

ESTUDO RETROSPECTIVO (2018 – 2019) DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES CONTRA O VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA EM REBANHOS DO RIO GRANDE DO SUL

RODRIGO BOZEMBECKER DE ALMEIDA¹; FRANCIELLE LIZ MONTEIRO²;
LARIANE DA SILVA BARCELOS²; PAULO RICARDO CENTENO RODRIGUES²;
GEFERSON FISCHER³

¹Universidade Federal de Pelotas – rodrigobozembecker@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – franciellemonteiro09@gmail.com;
larianebarcelos@gmail.com; priccenteno@hotmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura é uma das principais atividades agropecuárias do Brasil, com um rebanho de mais de 200 milhões de cabeças (IBGE, 2017). Esta atividade permite ao país ocupar lugar de destaque no cenário mundial, com o segundo maior rebanho bovino do mundo, superado apenas pela Índia. Além disso, o Brasil produz mais de nove milhões de toneladas de carne bovina por ano, sendo o segundo maior produtor do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos (FARMNEWS, 2017). Apesar desse cenário favorável, vários fatores, como doenças infecciosas e reprodutivas são responsáveis pela redução dos índices de produção no país. Deste modo, compreender e identificar estas enfermidades são medidas essenciais para o seu controle.

Dentre as enfermidades de grande importância em bovinos, destaca-se a Diarreia Viral Bovina (BVD), causada por um vírus RNA, envelopado, da família *Flaviviridae* e gênero *Pestivirus*. Esse gênero abriga três espécies virais que infectam bovinos, sendo: BVDV-1 - *Pestivirus A*, BVDV-2 - *Pestivirus B* e o vírus HoBiPeV - *Pestivirus H*. A infecção pelo vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) pode causar uma grande variedade de manifestações clínicas, relacionadas com doença reprodutiva, respiratória ou digestiva. Quando a infecção ocorre em fêmeas prenhas, entre 40 e 120 dias de gestação, existe o risco do nascimento de terneiros imunotolerantes ao vírus e que permanecem persistentemente infectados por toda a vida (FLORES, 2003). Estes animais são responsáveis pela eliminação constante do vírus no ambiente, causando a infecção de outros animais (BAKER, 1987).

O presente trabalho tem como objetivo realizar um estudo retrospectivo de anticorpos neutralizantes contra o BVDV em amostras de bovinos vacinados e não vacinados do estado do Rio Grande do Sul, recebidas no Laboratório de Virologia e Imunologia (LabVir) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no período de março de 2018 a agosto de 2019.

2. METODOLOGIA

As amostras recebidas no LabVir/UFPel foram devidamente identificadas e, depois de realizada a centrifugação, o soro foi transferido para microtubos, que foram acondicionados à temperatura de -20°C até o momento da análise.

Os testes sorológicos foram realizados em células MDBK (*Madin-Darby bovine kidney*), utilizando a cepa citopática NADL do BVDV. As células foram cultivadas em meio essencial mínimo (MEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino.

Para a detecção de anticorpos neutralizantes foi realizado o teste de soroneutralização. Em placas de cultivo celular de 96 cavidades (Kasvi®), o soro, previamente submetido à inativação do sistema complemento (56°C por 30 minutos), foi incubado em oito diluições crescentes (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 e 1:256) com 100 DICC₅₀ (dose infectante para 50% do cultivo celular) de BVDV. As placas contendo a mistura soro-vírus foram incubadas por 1h em estufa a 37°C com 5% de CO₂. Em seguida foi adicionada uma suspensão com 3x10⁴ células por poço, sendo novamente incubadas nas mesmas condições por 72h. A leitura do teste foi realizada através do monitoramento do efeito citopático em microscópio óptico invertido. O título de anticorpos neutralizantes foi considerado como a recíproca da maior diluição do soro capaz de neutralizar a replicação viral. As amostras que não apresentaram atividade neutralizante na menor diluição foram consideradas negativas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período do estudo foram avaliados 764 animais, sendo 315 vacinados e 449 não vacinados. Estes animais eram provenientes de 42 propriedades rurais, localizadas em 16 municípios do Rio Grande do Sul: Pelotas, Pedro Osório, São José do Norte, Santa Vitória do Palmar, Piratini, Bagé, Bom Jesus, Dom Pedrito, São João da Urtiga, Candiota, Capão do Leão, Morro Redondo, Rio Grande, Tupanci do Sul, Arroio Grande e Cacique Doble.

Com os resultados dos testes sorológicos foi possível observar que dos 315 animais vacinados, 108 (34,3%) tiveram resultado negativo e 207 (65,7%) tiveram resultado positivo para presença de anticorpos. Dos 449 animais não vacinados, 219 (48,8%) apresentaram resultado negativo e 230 (51,2%) apresentaram resultado positivo. Os resultados detalhados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Título de anticorpos neutralizantes para o BVDV em amostras recebidas no LabVir/UFPel, no período de março de 2018 a agosto de 2019.

