

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS CURITIBANOS  
DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS E SAÚDE ÚNICA  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Ana Flávia Pereira de Souza

**Resposta de anticorpos neutralizantes contra Herpesvírus bovino tipo 1 e vírus da  
Diarreia viral bovina tipo 1 induzido por três vacinas comerciais**

Curitibanos

2019

Ana Flávia Pereira de Souza

**Resposta de anticorpos neutralizantes contra Herpesvírus bovino tipo 1 e vírus da  
Diarreia viral bovina tipo 1 induzido por três vacinas comerciais**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em  
Medicina Veterinária do Centro de Ciências Rurais da  
Universidade Federal de Santa Catarina como requisito  
para a obtenção do título de Bacharel em Medicina  
Veterinária.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sandra Arenhart

Curitibanos

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Souza, Ana Flávia Pereira

Resposta de anticorpos neutralizantes contra Herpesvírus  
bovino tipo 1 e vírus da Diarreia viral bovina tipo 1  
induzido por três vacinas comerciais / Ana Flávia Pereira  
Souza ; orientadora, Sandra Arenhart, 2019.

49 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus  
Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária,  
Curitibanos, 2019.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Herpesvírus bovino. 3.  
Diarreia viral bovina. 4. Resposta sorológica. 5. Vacinas.  
I. Arenhart, Sandra . II. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

Ana Flávia Pereira de Souza

**Resposta de anticorpos neutralizantes contra Herpesvírus bovino tipo 1 e vírus da  
Diarreia viral bovina tipo 1 induzido por três vacinas comerciais**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Médica Veterinária e aprovado em sua forma final pelo Curso de Medicina Veterinária

Curitiba, 06 de dezembro de 2019.

---

Prof. Dr. Alexandre Oliveira Tavela  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sandra Arenhart  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dr. Giuliano Moraes Figueiró  
Avaliador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dr. Álvaro Menin  
Avaliador  
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado à minha amada filha Amábilis, ao meu marido Fernando e aos meus queridos pais Aguida e Vanderlei.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por me dar o dom da vida e o dom de amar os animais, e todas as bênçãos recebidas em minha vida, Ele atendeu meu pedido de criança, que hoje alcancei de ser Médica Veterinária.

Ao meu pai, Vanderlei que, desde que eu era muito pequena, me levava para trabalhar com gado e cavalos, e me ensinou a cuidá-los e respeitá-los.

A minha mãe Aguida, tão doce e amorosa, sempre foi meu porto seguro.

A minha filha Amábile, que juntas conseguimos superar a saudade uma da outra durante todo o período em que fiz faculdade.

Ao meu marido Fernando, que sempre foi meu grande incentivador, que nunca mediu esforço para me ajudar, me dando sempre muito apoio, a ti devo este título.

A minha sogra Bernadina e ao meu sogro Valdomi que cuidaram da minha filha como se fosse a filha deles para que eu pudesse fazer minha faculdade.

A minha cunhada Nilce que sempre se preocupou com nosso bem-estar e sempre esteve pronta a ajudar no que fosse preciso.

A minha amiga Milena, que sempre mostra ser uma grande pessoa com quem eu posso contar.

Aos meus colegas de turma, pelos muitos momentos passados juntos e histórias vividas.

As minhas grandes amigas e parceiras de estudos Beatriz e Cinthia, muitas madrugadas estudando, chimarrão, conversa e risadas fizeram estes quatro anos e meio mais leves.

As minhas amigas que moraram comigo, Carol, Jenifer, Beatriz e as meninas do “apê12” com quem eu pude contar em diversos momentos, bons e ruins, muito mate e pipoca na nossa vida sempre!

Aos meus amigos do grupo “Bagual” Cinthia, Ana Paula, Tainara, Beatriz, Bruno e Laercio, afinal foram muitos trabalhos juntos, muito mate, estudo e companheirismo.

A minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sandra Arenhart, que me permitiu vivenciar mesmo que por um curto período, a rotina de um laboratório.

Ao professor Giuliano que sempre esteve disposto a trocar ideias e repassar conhecimentos mesmo fora da sala de aula.

A professora Dr.<sup>a</sup> Carine por ter se tornado uma amiga e por estar sempre disposta a ajudar.

Ao médico veterinário e supervisor de estagio Mailton, que permitiu com que eu botasse em prática o que aprendi em aula e por sempre repassar com muita boa vontade seus conhecimentos.

Enfim, meu muito obrigada a todos que de uma forma ou outra me deram auxilio no momento em que precisei, e me ajudaram a alcançar o meu objetivo.

“Somos do tamanho dos nossos sonhos”

(Fernando Pessoa)

## RESUMO

Este trabalho buscou avaliar a imunogenicidade de três vacinas comerciais, disponíveis no mercado, para os herpesvírus bovino 1 (BoHV-1) e vírus da diarreia viral bovina tipo 1 (BVDV-1). Novilhas holandesas com aproximadamente quinze meses foram alocadas em três grupos, cada grupo foi imunizado com uma das vacinas. Os animais foram primovacinaados e receberam reforço após 30 dias. A avaliação da resposta sorológica foi realizada um mês após a segunda dose, através de soroneutralização. No início do estudo, 77,58% das novilhas eram soronegativas para BoHV-1 e 98,27% soronegativas para BVDV-1. Frente ao BoHV-1, a vacina A e C induziram soroconversão  $\geq 1/16$  em 100% dos animais vacinados, com GMTs que variaram entre 83,55 para a vacina A e 176,88 para a vacina C. A vacina B induziu resposta antigênica em apenas 11,11% dos animais. Com relação ao BVDV-1, soroconversão parcial foi detectada no grupo vacinal A, onde 47,62% dos animais tiveram titulações entre 1/5 a 1/160 e GMT de 11,04. Já a vacina B não induziu anticorpos neutralizantes detectáveis em nenhum animal. Apenas a vacina C induziu resposta sorológica detectável em 100% dos animais vacinados, com GMT de 130,49. Esses resultados demonstram que frente ao BoHV-1 a resposta de anticorpos neutralizantes induzidas pelas vacinas foi suficiente para a proteção do rebanho, porém para o BVDV-1 a indução da resposta sorológica não foi adequada, a fim de proteger os bovinos de tal enfermidade, ficando claro que as estratégias de produção das vacinas comerciais precisam ser revistas em relação a BVDV-1 e o consumidor precisa estar ciente da eficácia do produto que está adquirindo.

**Palavras-chave:** Resposta sorológica. Diarreia viral bovina. Herpesvírus bovino.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the immunogenicity of three commercially available vaccines for bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) and bovine viral diarrhoea virus type 1 (BVDV-1). Dutch heifers approximately fifteen months old were allocated into three groups, each group immunized with one of the vaccines. The animals were primovaccinated and boosted after 30 days. Serological response was assessed one month after the second dose by seroneutralization. At baseline, 77.58% of the heifers were seronegative for BoHV-1 and 98.27% seronegative for BVDV-1. For BoHV-1, vaccine A and C induced seroconversion  $\geq 1 / 16$  in 100% of vaccinated animals, with GMTs ranging from 83.55 for vaccine A to 176.88 for vaccine C. Vaccine B induced antigenic response in only 11.11% of the animals. Regarding BVDV-1, partial seroconversion was detected in vaccine group A, where 47.62% of the animals had titers between 1/5 to 1/160 and GMT of 11.04. Vaccine B did not induce detectable neutralizing antibodies in any animal. Only vaccine C induced detectable serological response in 100% of vaccinated animals, with GMT of 130.49. These results demonstrate that against BoHV-1 the vaccine-induced neutralizing antibody response was sufficient to protect the herd, but for BVDV-1 the induction of the serological response was not adequate in order to protect the cattle from such disease, It is clear that commercial vaccine production strategies need to be reviewed against BVDV-1 and consumers need to be aware of the effectiveness of the product they are purchasing.

**Keywords:** Serological response. Bovine viral diarrhoea. Bovine herpesvirus.

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Doenças reprodutivas de bovinos e a fase gestacional acometida. ....	24
---	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Composição das vacinas comerciais utilizadas no estudo.....	36
Tabela 2-Médias Geométricas dos títulos induzidos por vacinas comerciais para herpesvírus bovino tipo 1 e diarreia viral bovina tipo 1 trinta dias após reforço.....	40
Tabela 3-Títulos de anticorpos neutralizantes induzidos nos animais imunizados com a vacina A.....	40
Tabela 4- Títulos de anticorpos neutralizantes induzidos nos animais imunizados com a vacina B.....	41
Tabela 5- Títulos de anticorpos neutralizantes induzidos nos animais imunizados com a vacina C.....	42

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Bezerra da fazenda do estudo com sinais de doença respiratória.....	35
--	----

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Títulos pós esquema vacinal para BVDV-1 e BoHV-1 vacina A.....	39
Gráfico 2 - Títulos pós esquema vacinal para BVDV-1 e BoHV-1 vacina B.....	39
Gráfico 3 - Títulos pós esquema vacinal para BVDV-1 e BoHV-1 vacina C. <b>Erro! Indicador não definido.</b>	

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BoHV - 1 Herpesvírus Bovino tipo 1  
BoHV - 5 Herpesvírus Bovino tipo 5  
BVD - Diarreia Viral Bovina  
BVDV - 1 Vírus da Diarreia viral bovina tipo 1  
BVDV - 2 Vírus da Diarreia viral bovina tipo 2  
bPIV - 3 Parainfluenza Bovina tipo 3  
BRSV - Vírus Respiratório Sincicial Bovino  
CP - Citopatogênico  
DEL - Dias em Lactação  
DM - Doença das Mucosas  
ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay  
GMT - Título médio geométrico  
IA - Inseminação Artificial  
IBR - Rinotraqueíte Infecciosa Bovina  
IPB - Balanopostite Pustular Bovina  
IPV - Vulvovaginite Pustular Bovina  
MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento  
NCP - Não Citopatogênico  
OIE - Organização Mundial de Saúde Animal  
PCR - Reação da Polimerase em Cadeia  
PI - Persistentemente Infectado  
RNA - Ácido Ribonucleico  
SN - Soroneutralização

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
1.1	OBJETIVOS.....	18
1.1.1	Objetivo geral.....	18
1.1.2	Objetivos Específicos .....	18
<b>2</b>	<b>DESENVOLVIMENTO .....</b>	<b>19</b>
2.1	HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1 .....	19
2.1.1	Epidemiologia .....	21
2.1.2	Sinais Clínicos .....	21
2.1.3	Diagnóstico .....	23
2.1.4	Controle e Profilaxia.....	24
2.2	VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA .....	26
2.2.1	Epidemiologia .....	29
2.2.2	Sinais Clínicos .....	29
2.2.3	Diagnóstico .....	31
2.2.4	Controle e Profilaxia.....	32
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E METÓDOS .....</b>	<b>35</b>
3.1	DESCRIÇÃO DA FAZENDA EXPERIMENTAL .....	35
3.2	ANIMAIS E IMUNIZAÇÃO.....	36
3.3	SOROLOGIA .....	37
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DICUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>46</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A eficiência produtiva de fazendas depende muito da reprodução. Principalmente quando se fala em fazendas leiteiras, onde o intervalo entre partos e os dias em lactação (DEL) interferem no volume de leite produzido. Quanto menor for o DEL do rebanho, maior o número de vacas na fase mais produtiva da curva de lactação. Esta estratégia interfere na lucratividade das propriedades, tendo em vista que, quanto melhor for a eficiência reprodutiva mais flexibilidade se tem para decisão de descartes e reposição de animais (SANTOS, 2019).

