

## IMUNOMODULAÇÃO DA RESPOSTA HUMORAL CONTRA HERPESVÍRUS BOVINO EM VACINA MULTIVALENTE ASSOCIADA À ADMINISTRAÇÃO DE ESTIMULANTE METABÓLICO

**LUIS GUSTAVO CROCHEMORE DA SILVA<sup>1</sup>; MARINA MENONCIN WESCHENFELDER<sup>2</sup>; EDUARDO GOULARTE XAVIER<sup>3</sup>; FRANCISCO AUGUSTO BURKERT DEL PINO<sup>2</sup>; VIVIANE ROHRIG RABASSA<sup>2</sup>; MARCIO NUNES CORRÊA<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – gugacrochemore@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas

<sup>3</sup>Granja 4 Irmãos S.A.- eduardoxavier@granjas4irmaos.com.br

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – marcio.nunescorreia@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Os Herpesvírus bovinos tipo 1 (BoHV-1) e tipo 5 (BoHV-5) pertencem à família *Herpesviridae*, subfamília *Alfaherpesvirinae*, gênero *Varicellovírus* e tem distribuição mundial (ACKERMANN *et al.*, 1990; DUHRAN & HASSARD, 1991). Animais infectados com o BoHV-1 podem apresentar problemas respiratórios ou genitais em fêmeas e machos, sendo os quadros conhecidos como Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina (IBR), Vulvovaginite Pustular Infecçiosa (IPV) e Balanopostite Pustular Infecçiosa (IPB), respectivamente (WEIBLEN, 1992); já animais infectados com BoHV-5 geralmente apresentam quadros de meningoencefalite (RIET-CORREA *et al.*, 2006). A infecção pode resultar no retardo do crescimento de animais jovens, menor produção leiteira, redução da eficiência reprodutiva e abortos (BORTOT *et al.*, 2009). Após a infecção, os abortos podem ocorrer em qualquer período da gestação, embora sejam mais frequentes no terço final (MILLER, 1991; WEIBLEN, 1992). Dessa forma, o vírus traz grandes prejuízos reprodutivos e genéticos. Ambos os tipos virais causam infecções latentes que podem ser reativadas periodicamente, resultando em liberação de novas partículas virais e consequente infecção de animais suscetíveis (ACKERMANN *et al.*, 1982; FENNER *et al.*, 1993).

Para o controle destas enfermidades é recomendado o uso de vacinação, pois o vírus é altamente contagioso e a ocorrência de surtos é imprevisível (DONKERSGOED & BABIUK, 1991). Alguns estudos indicam que rebanhos vacinados adequadamente têm melhora nos índices reprodutivos (DIAS, 2006). No entanto, muitas vacinas requerem a associação com substâncias adjuvantes que, combinadas ao antígeno, incrementam a sua imunogenicidade, potencializando as respostas imunes celular e humoral (BARR *et al.*, 2006).

Tem sido crescente o interesse pela avaliação de novos compostos para incrementar a imunidade conferida pelas vacinas. Nesse âmbito, o uso de estimulantes energéticos pode ser uma alternativa relevante, tendo-se como exemplo os compostos a base de fósforo orgânico, como o butafosfan, os quais agem como um acelerador do metabolismo e intensificador da resposta imune (KREIPE *et al.*, 2011). Esse composto quando administrado juntamente com vitamina B12 age sinergicamente no anabolismo orgânico, pois esta vitamina afeta o metabolismo da proteína, do hidrato de carbono e da gordura, fundamental na geração de energia em nível celular, com importante papel no ciclo ADP/ATP, síntese de creatina-fosfato e nucleotídeos envolvidos na ação

hormonal (cAMP, cGMP), além de favorecer a fosforilação nucleotídica no Ciclo de Krebs (Kennedy et al., 1990).

Esse estudo teve como objetivo avaliar a capacidade imunomoduladora de um estimulante metabólico, a base de butafosfan e vitamina B12 (Castosal<sup>®</sup>), quando associado a uma vacina composta por antígenos múltiplos, incluindo o herpesvírus bovino (BoHV).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 31 bovinos fêmeas da raça holandês, múltiparas (entre duas e quatro lactações), com peso corporal médio de 622 kg, provenientes de uma fazenda localizada em Rio Grande – Rio Grande do Sul.

A avaliação das propriedades imunomoduladoras do Castosal<sup>®</sup> foi feita através da sua coadministração com uma vacina comercial contendo antígenos múltiplos, utilizada para bovinos. A vacina comercial (CattleMaster 4 + L5<sup>®</sup>, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, Brasil) era uma preparação liofilizada de amostras inativadas dos vírus da BoHV e parainfluenza tipo 3 associado com uma amostra viva modificada de vírus sincicial respiratório bovino, mais um diluente composto de uma combinação inativada de amostras citopáticas e não citopáticas do vírus da diarreia viral bovina e culturas inativadas dos cinco sorotipos de *Leptospira sp* associada a adjuvante hidróxido de alumínio.

