinary Virology*. New York: Academic Press, 1987. 659 p.
- GIBBS, E.P.J., RWEYEMAMU, M.M. Bovine herpesviruses. Part I. Bovine herpesvirus 1. *Vet Bulletin*, v. 47, n. 5, p. 317-343, 1977.
- HYLAND, S.J., EASTERDAY, B.C., PAWLISCH, R. Antibody levels and immunity to infectious bovine rhinotracheitis virus (IBR) infections in Wisconsin dairy cattle. International Symposium on Immunity to Infections of the Respiratory System in Man and Animals, London, 1974. *Develop Biol Standard*, v. 28, p. 510-525, 1975.
- MCGUIRE, T.C., CRAWFORD, T.B. Passive immunity in the foal: Measurement of immunoglobulin classes and specific antibody. *Am J Vet Res*, v. 34, n. 10, p. 1299-1303, 1973.
- MILLER, J.M. The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. *Vet Med*, p. 95-98, 1991.
- MUELLER, S.B.K., IKUNO, A.A., CAMPOS, M.T.G.R. *et al.* Ocorrência simultânea de alterações respiratórias e genitais associadas à rinotraqueíte infecciosa dos bovinos/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV) em um rebanho no estado de São Paulo. *Arq Inst Biol São Paulo*, v. 45, n. 3/4, p. 55-60, 1979.
- MURRAY, R.D. A field investigation of calves of abortion in dairy cattle. *Vet Rec*, v. 127, p. 543-547, 1990.
- NOGUEIRA, F.R.C., CAMARGO, A.J.R., RESENDE, O.A. *et al.* Ocorrência de rinotraqueíte infecciosa/vulvovaginite pustular infecciosa em bovinos no estado do Rio de Janeiro. *Pesq Vet Bras*, v. 86, n.167, p. 1-5, 1986. (Comunicado Técnico)
- REED, R.H., MUENCH, H. A single method of estimating fifty percent end points. *Am J Hyg*, v. 27, p. 493-497, 1938.
- RIET-CORREA, F., VIDOR, T., SCHILD, A.L. *et al.* Meningoencefalite e necrose do córtex cerebral em bovinos causados por Herpes Vírus bovino tipo-1. *Pesq Vet Bras*, v. 9., n. 1/2, p. 13-16, 1989.
- SCHUH, J.C.L., WALKER, S. Outbreak of neonatal infectious bovine rhinotracheitis. *Can Vet J*, v. 31, p. 592, 1990.
- SCHUH, J.C.L., OHMANN, H.B., BABIUK, L.A. *et al.* Bovine

- herpesvirus-1 induced pharyngeal tonsil lesions in neonatal and weaning calves. **J Comp Path**, v. 106, p. 243-253, 1992.
- SHEFFY, B.E., RODMAN, S. Activation of latent infectious bovine rhinotracheitis infection. **J Am Vet Medical Assoc**, v. 163, n. 7, p. 850-851, 1973.
- SNOWDON, W.A. The IBR-IPV virus: reaction to infection and intermitent recovery of virus from experimentally infected cattle. **Austr Vet J**, v. 41, p. 135-142, 1965.
- STEEL, R.G.D., TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics - A biometrical approach**. New York: McGraw-Hill, 1980. 633 p.
- STOTT, G.H., MARX, D.B., MENEFEE, B.E.. *et al.* Colostral immunoglobulin transfer in calves. IV. Effect of suckling. **J Dairy Sci**, v. 62, n. 12, p. 1908-1913, 1979.
- STRAUB, O.C. Zur Übertragung viraler Antikörper durch das Kolostrum. **Tierärztl Umsch**, v. 24, p. 571-573, 1969.
- VILLA, C.E., CONIGLIARO, A.S. ROMERA, R. *et al.* Utilización de corticoides como ayuda al diagnóstico de toros portadores venéreos de virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (BHV-1). **CADIA (Cámara Argentina de Inseminação Artificial)**, v. 1, n. 5, p. 42-50, 1986.
- WEIBLEN, R., KREUTZ, L.C., CANABARRO, T.F. *et al.* Balanoposthitis in bulls due to bovine herpesvirus in south Brazil. **Brazilian J Biol Res**, v. 24, n. 8, p. 1-3, 1991.
- WHITE, D. Feeding colostrum to calves. **In Practice**, v. 9, n. 4, p. 131-132, 1987.

**Ciência Rural, v. 26, n. 3, 1996.**