

ANTICORPOS CONTRA HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 E VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA EM LEITE: INFLUÊNCIA DO MANEJO

JÉSSICA SEVILHA BARBOSA¹; IVE FRANCESCA TROCCOLI HEPPER¹; TONY PICOLI²; GEFERSON FISCHER³

¹Acadêmica de Medicina Veterinária, UFPel – jessicasevilha@hotmail.com; ivehepper@yahoo.com.br

²Doutorando do PPGV, UFPel – picolivet@gmail.com

³Professor do Departamento de Veterinária Preventiva, UFPel – geferson.fischer@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A implementação de programas sanitários é parte fundamental no combate à enfermidades infectocontagiosas de rebanhos, como a Rinotraqueite Infecciosa Bovina (IBR) e a Diarreia Viral Bovina (BVD), causadas, respectivamente, pelo herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) (FLORES, 2012).

Ambas enfermidades cursam com problemas reprodutivos, tais como abortos e retorno ao cio, e, por sua epidemiologia, mantém-se em níveis elevados nos rebanhos, causando prejuízos econômicos ao produtor. O BoHV-1 é um vírus que permanece em latência nos animais infectados, que se tornam portadores por toda a vida (FRANCO; ROEHE, 2012). Quanto ao BVDV, sua manutenção nos rebanhos está vinculada aos animais persistentemente infectados, que não apresentam infecção, porém disseminam o vírus por toda vida, portanto a identificação e eliminação desses animais é primordial no controle da enfermidade (SCHERER et al., 2012).

Uma parte importante do processo de controle de uma enfermidade, é a utilização de diagnósticos laboratoriais. Para diagnóstico de IBR e BVD, uma das técnicas amplamente usadas é a soroneutralização (SN), para detecção de anticorpos contra tais enfermidades no soro de animais suspeitos ou susceptíveis (PAREDES et al., 1999; KUNRATH et al., 2004). Porém exige certa mão de obra e tempo de trabalho ao conter todos os animais do rebanho para coleta de sangue, além do estresse animal causado pelo procedimento. Nesse sentido, a realização do teste para triagem de rebanhos parece uma ferramenta que agilizaria os procedimentos além de evitar mão de obra desnecessária e, somente rebanhos positivos seriam submetidos aos procedimentos clássicos de coleta sanguínea em todos os animais. Visando tal alternativa, objetivou-se o uso da SN utilizando soro do leite armazenado em tanques resfriadores. A influência do manejo dos rebanhos no aparecimento de anticorpos no leite também foi estudado.

2. METODOLOGIA

Foram visitadas e selecionadas 67 propriedades leiteiras em Morro Redondo e Cerrito que não efetuavam vacinação contra IBR e BVD, para coletar amostras de leite e aplicação de questionários epidemiológicos. Após homogeneização do leite do tanque resfriador, as amostras foram coletadas e acondicionadas em recipientes estéreis, identificadas, refrigeradas e enviadas ao Laboratório de Virologia e Imunologia Animal da UFPel para análises sorológicas. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos e, após remoção da camada de gordura, uma alíquota do soro lácteo foi coletada. Os soros foram

acondicionados em microtubos, identificados e submetidos à temperatura de 56°C durante 30 minutos em banho-maria para inativação do sistema complemento. Após, as amostras foram congeladas a -70°C até o momento do uso.

Foi realizada a técnica de soroneutralização (SN), conforme descrito por FISCHER et al. (2007), com objetivo de encontrar anticorpos neutralizantes contra BoHV-1 e BVDV. Os vírus utilizados (BoHV-1 cepa Los Angeles e BVDV cepa NADL), assim como as células Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK), foram obtidos do próprio LabVir. A escolha desse tipo celular foi em razão da permissibilidade aos vírus estudados. Os dados epidemiológicos e dados da produção dos estabelecimentos foram cruzados com os resultados das soroneutralizações, utilizando análises de risco através da obtenção do risco absoluto e da estimativa do risco relativo (*Odds Ratio*). As análises foram realizadas utilizando o software estatístico BioEstat versão 5.3®, estabelecendo uma confiabilidade de 95% ($p<0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicam que a idade média dos produtores de leite da região estudada é 49 anos e, 3% permanecem analfabetos, 77,6% não concluíram e 10,4% concluíram o ensino fundamental, 3% não concluíram e 6% concluíram o ensino médio. Nenhum dos produtores visitados tinha iniciado um curso superior. As propriedades têm, em média, 18,58 ha e, em média, são utilizados 12,54 ha para produção de leite. Os produtores que produzem apenas leite em sua propriedade correspondem a 56,7% e os 43,7% restantes encaram a produção leiteira como uma atividade complementar, tendo também a agricultura como fonte de renda. Em média as propriedades possuem apenas 18,74 bovinos e apenas 6,82 vacas em lactação.