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, sendo um deles com 16 animais (grupo CON), submetidos a vacinação com produto comercial e administração de placebo (solução salina 0,9%), e o outro com 15 animais (grupo CAT), submetidos a vacinação com produto comercial e 3 aplicações intramusculares do estimulante metabólico (Castosal<sup>®</sup>, na dose de 20 mL/animal) com intervalo de 5 dias, sendo a primeira no dia da vacinação. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, sob código nº CEEA 1149.

Foram coletadas amostras de sangue no dias 0 (dia da vacinação) e 30 (5 dias após a última aplicação de Castosal<sup>®</sup>). As amostras foram coletadas por punção do complexo arteriovenoso coccígeo em sistema de *vaccuntainer* e em tubo de soro com acelerador de coágulo. Após a coleta, o material foi centrifugado a 3000 g durante 15 minutos para obtenção do soro e congelado a -20 °C até a avaliação sorológica.

As amostras congeladas foram remetidas ao Laboratório de Virologia, da Universidade Federal de Pelotas, e submetidas ao teste de soroneutralização, conforme técnica descrita por HOUSE & BAKER (1971). Os resultados foram expressos em títulos de anticorpos, ou seja, diluição dos soros capaz de neutralizar 100 doses infectantes para 50% dos cultivos celulares (DICC50).

A análise estatística foi realizada com o programa SAS<sup>®</sup> (Statistical Analysis System) com a comparação das médias através do One Way ANOVA. São diferentes estatisticamente valores de  $P < 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A média do título de anticorpos do grupo CAT foi maior ( $23,21 \pm 7,81$ ) que o grupo CON ( $6,84 \pm 0,90$ ) ( $P = 0,03$ ), demonstrando que a administração da associação de butafosfan e vitamina B12 foi eficiente em estimular a resposta imune humoral dos bovinos submetidos a uma vacina contra o BoHV.

O metabolismo animal e a sinalização celular do sistema imune estão intrinsecamente ligados, visto que vários tecidos produzem e secretam moléculas dotadas de funções imunológicas. Foi demonstrado que as células epiteliais mamárias produzem diversas proteínas de fase aguda e citocinas, incluindo o TNF-alfa e a interleucina-8 (WELLNITZ E KERR, 2004), o fígado produz peptídeos antimicrobianos (SANG et al., 2006), proteínas de fase aguda e citocinas (LOOR et al., 2005), a hipófise anterior produz, entre outros fatores, IL-6 e prostaglandinas (ABRAHAM et al., 1998) e as células de gordura produzem uma gama tão ampla de moléculas dotadas de funções imunes (incluindo o TNF-alfa ligado a membrana, a IL-6, a resistina, etc), que estas receberam o nome de adipocitocinas ou adipocinas (HUTLEY e PRINS, 2005).

Acredita-se que um incremento no título de anticorpos possa dirimir as consequências da infecção pelo BoHV, mesmo ainda não estabelecida a correlação entre títulos neutralizantes e proteção (BOSCH et al. 1996; PATEL, 2005). Estudos de BABIUK et al. (1996) sugerem que os anticorpos neutralizantes são mais efetivos na prevenção e controle da infecção secundária e promove rápida eliminação viral após reativação da infecção latente. Além disso, POSPISIL et al. (1996) demonstraram que títulos de anticorpos mais altos, induzidos por vacinas inativadas, protegeram bovinos da infecção respiratória e intra-uterina.

#### 4. CONCLUSÕES

A administração do estimulante metabólico Castosal<sup>®</sup>, a base de butafosfan e vitamina B12, em associação à vacina multivalente demonstrou induzir uma resposta maior no título de anticorpos séricos contra BoHV em vacas múltiparas.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, E. J.; MORRIS-HARDEMAN, J. N.; SWENSON, L. M.; KNOPPEL, E. L.; RAMANATHAN, B.; WRIGHT, K. J.; GRIEGER, D. M.; MINTON, J. E. Pituitary function in the acute phase response in domestic farm animals: cytokines, prostaglandins, and secretion of ACTH. **Domestic Animal Endocrinology**, v.15, p.389-396, 1998.
- ACKERMANN, M.; BELAK, S.; BITSCH, V.; EDWARDS, S.; MOUSSA, A.; ROCKBORN, G.; THIRY, E. Round table on infectious rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus infection diagnosis and control. **Veterinary Microbiology**. v. 23, p. 361-370, 1990.
- ACKERMANN, M.; PETERHANS, E.; WYLER, R. DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia during latently infected calves. **American Journal. Veterinary Research**. v.43, n. 1, p.36-43, 1982.
- BABIUK, L.A. et al. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. **Veterinary Microbiology**, v.53, n.1-2, p.31-42, 1996.
- BARR, T. A.; CARLRING, J.; HEATH, A. W. Co-stimulatory agonists as immunological adjuvants. **Vaccine**. v. 24, p. 3399-3407, 2006.
- BORTOT, D. C.; BARIANI, M. H.; ZAPPA, V. Rinotraqueíte Infecçiosa Bovina, **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. n.12, p.1679-7353, 2009.
- BOSCH, J.C.; KAASHOEK, M. J.; KROESE, A. H.; VAN OIRSCHOT, J. T. An attenuated bovine herpesvirus-1 marker vaccine induces better protection than two inactivated marker vaccines. **Veterinary Microbiology**, v.52, n.3-4, p.223-234, 1996.