Título de Anticorpos	Vacinados	Não Vacinados
0	108 (34,30%)	219(48,80%)
2	3 (0,90%)	0 (0,00%)
4	5 (1,60%)	7 (1,60%)
8	8 (2,50%)	6 (1,35%)
16	10 (3,20%)	8 (1,80%)
32	13 (4,10%)	19 (4,25%)
64	20 (6,40%)	11 (2,40%)
128	37 (11,70%)	32 (7,10%)
≥ 256	111 (35,30%)	147 (32,70%)
Total	315	449

Na análise dos resultados, foi possível notar que 51,2% dos animais não vacinados apresentavam anticorpos contra o BVDV, indicando que a infecção ocorre com alta frequência nos rebanhos bovinos do Rio Grande do Sul. Os dados observados aproximam-se aos obtidos por Canal et al. (1998) que constataram anticorpos em 56% dos 430 soros testados para o BVDV no RS e Quinzoces et al. (2007), que detectaram anticorpos em 66,32% das 1.734 amostras analisadas na região sul do Estado.

Os níveis de anticorpos neutralizantes correlacionados com proteção contra o BVDV ainda não foram determinados. No entanto, títulos de 80 têm sido sugeridos como parâmetro-base para avaliar proteção clínica entre amostras de BVDV antigenicamente semelhantes (DUBOVI, 1992). Em experimentos de proteção vacinal, títulos ≥ 240 foram capazes de proteger contra a infecção respiratória enquanto títulos < 60 não conferiram proteção (FULTON & BURGE, 2000). No presente estudo, 65,7% dos animais vacinados apresentaram anticorpos, porém, somente 47% apresentaram título maior de 64. Animais com títulos neutralizantes inferiores a 80 provavelmente estariam desprotegidos frente à infecção com o vírus de campo (VOGEL, 2002). Anziliero et al. (2015), através da avaliação de oito vacinas comerciais, identificaram títulos altos e, provavelmente, protetores em somente uma. Das outras sete, cinco não induziram resposta em nenhum animal, especialmente contra o BVDV-2; uma induziu títulos baixos em 50% dos animais e a outra induziu títulos mínimos detectáveis em apenas 20% dos animais.

Dias et al. (2017), analisando as relações genéticas entre isolados brasileiros do vírus HoBiPeV, detectaram que a identidade da sequência nucleotídica entre esses vírus variou de 97,6 a 100%. A identidade da região 5'UTR entre os isolados HoBiPeV e BVDV-1 (Singer, NADL, Oregon e Osloss) variou de 76,4 a 79%; e com o BVDV-2 (890, Giessen 6, Nova Iorque 93, Soldan e VM96) de 83 a 85,6%. Esses mesmos autores indicam que os isolados brasileiros do vírus HoBiPeV são antigenicamente mais distantes do BVDV-1 do que o BVDV-2 e sugerem a existência de variabilidade antigênica entre os isolados do vírus HoBiPeV. Além disso, soros de ovinos imunizados com vacinas comerciais contra BVDV apresentam baixa ou indetectável atividade neutralizante contra vírus brasileiros do tipo HoBiPeV. Estes resultados demonstram a urgente necessidade da reavaliação dos imunógenos e/ou protocolos vacinais utilizados no país. A grande diversidade antigênica entre os isolados de campo de BVDV constitui-se no maior obstáculo para a obtenção de resposta imunológica de amplo espectro através de vacinação (DUBOVI, 1992; BOLIN, 1995).

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstram a ampla distribuição da infecção pelo BVDV no rebanho bovino do RS, e que parcela importante dos animais vacinados contra o BVDV permanecem soronegativos ou com títulos baixos de anticorpos neutralizantes. Isso indica que medidas de controle mais eficazes precisam ser adotadas para o controle da doença.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANZILIERO, D.; MARTINS, M.; WEISS, M.; MONTEIRO, F. L.; ATAIDE, C. F.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. R. Resposta sorológica aos herpesvírus bovino tipos 1 e 5 e vírus da diarreia viral bovina induzida por vacinas comerciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.1, p.58-63, 2015.
- BAKER, J.C. Bovine viral diarrhoea virus: A review. **American Veterinary Medical Association**, v.190, p.1449-1458, 1987.
- BOLIN, S.R. Control of bovine viral diarrhea infection by use of vaccination. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.11, p.615-625, 1995.
- CANAL, C. W.; STRASSER, M.; HERTIG, C.; MASUDA, A.; PETERHANS, E. Detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and characterization of genomes of BVDV from Brazil. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.63, n.2-4, p.85-97, 1998.
- DUBOVI, E.J. Genetic diversity and BVD virus. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.15, p.155-162, 1992.
- DIAS, R. K.; CARGNELUTTI, J. F.; WEBER, M. N.; CANAL, C. W.; BAUERMANN, F. V.; RIDPATH, J. F.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Antigenic diversity of Brazilian isolates of HoBi-like pestiviruses. **Veterinary Microbiology**. 2017.
- FARMNEWS. **Maiores rebanhos e produtores de carne bovina do mundo**. Disponível em: <http://www.farmnews.com.br/mercado/produtores-de-carne-bovina>. Acesso em: 31 de agosto 2019.
- FLORES, E. **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Editora UFSM, 2003.
- FULTON, R.W.; BURGE, L.J. Bovine viral diarrhoea types 1 and 2 antibody response in calves receiving modified live virus or inactivated vaccines. **Vaccine**, v.19, p.264-274, 2000.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Efetivo de rebanho bovino no Brasil**. Disponível em: sidra.ibge.gov.br. Acesso em: 07/08/2019.
- QUINCOZES, C. G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O; VARGAS, G. D.; 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**. 2007. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744084013>
- VOGEL, F. S. F.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; MAYER, S. V.; QUADROS, V. L.; OLDONI, I. Magnitude, duração e especificidade da resposta sorológica em bovinos vacinados contra o Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1, p.83-89, 2002.