O andamento da reprodução é influenciado por diversos fatores como: alta produção de leite que têm uma correlação negativa com a reprodução, estresse de manejo e térmico, dieta e doenças reprodutivas infectocontagiosas, dentre as mais comuns e de grande impacto econômico estão a Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) associada ao Herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e a Diarreia Viral Bovina (BVD) causada pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) que se disseminam no rebanho de forma silenciosa e podem ocasionar perdas embrionárias e abortos (SANTOS, 2019; PASQUALOTTO; SEHNEM; WINCK, 2015).

A introdução do BoHV-1 em rebanhos causa importantes prejuízos na eficiência reprodutiva dos animais. Considera-se um dos principais patógenos de bovinos de corte e leite. Os prejuízos podem ser notados através do comprometimento dos índices reprodutivos, tais como: o intervalo entre partos, número de doses de sêmen utilizadas na inseminação artificial (IA), número de serviços por concepção, taxa de concepção, taxa de mortalidade embrionária precoce ou tardia, porcentagem de abortos, natimortos e mortalidade neonatal, peso ao nascer e frequência de endometrites (PASQUALOTTO; SEHNEM; WINCK, 2015).

O BVDV promove significativas perdas econômicas na bovinocultura e é responsável por uma ampla variedade de manifestações clínicas, que variam desde infecções subclínicas até uma doença aguda e por vezes, fatal. Apesar de produzir efeitos deletérios em diversos sistemas do organismo do hospedeiro, as perdas reprodutivas são notadamente, as mais importantes (FLORES; WEIBLEN, 2016).

Deste modo, as fazendas precisam implementar estratégias sanitárias e nutricionais no rebanho, com a finalidade de manter animais imunocompetentes. Aliado a isso vêm o uso de vacinas, que podem auxiliar na diminuição das perdas embrionárias e abortos. Como no mercado brasileiro se tem uma diversidade grande de marcas disponíveis sempre há a dúvida de qual escolher, de qual vacina induz níveis de anticorpos suficientes para a proteção do rebanho. Com objetivo de esclarecer estas dúvidas e para que os médicos veterinários possam

ampliar e direcionar seus trabalhos no que tange à incidência e controle de doenças infectocontagiosas reprodutivas que se desenvolveu o presente trabalho.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é apresentar a resposta de anticorpos neutralizantes frente a Herpes vírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) e Vírus da Diarreia viral bovina tipo 1 (BVDV-1) induzido por três vacinas comerciais.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

1- Avaliar através da técnica de soroneutralização a resposta sorológica induzida por três vacinas comerciais frente ao BVDV-1.

2- Avaliar através da técnica de soroneutralização a resposta sorológica induzida por três vacinas comerciais frente ao BoHV-1.

3- Fazer uma revisão literária sobre o BVDV e o BoHV-1, abordando características gerais, epidemiologia, sinais clínicos, diagnóstico, controle e profilaxia.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 1

Segundo Megid, Ribeiro e Paes (2016) a infecção pelo Herpesvírus Bovino tipo 1 (BoHV-1) causa Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), vulvovaginite pustulosa bovina (IPV), balanopostite pustulosa (IPB), além de mortes embrionárias, abortos, doença multissistêmica de neonatos e é também o principal agente envolvido no complexo respiratório de bovinos jovens chamado “febre dos transportes”. O BoHV-1 e o BoHV-5 estão classificados na ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae*, gênero *Varicellovirus*. Ambos são muito semelhantes nos aspectos morfológicos, antigênicos e moleculares, mas diferem no potencial neuropatogênico e não há meio de diferenciar os anticorpos produzidos. A infecção pelo BoHV-5 é responsável por surtos de meningoencefalite, embora já tenha sido isolado BoHV-1 em enfermidades neurológicas (FLORES; WEIBLEN, 2016; VOGEL et al., 2004).

Com base em análise de restrição genômica e na reatividade com anticorpos monoclonais, amostras de campo do BoHV-1 foram caracterizadas como: BoHV-1.1 isolados de doença respiratória; BoHV-1.2 isolados de infecção genital (IPV/IPB). O BoHV-5 antigamente era classificado como um subtipo: BoHV-1.3. Porém, a associação desses vírus com cada síndrome clínica parece não ser mutuamente exclusiva. Assim, bovinos inoculados pela via intranasal com um isolado de BoHV-1.2 desenvolveram doença respiratória leve e bezerras inoculadas pela via vaginal com um isolado de BoHV-1.1 desenvolveram vulvovaginite. Os isolados de BoHV-1 associados com abortos pertencem principalmente ao subtipo respiratório (BoHV1.1) e menos frequentemente ao subtipo BoHV-1.2 (FLORES; WEIBLEN, 2016; HENZEL et al., 2008).

A via mais comum de entrada da IBR nos rebanhos é pelo contato direto e indireto com secreções reprodutivas, respiratórias e oculares. Animais infectados possuem grandes quantidades de partículas virais, ficam em média 15 dias excretando o vírus em casos de infecções respiratórias. Durante a reativação o período de excreção é menor. Além disso, a transmissão transplacentária já foi relatada e está condicionada ao estado imunológico da fêmea no momento da infecção e pode causar perda embrionária ou fetal, mumificação e abortos, se infectada no final da gestação pode levar a infecção multissistêmica dos neonatos (FLORES; WEIBLEN, 2016; RIET-CORREA et al., 2001; VIU et al., 2014; RADOSTITS et al., 2007).

Outra forma de transmissão é a iatrogênica, que além da IA, ocorre pela infecção dos bovinos com o uso incorreto de vacinas atenuadas. O aborto é uma possível consequência de qualquer uma das formas de infecção pelo BoHV-1, inclusive as subclínicas e pode ocorrer com o uso de vacinas vivas modificadas, em torno de um a três meses após a aplicação. A taxa de aborto raramente supera 25%, tanto na infecção natural quanto após a vacinação. (FLORES; WEIBLEN, 2016; VIU et al., 2014).

A replicação do vírus ocorre no núcleo celular, principalmente de células epiteliais da mucosa respiratória, conjuntival e genital. As partículas virais se disseminam diretamente via célula-célula, evitando a ação de anticorpos do meio extracelular e também por via sanguínea e nervosa. Por reativação o vírus reestabelece o ciclo lítico de replicação induzindo necrose e apoptose celular (FLORES; WEIBLEN, 2016). A infecção latente é um fator importante na patogenicidade do vírus. O genoma viral permanece inativo em células de vida longa, com baixa taxa de replicação, altamente diferenciadas como neurônios e células linfoides. Sem qualquer sinal clínico, a infecção latente não leva a lise celular como a infecção aguda. Dessa maneira BoHV-1 estabelece infecção latente em neurônios de gânglios sensoriais e autônomos. Após a infecção as partículas virais que entraram via mucosas são transportadas de forma retrógrada até o gânglio trigêmeo e pela via genital vão até o gânglio sacral. Quando ocorre a reativação ocorre o transporte anterógrado, resultando na replicação e excreção viral (FLORES; WEIBLEN, 2016). A reativação viral ocorre sempre quando há uma queda na imunidade, por exemplo: quando os animais são expostos a situações de estresse, após tratamento com corticosteroides ou qualquer outro fármaco imunossupressor e próximo ao parto. Não necessariamente acompanha manifestações clínicas. A resposta de anticorpos produzidos após a infecção é duradoura e qualquer animal soropositivo pode ser um potencial disseminador do vírus (RIET-CORREA et al., 2001; VIU et al., 2014; HENZEL et al., 2008).

A infecção por BoHV-1 por si só já leva a um quadro de imunossupressão, favorecendo infecções bacterianas e virais secundárias. Existe o comprometimento da função dos macrófagos, das células polimorfonucleares e de linfócitos, diminuição da expressão de receptores de interleucinas 2, diminuição da estimulação mitogênica das células mononucleares e redução do número de células T circulantes. Há comprometimento também da fagocitose, da citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos e estimulação das células T devido a infecção de monócitos e macrófagos. O vírus infecta também células T CD4 levando a apoptose. O BoHV-1 faz com que haja uma menor expressão de MHC de classe I na superfície

de células infectadas, interfere na função dos linfócitos TCD8 e citotóxicos, que são envolvidos na lise de células infectadas por vírus (FLORES; WEIBLEN, 2016).

### **2.1.1 Epidemiologia**

A infecção por BoHV-1 está distribuída mundialmente de forma endêmica, com exceção de alguns países europeus que a erradicaram (Suíça, Dinamarca e Suécia) e os que estão em processo de erradicação. A grande similaridade antigênica entre o BoHV-1 e o BoHV-5 dificulta o conhecimento da epidemiologia e distribuição geográfica desses vírus, pois testes sorológicos de rotina são incapazes de diferenciá-los (FLORES; WEIBLEN, 2016). Segundo Viu et al. (2014), em uma revisão bibliográfica que compilou dados de diferentes autores, no Brasil o BoHV-1 está disseminado por todas as regiões, resultando em elevados índices de infecção nos rebanhos.

Trabalhos mostram que no Sul do país o cenário é o mesmo. Serighelli et al. (2017) em um estudo realizado no oeste catarinense coletaram amostras de leite em 32 municípios, totalizando 312 propriedades que não utilizavam vacina. Estas amostras foram submetidas ao teste de ELISA para detecção de anticorpos contra BVDV e BoHV. Observaram que 45% das amostras foram positivas para BoHV (142/312). Resultados bastante semelhantes foram obtidos por Souza et al. (2017), que submeteram a testes sorológicos 1.156 vacas, oriundas de 75 rebanhos leiteiros localizados em diferentes mesorregiões do estado do Rio Grande do Sul, com histórico reprodutivo relacionado a repetição de cio e abortamento, as prevalências encontradas para IBR variaram de 54,4% a 60,3%. Na região do presente trabalho, mais especificamente no município vizinho, Oliveira (2019) em sua pesquisa coletou 216 amostras de soro sanguíneo de vacas, provenientes de 21 propriedades leiteiras de Curitiba-SC, onde não era usada vacinação. Os resultados evidenciaram que 30% dos animais possuíam títulos de anticorpos contra BoHV-1.