- DIAS, M. M. **Análise da soroprevalência do herpesvírus bovino Tipo -1 e do cortisol sérico em diferentes situações de manejo no Rio Grande do Sul.** 84 f. Expositivo (Doutorado) - UFRGS, Porto Alegre, 2006.
- DONKERSGOED, J. V.; BABIUK, L. A. Diagnosig and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Medicine.** v.86, n.1, p.86-94, 1991.
- DUHRAN, J.K.; HASSARD, L. E. Prevalence of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3, bovine respiratory syncitial, and bovine diarrhea viruses in cattle in Saskatchewan and Alberta. **Canadian Veterinary Journal Research.** v.31, p.815-820, 1991.
- FENNER, F. J.; GIBBS, E. P. J.; MURPHY, F. A.; ROTT, R.; STUDERT, M. J.; WHITE, D. O. **Veterinary Virology.** 2ª ed. San Diego: Academic Press, p.666, 1993.
- HOUSE, A.; BAKER, J. A. Bovine herpesvirus IBR-IPV. The antibody virus neutralization reaction. **Comell Veterinarian.** n.61, p.320-335, 1971.
- HUTLEY, L.; PRINS, J. B. Fat as an endocrine organ: relationship to te metabolic syndrome. **The American Journal of the Medical Sciences.** v.330, p.280-289, 2005.
- KENNEDY, D. G.; CANNAVAN, A.; MOLLOY, A.; O'HARTE, F.; TAYLOR, S. M.; KENNEDY, S.; BLANCHFLOWER, W. J. Methylmalonyl-CoA mutase (EC 5.4.99.2) and methionine synthetase (EC 2.1.1.13) in the tissues of cobalt-vitamin B12 deficient sheep. **British Journal of Nutrition.** v.64, p.721-732, 1990.
- KREIPE, L.; DENIZ, A.; BRUCKMAIER, R.M.; VAN DORLAND, H.A. First report about the mode of action of combined butafosfan and cyanocobalamin on hepatic metabolism in nonketotic early lactating cows. **Journal of Dairy Science,** v. 94, p. 4904-4914, 2011.
- LOOR, J. J.; DANN, H. M.; EVERTS, R. E.; OLIVEIRA, R.; GREEN, C. A.; GURETZKY, N. A.; RODRIGUES-ZAS, S. S.; LEWIN, H. A.; DRACKLEY, J. K. Temporal gene expression profiling of liver from periparturient dairy cows reveals complex adaptive mechanisms in hepatic function. **Physiological Genomics.** v.23, p.217-226, 2005.
- MILLER, J. M. The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. **Veterinary Medicine.** v.86, n.1, p.95-98, 1991.
- PATEL, J.R. Characteristics of live bovine herpesvirus-1 vaccines. **The Veterinary Journal,** v.169, n.3 p.404-416, 2005.
- POSPISIL, Z. et al. Development of a disease control programs based on the use of an inactivates vaccine against infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Microbiology,** v.53, n.1-2, p.199-206, 1996.
- RIET-CORREA, G.; DUARTE, M. D.; BARBOSA, J. D.; et al. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causada por Herpesvírus Bovino-5 no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v.26, n.1, p.44-46, 2006.
- SANG, Y.; RAMANATHAM, B.; MINTON, J. E.; ROSS, C. R.; BLECHA, F. Porcine liver-expressed antimicrobial peptides, hepcidin and LEAP-2: cloning and induction by bacterial infection. **Developmental & Comparative Immunology.** v.30, p.357-366, 2006.
- WEIBLEN, R. Doenças víricas que interferem na produção leiteira. In: CHARLES, T. P.; FURLONG, J. **Doenças dos bovinos de leite adultos.** Coronel Pacheco, Embrapa-CNPGL, p.45-62, 1992.
- WELLNITZ, O.; KERR, D. E. Cryopreserved bovine mammary cells to model epithelial response to infection. **Vetetary Immunology and Immunopathology.** v.101, p.191-202, 2004.