Entre as 67 propriedades que não vacinam seus animais, 14 (20,9%) apresentaram títulos de anticorpos contra o BoHV-1 no leite do tanque resfriador e, 29 (43,3%) contra o BVDV (Tabela 1). A prevalência dessas enfermidades é muito variável em diferentes regiões e manejos do gado. HOLTZ et al. (2009) identificou 29,2% de animais soropositivos para BoHV-1 em amostras pertencentes a 158 municípios do Rio Grande do Sul e QUINCOZES et al. (2007), no extremo sul do Estado, encontrou 82,35% de propriedades positivas, sendo 66,32% dos animais positivos para BVDV. FRANDOLOSO et al. (2008) encontrou 57,7% de animais positivos para ambas as enfermidades na região nordeste do Rio Grande do Sul. Já JUNQUEIRA et al. (2006), encontraram positividade de BoHV-1 em 68,3% dos animais e até 98% de animais infectados pelo BVDV, no Estado de São Paulo.

Tabela 1. Títulos de anticorpos encontrados em leite de tanques resfriadores, n=67

Título	BoHV-1	BVDV
2	10 (14,9%)	9 (13,4%)
4	3 (4,5%)	8 (11,9%)
8	0 (0%)	6 (9%)
16	1 (1,5%)	8 (11,9%)
32	0 (0%)	3 (4,5%)
64	0 (0%)	0 (0%)
128	0 (0%)	1 (1,5%)
Total	14 (20,9%)	29 (43,3%)

SCHERER et al. (2002) ao correlacionar títulos séricos com títulos em leite pela SN, constatou que frequentemente, amostras com título sérico entre 10 e 40 não apresentam níveis detectáveis de anticorpos no leite. O percentual de amostras de leite que é detectada como positiva varia entre 33,3% (em vacas com títulos séricos de 10) e 97,4%, em animais com títulos de >320 no soro. Portanto, no leite os títulos de anticorpos são sempre inferiores aos títulos séricos. Em tanques resfriadores, com a mistura do leite de animais positivos e negativos, os títulos apresentam-se baixos e o teste apresentou baixa sensibilidade ao detectar baixos níveis de anticorpos. No entanto, como teste de triagem e para evitar mão-de-obra excessiva e o estresse animal no momento da coleta sanguínea, a SN de amostras de leite é uma ferramenta válida que merece estudos mais aprofundados sobre seu grau de sensibilidade e especificidade.

O manejo reprodutivo, por representar importante fator na transmissão de ambas enfermidades, foi avaliado nas propriedades e constatado que 70,1% utilizam monta natural em seus rebanhos e apenas 29,9% inseminam artificialmente. Dentre as propriedades que utilizam touro no manejo reprodutivo, 27,7% apresentaram soropositividade para BoHV-1 e 46,8% para BVDV, ao passo que, dentre as propriedades que inseminam, apenas 5% foram positivas para BoHV-1 e 14,9% para BVDV. A análise de risco revelou que a monta natural aumenta em 5,53 vezes (*Odds Ratio, OR*) as chances de obter títulos de anticorpos contra BoHV-1 em leite quando comparado à técnica da inseminação artificial, correspondendo a um risco absoluto (RA) de 22,66% ($p=0,0393$). Para BVDV, embora sejam conhecidas as formas de transmissão da doença, neste estudo a análise de risco não foi significativa ($p>0,05$), com $OR=1,34$ e $RA=11,81\%$.