### **2.1.2 Sinais Clínicos**

A infecção por BoHV-1 resulta em manifestações clínicas variáveis, embora infecções subclínicas também possam ocorrer, dependendo muito do subtipo do vírus, da via e dose de inoculação, da idade e do status imunológico do animal (FLORES; WEIBLEN, 2016). A IBR desenvolve rinite, laringite e traqueíte. Destrói as microvilosidades traqueais, impedindo o

sistema de defesa mucociliar, favorecendo a entrada de bactérias ao pulmão. Na forma aguda, caracteriza-se com hipertermia, depressão, anorexia, taquipneia, dispneia e corrimento nasal seroso e mucoso passando a mucopurulento. A mucosa nasal pode apresentar-se hiperêmica, com lesões necróticas e erosivas, recobertas por fibrina, que podem estender-se à mucosa oral, levando alguns animais a apresentarem sialorreia. O curso da IBR é rápido, cinco a dez dias até a recuperação dos animais, desde que não ocorram infecções secundárias por bactérias, que causam pneumonias graves, as quais tendem a elevar bastante a taxa de letalidade que usualmente é baixa (RIET-CORREA et al., 2001; VIU et al., 2014).

Segundo Radostits et al. (2007) a disseminação a partir das cavidades nasais para os tecidos oculares provavelmente ocorre por meio dos ductos nasolacrimais. Causando conjuntivite com edema, tumefação e formação de placas multifocais na conjuntiva, além de edema corneal periférico e vascularização profunda. A conjuntivite quase sempre acompanha a forma respiratória ou pode aparecer como único sinal clínico. Manifesta-se ainda por fotofobia e lacrimejamento seroso e profuso, podendo passar a mucopurulento. Usualmente é bilateral e a epífora é característica dessa infecção (FLORES; WEIBLEN, 2016; RIET-CORREA et al., 2001; VIU et al., 2014).

Os abortos estão relacionados principalmente à disseminação sistêmica de cepas respiratórias e ocorrem quando fêmeas suscetíveis estão prenhes no momento da infecção. São mais comuns no terço final da gestação, embora possam ocorrer em qualquer fase. O período entre a infecção e a expulsão do feto é variável, podendo ser de oito dias até três meses, costuma apresentar sinais de autólise e presença de líquido serosanguinolento nas cavidades (FLORES; WEIBLEN, 2016).

A forma genital da doença ocorre em machos e fêmeas que se infectam por esta via, com replicação viral e inflamação. Em casos de infecção aguda se observa hipertermia, desenvolvimento de vesículas e erosões na mucosa, com corrimento seroso, mucoso até mucopurulento (FLORES; WEIBLEN, 2016). Nas fêmeas se desenvolve entre dois a quatro dias após cobertura natural ou IA com sêmen infectado, se restringindo a vulva e vestíbulo, sem complicações e resolução em poucos dias. (FLORES; WEIBLEN, 2016; RIET-CORREA et al., 2001). Em um estudo feito por Henzel et al. (2008) foram observados congestão e edema da mucosa vulvovestibular e formação de pequenas vesículas e pústulas que aumentaram de tamanho e eventualmente se tornaram coalescentes e recobertas por fibrina. Durante o pico dos sinais clínicos, os animais hesitavam em se locomover, apresentavam a cauda erguida e deslocada lateralmente acompanhada de polaquiúria.

Os mesmos sinais foram observados em prepúcio e pênis, com presença de pontos hemorrágicos e pequenas pústulas, além de hesitarem a monta. Os touros podem produzir sêmen de baixa qualidade devido à epididimite (FLORES; WEIBLEN, 2016; VIU et al., 2014).

A forma sistêmica neonatal manifesta-se em bezerros recém-nascidos, infectados no final da gestação, durante ou após o parto. A via mais provável para infecção fetal é a hematogênica, pela veia umbilical. É invariavelmente fatal. Os animais desenvolvem lesões necróticas no sistema digestivo e nos linfonodos, podendo haver comprometimento do trato respiratório (RIET-CORREA et al., 2001).

Hage et al. (1998) em sua pesquisa induziu um surto de BoHV-1, através da injeção com dexametasona em três vacas soropositivas em um rebanho leiteiro confinado em *free stall*. Durante o surto, não foram observados sinais clínicos em nenhum dos animais recém-infectados. No momento da infecção, houve uma queda significativa na produção de leite, foi observada em animais que eram inicialmente soronegativos. A perda de produção foi estimada em aproximadamente 9,5 litros por animal infectado durante o período infeccioso de 14 dias. Statham, Randall e Archer (2015) verificaram que, vacas soropositivas para BoHV-1, sem qualquer sinal clínico de infecção, produziram 2,6 kg / dia a menos de leite durante o período do estudo em comparação com as vacas que eram soronegativas.

### **2.1.3 Diagnóstico**

Sempre que possível a suspeita clínica/epidemiológica deve ser acompanhada de diagnóstico viral ou sorológico. Doença respiratória em bezerros que foram submetidos a situações de estresse, deve ser considerada suspeita de infecção por BoHV-1. Quadros de vulvovaginite vesicular e balanopostite também são sugestivos. Casos de retornos ao cio irregulares, em altos índices, assim como abortos devem ser investigados também (FLORES; WEIBLEN, 2016).

O método de isolamento viral em cultivo celular é uma boa técnica de diagnóstico e é considerada padrão, pode ser realizado a partir de suabes de secreções nasais, oculares e genitais, além de sêmen e tecidos de fetos abortados e anexos fetais (OIE, 2012). O vírus isolado deve ser identificado pela técnica de imunofluorescência, técnica da imunoperoxidase e a reação de polimerase em cadeia (PCR) que pode identificar portadores. O diagnóstico histopatológico principalmente nos abortos e na forma nervosa é importante para a constatação

das lesões características e a observação de corpúsculos de inclusão. No material para histologia o vírus pode ser identificado por imuno-histoquímica (RIET-CORREA et al., 2001).

O diagnóstico sorológico permite identificar portadores e é usado como rotina para a detecção de anticorpos contra o vírus. As técnicas mais utilizadas são a soroneutralização (SN) e o ensaio imunoenzimático (ELISA). Amostras pareadas de soro coletadas durante a doença aguda, 14 e 21 dias após, podem ser submetidas a sorologia, onde um aumento de quatro vezes é indicativo da infecção (FLORES; WEIBLEN, 2016). Tem-se a necessidade de fazer o diagnóstico diferencial para outras doenças reprodutivas e respiratórias, como as apresentadas no quadro a seguir.

Quadro 1 - Doenças reprodutivas de bovinos e a fase gestacional acometida.

<b>Doença</b>	<b>Período do aborto</b>
IBR	> 6 meses
Diarreia Viral Bovina	< 3 meses
Brucelose	> 6 meses
Neosporose	3-8 meses (média de 5,5 meses)
Tricomoniase	2-4 meses
Leptospirose	> 6 meses
Micoses	3-7 meses

Fonte: Adaptado de RADOSTITS et al. (2007)

#### **2.1.4 Controle e Profilaxia**

As medidas de controle do BoHV-1 devem ser estabelecidas de acordo com a gravidade das perdas econômicas ou quando a prevalência da infecção é alta. No entanto, há a necessidade de diagnosticar a etiologia causadora de problemas antes de implementar qualquer programa vacinal. (FLORES; WEIBLEN, 2016).

Durante um surto por BoHV-1, os bovinos doentes devem ser isolados e tratados com antibióticos de largo espectro para reduzir as infecções secundárias, pois a mucosa necrosada é um substrato para o crescimento bacteriano. A vacinação pode ser uma alternativa para o controle da doença, embora não impeça a infecção pelo BoHV-1, ela reduz significativamente

a incidência da doença ou minimiza os sinais clínicos e reduz também o curso da enfermidade num possível surto (RIET-CORREA et al., 2001; FLORES; WEIBLEN, 2016).

Até o presente momento, não existe no Brasil, um programa elaborado pelos órgãos da Defesa Sanitária Animal para o controle do BoHV-1, ficando a critério dos médicos veterinários e produtores as medidas a serem tomadas (PASQUALOTTO; SEHNEM; WINCK, 2015).

Rebanhos com baixo risco de infecção, com sorologias negativas, sem histórico clínico e que não haja alta rotatividade de animais de várias procedências, devem se encorajar a usar medidas de biossegurança para evitar a introdução do vírus no rebanho, com uso de testes sorológicos periódicos, descarte de alguns positivos e testar reprodutores antes de introduzi-los no rebanho (FLORES; WEIBLEN, 2016). Países que a erradicaram proibiram as fazendas de procriação de comprar animais positivos, de usar vacinas com vírus inteiro e de inseminar vacas com sêmen de touros positivos (NARDELLI et al., 2008).

Normalmente, as vacinas são formuladas em associação com outros antígenos (BVDV tipo I e II, PI-3, BRSV e *Leptospira spp*). Em sua grande maioria, são comercializadas na forma inativada e, algumas atenuadas termossensíveis também são comercializadas no Brasil (MAPA, 2019). Segundo Flores e Weiblen (2016), vacinas com marcadores antigênicos foram produzidas a partir de um isolado de BoHV-1 brasileiro, avaliado tanto em bovinos como em coelhos. O gene que codifica a glicoproteína gE foi deletado, originando um vírus mutante que não a expressa. As vacinas produzidas por engenharia genética, a partir de subunidades antigênicas ou deleção de genes, apresentam a vantagem de que os anticorpos produzidos podem ser diferenciados daqueles da infecção natural, o que não ocorre com as vacinas tradicionais. Um teste de ELISA específico a proteína deletada, permitiria distinguir animais vacinados de infectados. No Brasil, em 2019 iniciou-se o processo de comercialização de uma vacina viva, exclusiva para BoHV, que é duplamente deletada nos genes que codificam a proteína de superfície gE e a enzima timidina kinase (tk) (HIPRA, 2019).

As vacinas com vírus vivo modificado induzem uma rápida e duradoura resposta imunológica, permitem um menor número de aplicações com doses inferiores, diminuindo as chances de hipersensibilidade. Entretanto, é possível o estabelecimento da infecção latente pelo vírus vacinal, pois a cepa é capaz de replicar-se no hospedeiro. Podem ocorrer então abortos, devendo-se ter prudência no seu uso (TIZARD, 2008; FLORES; WEIBLEN, 2016).

As vacinas inativas, são produzidas por alterações químicas ou físicas da infectividade viral, sendo mantida a imunogenicidade. São seguras quanto ao uso, mas são necessárias várias

doses e adição de adjuvantes, para manter-se um nível adequado de imunidade. As vacinas inativadas com adjuvante oleoso têm sido mais eficientes quanto aos níveis de anticorpos neutralizantes produzidos (TIZARD,2008; FLORES; WEIBLEN, 2016).

Alguns países da Europa que possuem programas oficiais de controle e erradicação usam vacinas marcadas, as quais podem ser atenuadas ou inativadas e tem uma ou mais glicoproteínas do envelope viral deletadas. O teste diagnóstico específico para a glicoproteína deletada (ELISA), possibilita a distinção entre animais infectados dos vacinados, auxiliando no monitoramento (VIU et al., 2014; FLORES; WEIBLEN, 2016).

## 2.2 VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA

O vírus da diarreia viral bovina (*Bovine viral diarrhea virus*, BVDV) infecta naturalmente bovinos, caprinos, ovinos, suínos, camelídeos e cervídeos. *In vitro*, há replicação viral em células de cultivo de diversas espécies, inclusive a humana (FLORES 2007). Pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus*, que abriga dois outros vírus antígenicamente semelhantes: o vírus da Peste Suína Clássica que afeta somente suínos e javalis e o vírus da Doença da Fronteira dos ovinos. Devido a esta semelhança pode ocorrer infecção cruzada entre espécies, o que compromete a acurácia dos métodos de diagnóstico sorológico. O vírus é envelopado e em virtude disto, é sensível a detergentes e solventes orgânicos (RADOSTITS et al. 2007; PITUCO, 2016).

A infecção por este vírus é geralmente assintomática, mas pode causar febre, inapetência, diarreia, ulcerações no sistema gastrointestinal e síndrome hemorrágica. As maiores perdas associadas à infecção são em fêmeas prenhes, podendo ocorrer reabsorção embrionária, abortos, mumificações, natimortalidade, malformações fetais, nascimento de bezerros fracos ou persistentemente infectados (PI). A taxa de morbidade é alta e a de mortalidade, geralmente é baixa (PITUCO, 2016).

Existem dois tipos biológicos do BVDV, um tipo citopático (CP) e um tipo não citopático (NCP), identificados pela sua capacidade de destruir cultivos celulares *in vitro* (PITUCO, 2016). É primordial ressaltar que somente o biótipo NCP estabelece infecção persistente nos fetos, o que é essencial para a disseminação do vírus no rebanho além de ser o mais comum em infecções naturais. Vírus do biótipo CP são utilizados nas vacinas, porém, constituem uma minoria. São isolados quase que exclusivamente de animais com a Doença das

Mucosas (DM) ou de surtos de doença pós-vacinal. O biótipo CP e é gerado a partir de mutações do biótipo NCP nos animais PI (PITUCO, 2016; RADOSTITS et al. 2007).

A identificação de variações antigênicas levou a outra classificação em dois tipos diferentes: o tipo 1 associado às formas clássicas da diarreia viral bovina (BVD) e doença das mucosas (DM) e representa a maioria dos isolados descritos e das cepas vacinais; e o tipo 2, que possui maior patogenicidade e causa uma doença trombocitopênica, além de estar associado à diarreia aguda, lesões erosivas do trato digestivo e lesões respiratórias em bovinos imunologicamente normais. Há relatos ainda de outra espécie, o BVDV-3, denominado de *Hobi-like*, identificado na Europa de bovinos oriundos do Brasil. É transmitido através de contato direto ou indireto, por fômites, pela placenta ao feto e pelo sêmen. O agente está presente em todas as secreções e excreções dos animais infectados. (PITUCO, 2016; RIET-CORREA et al.,2001).

A principal fonte de infecção são os bovinos PI, pois eliminam o vírus NCP por toda vida em altas concentrações de partículas virais. Casos de infecção aguda ocasionalmente infectam animais suscetíveis, pois a excreção viral é por poucos dias e com baixos títulos virais. A transmissão pode ocorrer de forma horizontal, pelo contato direto, com secreções oronasais, cópula, técnicas da reprodução (pelo embrião, oócitos, sêmen) e aerossóis. Também ocorre de forma indireta/iatrogênica, com o uso de agulhas, imobilizador nasal, na colocação de brincos ou durante a castração, infusões e palpções retais. Pode ocorrer também de forma vertical, ou seja, transplacentária. O potencial de transmissão indireta depende da estabilidade do vírus fora do hospedeiro, ele é estável abaixo de 10°C e em pH ente 3 e 9. As partículas virais permanecem viáveis por três horas a 35°C, três a sete dias a 20°C e três semanas a 5°C (PITUCO, 2016).

A porta de entrada do BVDV são as mucosas nasal, oral, ocular e genital, sendo a mais comum a oronasal. O epitélio do trato respiratório superior, orofaringe e o tecido linfoide regional são os sítios primários de replicação viral após infecção, entrando para a corrente sanguínea. O período de incubação varia de cinco a sete dias. A viremia permanece até por volta de 14 dias e a soroconversão ocorre por volta de 14 a 21 dias após o início da infecção, sendo que os anticorpos podem persistir por anos (PITUCO, 2016).

O vírus também possui tropismo pelas células das linhagens germinativas, sendo encontrado no sêmen, em folículos ovarianos e em tecidos com constante divisão como as placas de peyer e o feto, que são os principais locais de multiplicação do BVDV (FLORES et al. 2005). O vírus tem a capacidade de deprimir o sistema imune, provocando infecção das

células de defesa - linfócitos T e B -afetando a função macrofágica, predispondo o organismo do hospedeiro às infecções secundárias, como BoHV-1, rotavírus, coronavírus, por protozoários como o *Neospora caninum* e bactérias como *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp., *Trueperella pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, que são frequentemente associados a quadros clínicos de BVD (PITUCO, 2016).

A infecção fetal com amostras NCP entre os dias 40 e 120 de gestação resulta na produção de bezerros PI. Provavelmente devido à deleção de clones de linfócitos B e T reativos contra antígenos do vírus. Com isso, os animais PI são incapazes de responder imunologicamente contra o BVDV, replicando e excretando o vírus durante toda a vida, constituindo-se no principal reservatório (ARENHART et al., 2008). Durante este período o sistema imunológico fetal está em formação e só estará concluído por volta do 125º dia gestacional. Conseqüentemente, ocorre uma incorporação errônea das proteínas virais como sendo próprias do organismo e o sistema imune do hospedeiro não forma anticorpos contra BVDV (FLORES et al. 2005; RADOSTITS et al. 2007).

Alguns nascem fracos e morrem nos primeiros dias de vida, outros bezerros podem se desenvolver normalmente e permanecem portadores do vírus, sem apresentarem anticorpos circulantes (RIET-CORREA et al., 2001). Infecções após 150º dia de gestação resultam em animais capazes de desenvolver uma resposta efetiva contra o vírus e eliminá-lo do organismo. Logo, esses bezerros nascem com anticorpos contra BVDV, mas livres do vírus. Os efeitos da infecção em estágios gestacionais tardios ainda não foram bem documentados, entretanto, abortamentos e nascimentos de animais fracos ou inviáveis já foram relatados (RADOSTITS et al. 2007).

A DM é a forma mais grave da infecção pelo BVDV, ela acomete animais PI imunotolerantes ao biótipo NCP, ela aparece também naqueles que sofrem uma sobre infecção por cepas CP. A origem destas cepas é questionada, mas parece que elas são originadas por mutações nas cepas NCP, ou seja, elas teriam uma origem endógena. Fontes virais externas como a aplicação de vacinas vivas modificadas ou infecção de campo com o vírus CP, também podem resultar na manifestação da doença (FLORES et al. 2005; RADOSTITS et al. 2007).

### 2.2.1 Epidemiologia

Os dois tipos (BVDV-1 e BVDV-2) são encontrados no Brasil, com cepas distintas das americanas e das europeias. O vírus da BVD tem distribuição mundial e a soroprevalência em bovinos adultos está entre 60 e 90%. O primeiro isolamento do vírus no país, foi descrito no Rio Grande do Sul no soro de um bezerro na década de 70. Diversos inquéritos soroepidemiológicos em vários estados brasileiros apontam a infecção difundida, com regiões acima de 50% de sororreagentes (PITUCO, 2016).

Em estudo, Pasqualotto, Sehnem e Winck (2015) avaliaram a incidência de IBR e BVD no oeste catarinense e verificaram que 28,5% das 842 amostras de soro de vacas de leite foram positivas para BVD. Também no oeste catarinense, Serighelli et al. (2017) realizaram um trabalho onde colheram 312 amostras de leite, uma amostra por propriedade que não vacinavam os animais. Em seguida foram submetidas ao teste de ELISA para detecção de anticorpos contra BVDV e BoHV, observando que 125/312 (40%) das amostras foram positivas para BVDV.

Souza et al. (2017) fizeram uma pesquisa da prevalência para BVD, das 1.156 vacas testadas no estado do Rio Grande do Sul 30% a 42,5% delas foram soropositivas. Oliveira (2019), coletou amostras em 21 propriedades, num total de 216 vacas em lactação no município de Curitiba-SC, que nunca haviam recebido vacinação. Os resultados evidenciaram que 48% dos animais possuíam anticorpos contra BVDV.

### 2.2.2 Sinais Clínicos

A infecção de um animal pelo vírus da BVDV é geralmente assintomática e autolimitante, cursando com alta morbidade e letalidade muito baixa a nula. Algumas cepas de maior patogenicidade podem provocar hipertermia, depressão, inapetência, sialorréia, linfadenopatia, sinais de doença respiratória como descarga óculo-nasal e tosse, além de diarreia aquosa, diminuição da produção de leite e lesões ulcerativas na mucosa oral (RIET-CORREA et al., 2001; RADOSTITS et al. 2007).

A síndrome hemorrágica causada pela BVDV por cepas NCP ocorre em decorrência da trombocitopenia e resulta em diarreias sanguinolentas, epistaxe e petéquias na boca,

esclerótica e vagina. Também há ulcerações oronasais, na região interdigital e na coroa do casco. (PITUCO, 2016).

Segundo Pituco (2016) fêmeas expostas ao vírus durante o estro podem apresentar baixas taxas de fertilização, pois há falhas ou atrasos na ovulação provocados pela atividade do patógeno no tecido ovariano (ooforites). Machos têm uma queda na qualidade do sêmen, com densidade e motilidade reduzidas assim como aumento de anomalias morfológicas.