De acordo com a escolaridade do responsável pela produção, as prevalências de positividade foram, respectivamente para BoHV-1 e BVDV: analfabetos (50% e 0%), ensino fundamental incompleto (19,2% e 44,2%), ensino fundamental completo (14,3% e 57,1%), ensino médio incompleto (50% e 50%) e ensino médio completo (25% e 25%). A grande maioria dos produtores se concentra na faixa do ensino fundamental completo e incompleto (88%), impossibilitando comparações confiáveis com os outros grupos, que tiveram um baixo número amostral. PICOLI et al. (2014) demonstrou que o nível de escolaridade do produtor reflete na qualidade do manejo e da produção, influindo negativamente. Ainda segundo esses autores, o grau de comprometimento com a produção leiteira também influí sobre a produção. Dentre as propriedades que apenas produzem leite, 21,1% foram positivas para BoHV-1 e 50% para BVDV, já em propriedades que integram a pecuária com a agricultura, 17,2% foram positivas para BoHV-1 e 34,5% para BVDV. Neste estudo, as análises de risco não demonstraram interação significativa ($p>0,05$) entre o grau de instrução e o grau de comprometimento com a positividade das amostras.

4. CONCLUSÕES

A técnica da soroneutralização pode ser utilizada para detecção de anticorpos em soro de leite. A utilização da monta natural como manejo reprodutivo aumenta significativamente a detecção de anticorpos contra BoHV-1 no leite de tanque resfriador.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FISCHER, G.; CONCEIÇÃO, F. R.; LEITE, F. P. L.; DUMMER, L. A.; VARGAS, G. D.; HÜBNER, S. O.; DELLAGOSTIN, O.A.; PAULINO, N.; PAULINO, A.S.; VIDOR, T. Immunomodulation produced by a green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with SuHV-1. **Vaccine**, n. 25, p. 1250-1256, 2007.
- FLORES, E. F. **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2012. p. 1008.
- FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. *Herpesviridae*. In: FLORES, E. F (Org.) **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2012.
- FRANDOLOSO, R.; ANZILIERO, D.; SPAGNOLO, J.; KUSE, N.; FIORI, C.; SCORTEGAGNA, G.T.; BARCELLOS, L.J.G; KREUTZ, L.C. Prevalência de leucose enzoótica bovina, diarréia viral bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.4, p.1102-1106, 2008.
- JUNQUEIRA, J.R.C.; FREITAS, J.C.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Avaliação do desempenho reprodutivo de um rebanho bovino de corte naturalmente infectado com o BoHV-1, BVDV e Leptospira hardjo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n.3, p. 471-480, 2006.
- KUNRATH, C.F.; VOGEL, F.S.F.; OLDONI, I.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; DEZENGRINI, R.; TORRES, F.D.; PAN, K.A. Soroneutralização e imunofluorescência utilizando anticorpos monoclonais no diagnóstico rápido de infecções pelo herpesvírus bovino tipos 1 e 5 (BHV-1 e BHV-5). **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1877-1883, 2004.
- PAREDES, J.C.M; OLIVEIRA E.A.S.; OLIVEIRA, L.G.; ROSA, J.C.A.; ROEHE, P.M. Soroneutralização como teste sorológico diferencial entre infecções pelo vírus da peste suína clássica e outros pestivírus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 5, p. 403-408.
- PICOLI, T.; ZANI, J.L.; PETER, C.M.; LATOSINSKI, G.S.; FISCHER, G. Nível de instrução de produtores rurais e as características da produção leiteira. **Science and Animal Health**, v.2, n.2, p.147-159, 2014.
- QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. A.; VIDOR, T. BROD, C. S. Prevalência e fatores associados à infecção pelo vírus da diarréia viral bovina na região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, v.28, n.2, p.269-276, 2007.
- SCHERER, C.F.C; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; KREUTZ, L.C.; DÜRR, J.W.; BRUM, L.P.; QUADROS, V.L.; LIMA, M. Técnica rápida de neutralização viral para a detecção de anticorpos contra o vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, p. 45-50, 2002.