A morte fetal ocorre geralmente, no primeiro terço da gestação, podendo haver absorção, mumificação ou abortamento. Infecções após o quarto mês podem ocasionar nascimentos de bezerras fracas, mas raramente levam ao aborto (geralmente ocorre até o 5º mês). O vírus pode provocar o aparecimento de malformações congênitas, isto se dá quando a infecção ocorre entre 100-150 dias de gestação. As malformações podem ser encontradas no sistema nervoso central (hipoplasia cerebelar, microcefalia, hidranencefalia, mielinização deficiente na medula espinhal) e nos olhos (atrofia ou displasia da retina, catarata, microftalmia), podendo observar-se ainda, aplasia tímica, bragnatismo, retardo de crescimento e artrogripose (PITUCO, 2016; RIET-CORREA et al., 2001). No último trimestre da gestação, infecções transplacentárias não resultam em doença fetal, os fetos produzem anticorpos duradouros e em geral nascem normais (PITUCO, 2016).

O intervalo entre a infecção do concepto e a ocorrência do abortamento pode variar de dez dias até alguns meses, por isso é comum encontrar abortamentos de fetos edemaciados ou autolisados (RIET-CORREA et al., 2001).

A DM é clinicamente muito semelhante à BVD aguda grave, ocorre com baixa morbidade, em torno de 1-2% do rebanho, somente em animais PI e de altíssima letalidade (100%). Nesses animais é encontrado os dois biótipos, em bovinos com seis meses a dois anos, mas pode atingir todas as idades. Os sinais são diarreia aquosa escura, lesões erosivas e depleção dos tecidos linfoides, levando a óbito em poucos dias. (PITUCO, 2016). A forma crônica, que é rara, possui sinais clínicos inespecíficos. Observa-se inapetência, perda de peso e apatia progressiva, timpanismo crônico, diarreia contínua ou intermitente, descarga nasal e ocular persistente, áreas alopecias e de hiperqueratinização, lesões erosivas crônicas na mucosa oral e na pele, laminite, necrose interdigital e deformação do casco. Esses animais podem sobreviver por meses e morrem por debilitação. (RIET-CORREA et al., 2001; FLORES et al. 2005; RADOSTITS et al. 2007).

### 2.2.3 Diagnóstico

A infecção pelo vírus da BVD deve ser suspeitada em todos os casos de perdas embrionárias, abortos, malformações, nascimento de animais fracos, morte perinatal e aparecimento de casos esporádicos de diarreia e doença respiratória (RIET-CORREA et al., 2001).

O isolamento viral é o teste diagnóstico de excelência (OIE, 2012). As amostras de eleição devem ser: sangue total coletado em tubo estéril, (de forma asséptica, pois a contaminação bacteriana pode inviabilizar o isolamento) sêmen ou órgãos, principalmente fígado, baço, intestino delgado, linfonodos, fetos e envoltórios nos casos de aborto, que devem ser enviados ao laboratório em recipiente isotérmico com gelo. Devido à possibilidade da presença de cepas NCP, todos os materiais que forem negativos para efeito citopático nos cultivos celulares, precisam ser testados por métodos que demonstrem a presença de antígeno viral antes de serem diagnosticados como negativos, neste caso, podem ser usados imunofluorescência direta, imunoperoxidase, ELISA direto ou por PCR.

Secreções nasais, oculares e genitais podem ser coletadas com suabes e em casos de problemas entéricos podem ser coletadas as fezes (PITUCO, 2016; RIET-CORREA et al., 2001; FINO et. al 2012).

Métodos como a PCR são capazes de detectar ínfimas quantidades de ácidos nucleicos virais em amostras de sangue e tecidos, inclusive os preservados. Essa técnica tem grande utilidade na identificação de rebanhos leiteiros positivos, através da análise de amostras coletadas em tanques de leite, é sensível o bastante para detectar RNA viral em células somáticas (OIE, 2012). Órgãos linfoides, digestivos e aqueles que apresentem lesões, devem ser armazenados em formalina à 10%, para estudo histopatológico (RIET-CORREA et al., 2001; RADOSTITS et al. 2007; FINO et. al 2012).

O diagnóstico sorológico geralmente é realizado pela técnica de SN, mas pode ser feito também por ELISA indireto. Animais infectados de forma aguda, soro convertem em 14-20 dias após a infecção inicial. Nestes animais a sorologia pareada, ou seja, a coleta de soro no momento da suspeita clínica e uma segunda coleta 15-20 dias após, pode indicar a infecção pelo vírus. A elevação dos títulos de anticorpos em pelo menos quatro vezes indica que o animal estava sendo infectado pelo vírus durante a primeira coleta. O sorodiagnóstico com amostras únicas somente indica que houve exposição prévia ao vírus. (PITUCO, 2016; RIET-CORREA et al., 2001).

Animais imunotolerantes não apresentam anticorpos, já que não são capazes de responder imunologicamente ao vírus. Considera-se o animal persistentemente infectado quando se obtém o isolamento viral a partir de duas coletas de sangue separadas, no mínimo por três semanas. No entanto, este método é caro e trabalhoso. Um método alternativo, para reduzir o custo, é o de vacinar com duas doses de vacina inativada todo o rebanho maior que seis meses, 15 dias após a segunda dose, coleta-se sangue e realiza-se sorologia de todos os animais. Aqueles que se apresentaram negativos ou com títulos muito baixos são coletados para identificação de viremia (RIET-CORREA et al., 2001). Outra opção é a partir de biopsia de pele da orelha, o antígeno viral pode ser detectado por imunofluorescência direta ou imunohistoquímica (PITUCO, 2016).

Tem-se sempre que pensar nos diagnósticos diferenciais. Segundo Radostits et al. (2007) animais com erosões na cavidade oral devem ser testados tanto para febre aftosa quanto para estomatite vesicular pela similaridade das lesões. Pituco (2016) cita ainda a varíola bovina, IBR, IPV devido às lesões orais, no espaço interdigital, coroa do casco e ausência de diarreia. O vírus da língua azul, a brucelose, leptospirose, campilobacteriose, micoplasmose, ureaplasmosse e neosporose devido aos problemas reprodutivos, como abortos e malformações.

Quando as lesões ulcerativas são acompanhadas de linfadenopatia, diarreia, hematúria, opacidade de córnea e encefalite o diagnóstico diferencial seria de febre catarral maligna. Em episódios de diarreia profusa deve-se realizar o diagnóstico diferencial para salmonelose, colibacilose, rotavirose, coronavirose, coccidioses e helmintoses. A sintomatologia respiratória da BVD assemelha-se àquelas apresentadas pela IBR, BRSV, bPIV-3 e pneumonia por *Pasteurella* spp. A trombocitopenia deve ser diferenciada de outras doenças hemorrágicas como clostridioses e intoxicação aguda por *Pteridium aquilinum* (PITUCO, 2016).

#### **2.2.4 Controle e Profilaxia**

O controle da BVD pode ser efetuado com a eliminação dos animais PI e a utilização de vacinação, protegendo-os da doença clínica e principalmente impedindo a transmissão transplacentária (PITUCO, 2016). A infecção pelo BVDV está amplamente difundida no Brasil, e amostras com diferenças genéticas e antigênicas das cepas americanas já foram identificadas no país, isto implica nas práticas para o diagnóstico, produção de vacinas e estratégias de controle da enfermidade (FLORES et al. 2005).

As vacinas inativadas são formuladas com uma ou mais cepas do vírus, geralmente induzem níveis moderados de anticorpos e necessitam de várias aplicações, além de reforços anuais. Nenhuma vacina testada até o presente momento foi capaz de conferir total proteção aos fetos, o que representa um obstáculo para o efetivo controle da infecção pelo uso da vacinação. As falhas de proteção fetal demonstradas pelos estudos experimentais podem explicar a contínua produção de animais PI, mesmo em rebanhos adequadamente vacinados. Essas falhas servem como um desafio para a indústria produzir vacinas mais eficazes (LIMA, 2005).

Downey-slinker et al. (2016) durante um estudo de quatro anos, observaram que o grupo tratado com vacina viva modificada induziu maiores títulos de anticorpos quando comparado ao grupo de tratamento com vacina inativada. Além de provocarem respostas imunes mais robustas e duradouras. Ambos as vacinas reduziram a trombocitopenia quando comparado ao grupo controle (sem vacina) e a vacina viva reduziu a linfopenia, no entanto, esses sinais não foram completamente eliminados nos animais vacinados.

O trabalho desenvolvido por Arenhart et. al (2008) produziu uma vacina experimental atenuada contra o BVDV. A ideia surgiu da constatação da grande variabilidade antigênica dos isolados de BVDV circulantes no país e de que as vacinas existentes no comércio nacional induziam baixos títulos de anticorpos neutralizantes, provavelmente incompatíveis com proteção clínica e/ou fetal. Apesar da diversidade do vírus e da alta dose viral utilizada no desafio - pouco provável de ocorrer em condições naturais - a vacina experimental conferiu proteção fetal em pelo menos 90% das fêmeas vacinadas.

No Brasil, a maioria das vacinas para BVD disponíveis são inativadas, com adjuvante oleoso ou hidróxido de alumínio e são ainda polivalentes, com antígenos de *Leptospira* spp., BoHV, BRSV e bPIV-3 (MAPA, 2019). Exceção a isto é o lançamento de uma vacina viva, monovalente, com a tecnologia L2D (Live Double Deleted – Viva Duplamente Deletada). Ela começou a ser comercializada em março de 2019, pode ser aplicada a partir do terceiro mês de idade e não requer reforço. Segundo o fabricante confere proteção durante 12 meses e pode ser utilizada em animais independente do status reprodutivo, exceto touros reprodutores (BOEHRINGER INGELHEIM SAÚDE ANIMAL, 2019).

Bezerros recém-nascidos são agamaglobulêmicos e imunologicamente imaturos. A transferência imune passiva é fundamental para protegê-los contra patógenos. A diminuição dos anticorpos maternos está relacionada com a maturação do sistema imune, que ocorre

próximo aos seis meses de idade, aumentando a suscetibilidade dos bezerros a infecções causadas pelo BVDV nesse período (BACCILI et al., 2016; CHAMORRO et al., 2014).

Baccili et al. (2016) analisaram soros de 585 bezerras recém-nascidas. Na primeira coleta 100% eram soropositivas para BVDV por SN. Em seguida, foram realizados mensalmente novas SN mais ELISA para a proteína p80, até os 13<sup>o</sup> mês de vida. O vírus foi investigado pela detecção de anticorpos específicos contra a proteína não estrutural p80. Observaram que há uma alta transferência de anticorpos maternos produzidos por vacinação e / ou exposição natural ao BVDV para os bezerros. Os títulos de anticorpos neutralizantes séricos diminuíram gradualmente do primeiro ao 4-6<sup>o</sup> mês de vida devido à metabolização das imunoglobulinas maternas adquiridas pela ingestão de colostro e a frequência de animais soropositivos para a proteína p80 aumentou a partir do quinto mês. A fase de maior frequência de animais p80 positivo coincide com maiores taxas de babesiose e anaplasiose. Isto pode justificar a importância do BVDV na imunodepressão, como fator de risco para doenças concomitantes. Enquanto a imunidade passiva fornece proteção contra doenças, ela bloqueia a produção de anticorpos séricos quando imunógenos são administrados.

Animais infectados persistentemente podem não reagir a vacinação caso o vírus vacinal seja homólogo ao vírus persistente. Não há dados disponíveis sobre a eficácia de vacinas produzidas com cepas tipo I em relação as formas clínicas causadas pelas cepas tipo II, no entanto, as diferenças antigênicas encontradas sugerem que a proteção por cepas homólogas deva ser mais eficiente (PITUCO, 2016; RIET-CORREA et al., 2001).

### 3 MATERIAIS E METÓDOS

#### 3.1 DESCRIÇÃO DA FAZENDA EXPERIMENTAL

O estudo foi realizado entre janeiro e novembro de 2019, em um rebanho leiteiro em expansão, localizado no interior do município de Lebon Régis, Santa Catarina. A fazenda possui um total de 364 animais da raça holandesa, sendo composto em média de: 120 vacas em lactação, 20 vacas em período seco, aproximadamente 120 animais jovens e 100 novilhas em idade reprodutiva (acima de 15 meses). Este número de animais se deve a constante aquisição de novilhas. A fazenda faz o uso de inseminação artificial para todos os animais, com genética apenas da raça holandesa. O programa vacinal utilizado para controle de problemas reprodutivos se inicia nas fêmeas por volta dos 15 meses de idade, quando entram para a reprodução, com primovacinação e reforço após 30 dias, seguida de revacinação semestral.

Este protocolo de vacinação é seguido a regra devido ao histórico de problemas reprodutivos da propriedade, como abortos e retornos ao cio de vacas confirmadas gestantes. Há evidências da circulação viral no rebanho, com sorologias positivas prévias e isolamento de BVDV em neonato. Há também problemas respiratórios nos bezerros, principalmente logo em seguida do desmame, época de grande estresse aos animais. Hipertermia transitória, hiperemia da conjuntiva e da mucosa nasal, secreção ocular serosa e nasal purulenta bilateral, são sinais clínicos muito frequentes (Figura 1).

Figura 1 - Bezerra da fazenda do estudo com sinais de doença respiratória.



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

### 3.2 ANIMAIS E IMUNIZAÇÃO

O estudo foi composto por um total de 58 novilhas, com quinze meses de idade e que nunca haviam recebido vacina reprodutiva. Foram divididas aleatoriamente em três grupos: grupo A, que recebeu a vacina A (n=21), grupo B (n= 20) e grupo C que recebeu a vacina C (n=17) conforme a tabela 1.

Ao iniciar o experimento, foi coletado sangue da veia coccígea, em tubos a vácuo para a obtenção de soro. Os tubos foram identificados com o número do brinco das novilhas e o material amostrado foi congelado em microtubos e encaminhado ao Laboratório de Virologia da Universidade Federal de Santa Catarina Campus Curitibanos (UFSC) em recipiente isotérmico, com gelo. Imediatamente após a coleta os animais receberam a primeira dose da respectiva vacina, seguida de reforço após um mês. Este mesmo processo de coleta de soro se repetiu 30 dias após o reforço vacinal com a finalidade de avaliar a resposta induzida pelas vacinas, pela mensuração dos títulos de anticorpos neutralizantes produzidos.

A imunização obedeceu às recomendações do fabricante, tais como: aplicar via subcutânea, no terço médio do pescoço, 5 mL, com seringa descartável e repetir a dose após quatro semanas. Outras precauções também foram tomadas, como a seleção de animais hígidos, vacina conservada sob refrigeração e no momento do uso mantida em caixa de isopor com gelo, à sombra e agitada antes de usar. A vacina C precisava ainda ser reidratada assepticamente, misturando o conteúdo líquido com o liofilizado.

Todos esses animais foram mantidos sob as mesmas condições quanto à alimentação e ao ambiente durante o período experimental, de acordo com o manejo da propriedade.

Tabela 1 - Composição das vacinas comerciais utilizadas no estudo

<b>Vacina</b>	<b>Composição da vacina</b>	<b>Nº de animais</b>
<b>A</b>	Vacina inativada (BoHV-1, BoHV-5, BVDV-1, BVDV-2); adjuvante: óleo mineral	21
<b>B</b>	Vacina inativada (BoHV-1, BoHV-5, BVDV-1, BVDV-2); adjuvante: selênio e hidróxido de alumínio	20
<b>C</b>	Vacina inativada (BVDV-1 e BVDV-2) e atenuada termossensível (BoHV-1, BoHV-5); adjuvante: Amphigem ® e gentamicina	17

Fonte: A autora.

### 3.3 SOROLOGIA

A pesquisa de anticorpos neutralizantes foi realizada utilizando a técnica de Soroneutralização (SN), nas amostras individuais de soro, frente a cepas de referência dos agentes: BoHV-1 Cooper e BVDV-1 Singer, seguindo o protocolo estabelecido pela OIE (2012). Inicialmente, o soro foi submetido à inativação do complemento (56°C por 30 min) e em placas de 96 cavidades, foi diluído partindo de 1:2 para BoHV-1 e de 1:5 para BVDV-1. Adicionou-se então os respectivos vírus com aproximadamente 100 a 200 doses infectantes para 50% dos cultivos celulares (DIC50). As placas contendo soro: vírus foram incubadas por 2 horas a 37°C, seguidas da adição de uma suspensão de células MDBK (Madin Darby bovine kidney) e incubadas novamente a 37°C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. A leitura do teste foi realizada após 72-96 horas de incubação pelo monitoramento do efeito citopático. O título neutralizante foi considerado a recíproca da maior diluição do soro capaz de neutralizar a replicação viral. Amostras que não apresentaram atividade neutralizante na menor diluição foram consideradas negativas. Os títulos de anticorpos foram transformados em título médio geométrico (GMT) (ANZILIERO et al., 2011).

Os testes de SN foram realizados em células de rim bovino MDBK livres de pestivírus. As células foram cultivadas em meio essencial mínimo (MEM), contendo penicilina (1,6 mg.ml<sup>-1</sup>), estreptomicina (0,4 mg.ml<sup>-1</sup>) e fungizona (25mg.mL<sup>-1</sup>) e suplementado com 10% de soro bovino.

#### 4 RESULTADOS E DICUSSÃO

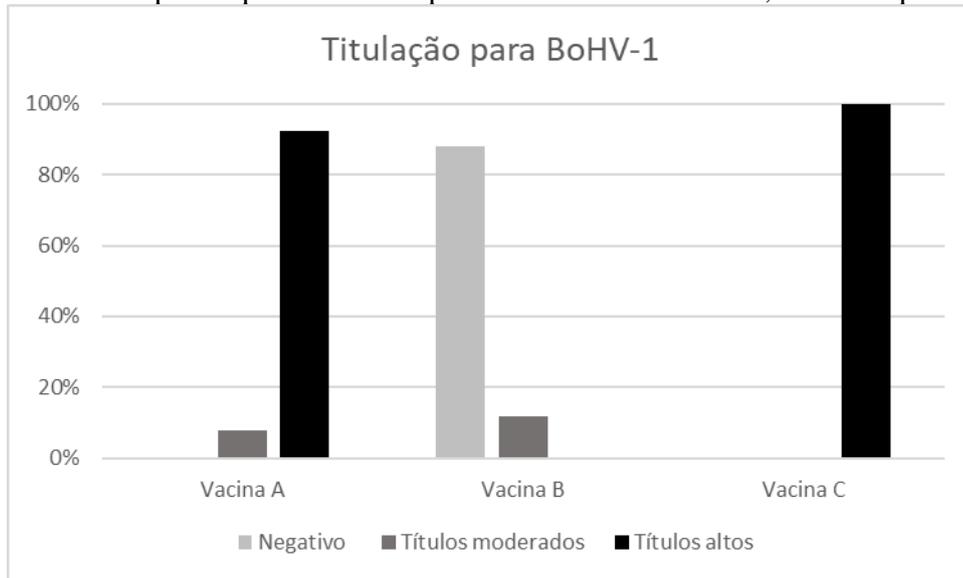
Os resultados dos testes de SN realizados com o soro de animais imunizados com as respectivas vacinas estão resumidos na tabela 2. Nas tabelas 3, 4 e 5, são demonstrados os títulos individuais para cada grupo vacinal, mostrando a titulação inicial (primovacinação) e trinta dias após esquema vacinal, onde resultados  $\leq 1/5$  para BVDV-1 e  $\leq 1/2$  para BoHV-1 são considerados negativos. Foram calculadas as médias geométricas das titulações para cada vacina, representada como GMT (tabela 2). Animais soropositivos na primeira coleta foram excluídos do cálculo.

No início do estudo, 77,58% (45/58) das amostras eram soronegativas para BoHV-1 e 98,27% (57/58) soronegativas para BVDV-1. Como estes animais nunca haviam recebido vacina, podemos confirmar que na propriedade em questão há circulação de ambos os vírus, visto que na fazenda já foi isolado BVDV de um bezerro fraco recém-nascido e há histórico de problemas respiratórios. Essa soropositividade pode ter interferido nos títulos de anticorpos neutralizantes avaliados pós esquema vacinal, devido a isto, estes animais foram excluídos da avaliação final. Outra questão que cabe ser ressaltada é que os animais utilizados no estudo não foram isolados do restante do rebanho, o que não impede que eles tenham sofrido infecção viral durante o período experimental.

Frente ao BoHV-1, a vacina A induziu soroconversão em 100% dos animais vacinados, com títulos altos ( $\geq 1/32$ ) em 92,30% e GMT de 83,55. A vacina B induziu títulos de anticorpos neutralizantes em apenas 11,11% dos animais (2/18) em títulos baixos. A vacina C também induziu soroconversão em 100% das novilhas com títulos altos e GMT de 176,88. Portanto, duas das três vacinas testadas induziram anticorpos com atividade neutralizante contra o BoHV-1, na totalidade dos animais (Gráfico 1).

Com relação ao BVDV-1, soroconversão parcial foi detectada no grupo vacinal A, onde 52,38% (11/21) dos animais permaneceram soronegativos mesmo depois do reforço vacinal, o GMT foi de 11,04. Os outros 47,62% dos animais tiveram titulações entre 1/5 a 1/160. Já a vacina B não induziu anticorpos neutralizantes detectáveis em nenhum animal, totalizando 100% (20/20) dos animais soronegativos. Apenas a vacina C induziu resposta sorológica detectável em 100% animais vacinados, com 70,58% de títulos altos e GMT de 130,49 (Gráfico 2).

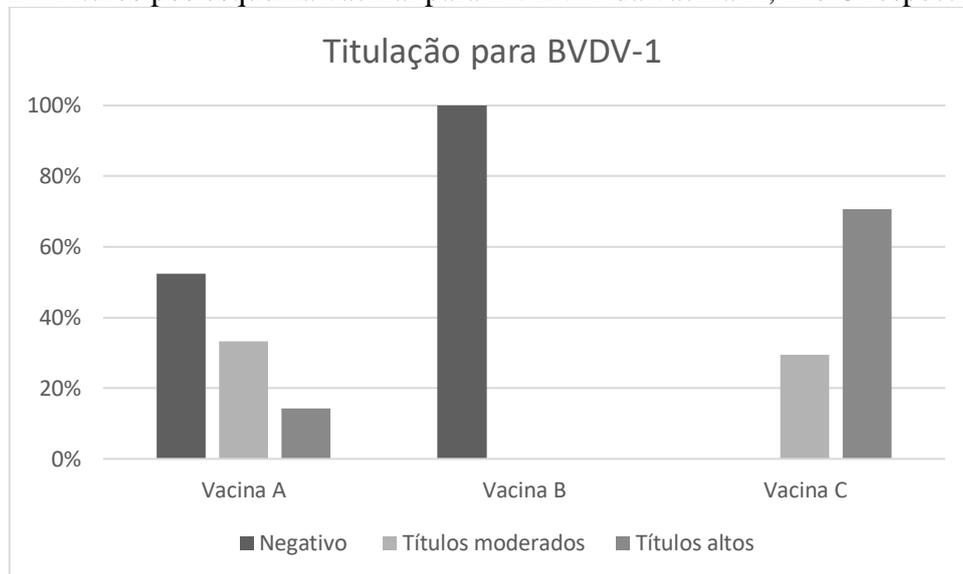
Gráfico 1 - Títulos pós esquema vacinal para BoHV-1 da vacina A, B e C respectivamente.



Fonte: A autora.

Foram agrupados os resultados para BVDV-1 da seguinte maneira: negativos ( $\leq 1/5$ ), títulos médios (1/5 até 1/40), títulos altos (acima de 1/80). Para BoHV-1: negativo ( $\leq 1/2$ ); títulos médios (1/2 até 1/16), títulos altos (acima de 1/320).

Gráfico 2 - Títulos pós esquema vacinal para BVDV-1 da vacina A, B e C respectivamente.



Fonte: A autora.

Tabela 2 - Médias Geométricas dos títulos induzidos por vacinas comerciais para herpesvírus bovino tipo 1 e diarreia viral bovina tipo 1 trinta dias após reforço.

<b>Grupo (n)</b>	<b>GMT BVDV-1</b>	<b>GMT BoHV-1</b>
Vacina A (21)	11,04	83,55
Vacina B (20)	≤1/5	2,08
Vacina C (17)	130,49	176,88

Fonte: A autora.

Tabela 3 - Títulos de anticorpos neutralizantes induzidos nos animais imunizados com a vacina A.

N° animal	<b>BVDV-1</b>		<b>BoHV-1</b>	
	<b>Primovacinação</b>	<b>Pós-vacinação</b>	<b>Primovacinação</b>	<b>Pós-vacinação</b>
<b>1</b> 418954	≤1/5*	1/40	1/16	1/64
<b>2</b> 419004	≤1/5	≤1/5	¼	1/32
<b>3</b> 419005	≤1/5	≤1/5	≤1/2 *	≥1/256
<b>4</b> 419006	≤1/5	1/20	≤1/2	1/32
<b>5</b> 419009	≤1/5	≤1/5	≤1/2	1/128
<b>6</b> 419012	≤1/5	≤1/5	1/16	≥1/256
<b>7</b> 419025	≤1/5	1/20	≤1/2	1/64
<b>8</b> 419029	≤1/5	1/160	≤1/2	≥1/256
<b>9</b> 437414	≤1/5	≤1/5	≤1/2	1/32
<b>10</b> 437417	≤1/5	1/40	1/8	≥1/256
<b>11</b> 437419	≤1/5	1/20	1/4	≥1/256
<b>12</b> 437420	≤1/5	1/80	1/8	1/128
<b>13</b> 478000	≤1/5	1/20	≤1/2	1/16
<b>14</b> 656594	≤1/5	≤1/5	1/8	1/128
<b>15</b> 656597	≤1/5	≤1/5	≤1/2	1/64
<b>16</b> 656600	≤1/5	≤1/5	≤1/2	≥1/256
<b>17</b> 656602	≤1/5	≤1/5	≤1/2	1/64
<b>18</b> 962880	≤1/5	1/80	1/4	1/128
<b>19</b> 982332	≤1/5	≤1/5	≤1/2	1/64
<b>20</b> 994036	≤1/5	1/40	≤1/2	1/64
<b>21</b> 994037	≤1/5	≤1/5	≤1/2	≥1/256

\* Títulos  $\leq 1/5$  para BVDV-1 são considerados negativos. Títulos  $\leq 1/2$  para BoHV-1 são considerados negativos (Laboratório de Virologia UFSC).

Fonte: A autora.

Tabela 4- Títulos de anticorpos neutralizantes induzidos nos animais imunizados com a vacina B

Nº animal	BVDV-1		BoHV-1		
	Primovacinação	Pós-vacinação	Primovacinação	Pós-vacinação	
1	045330	$\leq 1/5^*$	$\leq 1/5$	1/2	$\leq 1/2$
2	091406	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2^*$	$\leq 1/2$
3	093310	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
4	093311	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
5	094447	$\geq 320$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
6	094449	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
7	095178	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	1/16	1/8
8	099469	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
9	099624	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
10	099625	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
11	465628	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
12	465629	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
13	465645	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
14	546767	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	1/2
15	549383	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
16	550249	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
17	746421	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
18	750555	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	$\leq 1/2$
19	982924	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	1/8	1/32
20	989568	$\leq 1/5$	$\leq 1/5$	$\leq 1/2$	1/4

\* Títulos  $\leq 1/5$  para BVDV-1 são considerados negativos. Títulos  $\leq 1/2$  para BoHV-1 são considerados negativos (Laboratório de Virologia UFSC).

Fonte: A autora.

Tabela 5- Títulos de anticorpos neutralizantes induzidos nos animais imunizados com a vacina C

Nº animal	BVDV-1		BoHV-1	
	Primovacinação	Pós-vacinação	Primovacinação	Pós-vacinação
1 091760	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	$\geq 1/256$
2 094444	$\leq 1/5$	1/10	$\leq 1/2$	$\geq 1/256$
3 099470	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	1/128
4 099632	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	1/128
5 101389	$\leq 1/5$	1/80	1/2	$\geq 1/256$
6 101927	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	1/4	1/128
7 476248	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	$\geq 1/256$
8 476251	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	1/128
9 476252	$\leq 1/5$	1/20	$\leq 1/2$	$\geq 1/256$
10 476253	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	1/128
11 476314	$\leq 1/5$	1/40	$\leq 1/2$	1/128
12 476315	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	$\geq 1/256$
13 546389	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	$\geq 1/256$
14 546735	$\leq 1/5$	1/10	$\leq 1/2$	1/128
15 546736	$\leq 1/5$	1/40	$\leq 1/2$	$\geq 1/256$
16 750556	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	$\geq 1/256$
17 982925	$\leq 1/5$	$\geq 1/320$	$\leq 1/2$	1/64

\*Títulos  $\leq 1/5$  para BVDV-1 são considerados negativos. Títulos  $\leq 1/2$  para BoHV-1 são considerados negativos (Laboratório de Virologia UFSC).

Fonte: A autora.

Os resultados obtidos demonstram situações distintas com relação aos agentes avaliados. Em geral, a resposta ao BoHV-1 foi consistente e em títulos aceitáveis em duas das três vacinas testadas. Por outro lado, a resposta sorológica induzida pelas vacinas contra o BVDV-1, foi indetectável em grande parte dos animais, uma delas não apresentou títulos detectáveis em nenhum, situação que é inadequada, tanto do ponto de vista imunológico quanto do ponto de vista de controle e prevenção dessa infecção e somente uma vacina se mostrou eficaz. Não podemos descartar a possibilidade de a vacina B ter passado por algum erro após a sua fabricação, como por exemplo o acondicionamento durante o transporte.

No Brasil, não existe uma regulamentação específica definindo o nível de imunidade exigido para vacinas contra esses vírus. No entanto, considerando-se referências/regulamentações de outros países, vacinas inativadas e/ou atenuadas contra o BoHV-1 deveriam induzir títulos neutralizantes  $\geq 8$  em pelo menos 80% dos animais (ANZILIERO, 2015).

Falkenberg et al. (2015) cita que anticorpos são amplamente utilizados para medir a eficiência das vacinas e correlacionar a proteção. Foi demonstrado que títulos  $\geq 16$  protegeria os animais contra a doença clínica, mas não a disseminação viral. Baccili et al. (2016) traz em seus estudos as mesmas considerações, com níveis aceitáveis de anticorpos em  $\geq 16$ .

A biologia do vírus da BVD e a resposta imunológica do hospedeiro frente a ele parecem ser ainda mais complexas. A grande variabilidade antigênica do vírus e a existência de dois genótipos distintos (BVDV-1 e BVDV-2), cuja reatividade sorológica cruzada é baixa são obstáculos para o sucesso da vacinação. No Brasil, as vacinas comerciais, na grande maioria contém o BVDV-1 e BVDV-2 com cepas americanas e europeias. (PITUCO, 2016). A identificação dos animais PI é de suma importância para o controle da doença. A vacinação contra o BVDV deve ser utilizada para proteger animais da doença clínica, reduzir a circulação do vírus e para tentar impedir a infecção fetal, contudo, ainda existem dúvidas se as vacinas existentes e os protocolos vacinais estão aptos a prevenir totalmente as infecções transplacentárias (VIU et al., 2014). Segundo Newcomer, Chamorro e Walz (2017) o uso de vacinas vivas modificadas contra o BVDV demonstrou taxas consistentes de proteção fetal na faixa de 85 a 100% em estudos experimentais.

A erradicação da IBR sempre abrange a destruição de grande número de animais saudáveis, soropositivos, que são considerados como reservatório do vírus, por manterem latência. Desta forma, a erradicação da enfermidade torna-se economicamente inviável em vista do grande custo envolvido no descarte dos animais. Assim, a imunização do rebanho é a medida eficaz para evitar as perdas econômicas sobrevindas da manifestação clínica da doença (COSTA et al., 2017). Newcomer et al. (2017) demonstrou uma redução de 60% no risco de aborto em bovinos vacinados.

Anziliero et al. (2015) testaram oito vacinas comercializadas no Brasil contra o BoHV-1, BoHV-5, BVDV-1 e BVDV-2. Frente ao BoHV-1, cinco inativadas com adjuvantes diferentes, uma viva atenuada termossensível e uma vacina viva quimicamente alterada. Todas induziram anticorpos com atividade neutralizante, sendo que a vacina viva atenuada termossensível apresentou maior indução de títulos. Frente a BVDV somente uma vacina

induziu anticorpos em todos os animais testados, as outras vacinas induziram soroconversão parcial, cinco delas não induziram anticorpos neutralizantes em animal nenhum.

Lima et al. (2005) verificou os títulos de anticorpos neutralizantes contra BVDV induzidos por uma vacina experimental atenuada (dose única) e comparou com os induzidos por três vacinas comerciais inativadas (duas doses com intervalo de 30 dias). Os resultados obtidos demonstraram que a vacina experimental atenuada induziu títulos de anticorpos significativamente superiores, mais duradouros e com maior espectro de reatividade do que as vacinas comerciais.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas condições do presente experimento permitem concluir que a imunogenicidade do BoHV-1 nas vacinas comerciais é aceitável, (com exceção de uma vacina) provavelmente, suficiente para uma imunização adequada dos rebanhos, desde que seguidas as recomendações dos fabricantes, como por exemplo, o cuidado com o uso de vacinas vivas em vacas prenhas, que deve ser de conhecimento dos médicos veterinários da área. A imunogenicidade do componente BVDV-1 foi aceitável em somente em uma vacina. Fica evidente que as estratégias de formulação e/ou produção de vacinas, principalmente com relação ao BVDV, devem ser urgentemente revistas. O uso de cepas de circulação nacional e agora com a permissão do MAPA de cepas atenuadas na produção de vacinas podem ser algumas estratégias para melhorar a soroconversão. Em trabalhos futuros serão testadas, pelo menos, mais duas vacinas comerciais diferentes, que estão sendo amplamente usadas por produtores da região do estudo.

## REFERÊNCIAS

- ANZILIERO, Deniz et al. Resposta sorológica aos herpesvírus bovino tipos 1 e 5 e vírus da diarreia viral bovina induzida por vacinas comerciais. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 45, n. 1, p.58-63, jan. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20130167>.
- ARENHART, Sandra et al. Proteção fetal contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em vacas prenhes previamente imunizadas com uma vacina experimental atenuada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 28, n. 10, p.461-470, out. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2008001000004>.
- BACCILI, Camila Costa et al. Interface between Maternal Antibodies and Natural Challenge for Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in Holstein Heifers. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 44, p.1-6, out. 2016.
- BOEHRINGER INGELHEIM SAÚDE ANIMAL. **Boehringer Ingelheim Saúde Animal lança Bovela TM, nova aliada no combate à Diarreia Viral Bovina (BVD)**. 2019.
- COSTA, Eduardo Paulino da et al. BoHV-1 (o vírus da IBR) e sua relação com estruturas e órgãos genitais da fêmea bovina. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 41, n. 1, p.254-263, mar. 2017.
- CHAMORRO, Manuel F. et al. Comparison of levels and duration of detection of antibodies to bovine viral diarrhoea virus 1, bovine viral diarrhoea virus 2, bovine respiratory syncytial virus, bovine herpesvirus 1, and bovine parainfluenza virus 3 in calves fed maternal colostrum or a colostrum-replacement product. **The Canadian Journal Of Veterinary Research**, Auburn, v. 78, p.81-88, abr. 2014.
- DOWNEY-SLINKER, E.d. et al. Antibody titers to vaccination are not predictive of level of protection against a BVDV type 1b challenge in Bos indicus - Bos taurus steers. **Elsevier: Vaccine**, Texas, v. 34, n. 42, p.5053-5059, set. 2016.
- FALKENBERG, Shollie M. et al. Association of Serum Antibody Levels Following Vaccination with A Modified Live BVDV Vaccine and Protection from Clinical Disease upon Challenge. **Jacob Journal Of Vaccines And Vaccination: Animal Science Publications**, Iowa, v. 1, n. 1, p.1-7, mar. 2015.
- FINO, TCM; DE MELO, CB; RAMOS, AF; LEITE, RC. Diarreia Viral Bovina (BVD) - Uma revisão. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 2, p. 131-140, jun. 2012.
- FLORES Eduardo Furtado. **Virologia Veterinária**. 2007. Editora UFMS, Santa Maria, p.435-462.
- FLORES, Eduardo Furtado; WEIBLEN, Rudi. Herpesvírus de Bovinos. In: MEGID, Jane; RIBEIRO, Márcio Garcia; PAES, Antônio Carlos. **Doenças Infeciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap.58. p. 708-720.

FLORES, Eduardo F. et al. A infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 25, n. 3, p.125-134, set. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2005000300002>.

HAGE, J.j. et al. Milk production and reproduction during a subclinical bovine herpesvirus 1 infection on a dairy farm. **Preventive Veterinary Medicine**, [s.l.], v. 34, n. 2-3, p.97-106, fev. 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0167-5877\(97\)00088-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0167-5877(97)00088-3).

HENZEL, Andréia et al. Aspectos virológicos e clínico-patológicos da infecção genital aguda e latente pelo herpesvírus bovino tipo 1.2 em bezerras infectadas experimentalmente. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.140-148, mar. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2008000300003>.

HIPRA. **HIPRABOVIS® IBR MARKER LIVE**. 2019. Disponível em: <<https://www.hipra.com/portal/pt/hipra/animalhealth/products/detail/hiprabovis-ibr-ml>>. Acesso em: 11 nov. 2019.

LIMA, Marcelo de et al. Anticorpos neutralizantes contra o vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV): comparação entre um imunógeno experimental atenuado e três vacinas comerciais inativadas. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 35, n. 1, p.230-234, fev. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782005000100039>.

MERCHIORATTO, Ingryd. **CARACTERIZAÇÃO DE PESTIVÍRUS BOVINOS E AVALIAÇÃO DE VACINAS COMERCIAIS**. 2019. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2019.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Org.). **Produtos Veterinários**. 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios>>. Acesso em: 04 nov. 2019.

NARDELLI, Stefano et al. Dynamics of infection and immunity in a dairy cattle population undergoing an eradication programme for Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR). **Preventive Veterinary Medicine**, [s.l.], v. 85, n. 1-2, p.68-80, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.01.001>.

NEWCOMER, Benjamin W.; CHAMORRO, Manuel F.; WALZ, Paul H.. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea virus. **Veterinary Microbiology**, [s.l.], v. 206, p.78-83, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.04.003>.

NEWCOMER, Benjamin W. et al. Prevention of abortion in cattle following vaccination against bovine herpesvirus 1: A meta-analysis. **Preventive Veterinary Medicine**, [s.l.], v. 138, p.1-8, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.01.005>.

OIE, World Organisation for Animal Health. Infectious Bovine Rhinotracheitis/Infectious Pustular Vulvovaginitis. In:**Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**.2012. Disponível em:<<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>> Acesso em: 03 nov. 2019.

OLIVEIRA, Letícia de. **Prevalência de Diarreia Viral Bovina e Rinotraqueíte Infeciosa Bovina no Rebanho Leiteiro do Município de Curitiba/SC**. 2019. 42 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, 2019 (a ser publicado).

PASQUALOTTO, Willian; SEHNEM, Simone; WINCK, Cesar Augustus. Incidência de Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR), Diarreia Viral Bovina (BVD) e Leptospirose em Bovinos Leiteiros da Região Oeste de Santa Catarina - Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.249-259, 3 ago. 2015. Centro Universitário de Maringá. <http://dx.doi.org/10.17765/2176-9168.2015v8n2p249-270>.

PITUCO, Edviges Maristela. Diarreia Viral Bovina e Enfermidade das Mucosas. In: MEGID, Jane; RIBEIRO, Márcio Garcia; PAES, Antonio Carlos. **Doenças Infeciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 53. p. 588-597.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2007, p. 974-992.

RIET-CORREA, Franklin et al. **DOENÇAS DE RUMINANTES E EQÜINOS**. 2. ed. Pelotas/rs: Varela Editora e Livraria Ltda, 2001. 426 p.

SANTOS, Ricarda Maria dos; VASCONCELOS, José Luiz Moraes. **Melhorando a reprodução de vacas leiteiras e mantendo alta produção de leite**. 2018. MilkPoint. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/jose-luiz-moraes-vasconcelos-ricarda-santos/melhorando-a-reproducao-de-vacas-leiteiras-e-mantendo-alta-producao-de-leite-parte-1-208989/>>. Acesso em: 11 out. 2019.

SERIGHELLI, Taciane et al. Prevalência das infecções por diarreia viral bovina e rinotraqueíte infecciosa bovina em rebanhos leiteiros do oeste catarinense. In: IV SAVUFSC, 4., 2017, Curitiba. **Anais IV SAVUFSC**. Curitiba: UFSC, 2017. p. 29 - 30. Disponível em: <<http://medicinaveterinaria.curitiba.ufsc.br/files/2017/11/ANAIS-IV-SAVUFSC-.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

SOUZA, Guilherme Nunes de et al. **Situação epidemiológica e fatores de risco para problemas reprodutivos em bovinos leiteiros localizados em diferentes mesorregiões do Estado do Rio Grande do Sul 2016/2017**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2017. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1082944/1/BOP36Situacaoepidemiologicaefatoresderisco2017.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2019.

STATHAM, J. M. E.; RANDALL, L. V.; ARCHER, S. C. Reduction in daily milk yield associated with subclinical bovine herpesvirus 1 infection. **Veterinary Record**, [s.l.], v. 177, n. 13, p.339-339, 29 set. 2015. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.103105>.

TIZARD, Ian R. **Imunologia Veterinária: Uma introdução**. 8. ed. Texas, EUA: Elsevier, 2008. 587 p. Tradução de: Veterinary Immunology.

VIU, Marco Antônio de Oliveira et al. Rinotraqueíte infecciosa bovina: revisão. **Pubvet:** Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia, Londrina, v. 8, n. 4, p.440-443, fev. 2014.

VIU, Marco Antônio de Oliveira et al. Diarreia viral bovina: revisão. **Pubvet:** Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia, Londrina, v. 8, n. 3, fev. 2014.

VOGEL, Fernanda Silveira Flores et al. Replicação e excreção viral durante a infecção aguda e após a reativação da latência induzida por dexametasona em bezerros inoculados com os herpesvírus bovinos tipo 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p.1619-1621, 2004.