

## PRIMOVACINAÇÃO EM POTROS CONTRA O HERPESVIRUS EQUINO TIPO 1 (RINOPNEUMONITE EQUINA)\*

### PRIMARY-VACCINATION IN FOALS AGAINST EQUINE HERPESVIRUS TYPE 1 (EQUINE RHINOPNEUMONITIS)

Clóvis de Oliveira\*\* Rudi Weiblen\*\*\* Luciane Terezinha Lovato\*\*\*\*

#### RESUMO

Através do presente trabalho procurou-se determinar a idade ideal para a vacinação de potros contra o herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1) direcionada para o tipo de criação regional, uma vez que os protocolos de vacinação comumente utilizados são originários de outros países. Para tal, utilizou-se soro de 61 potros filhos de éguas vacinadas contra o HVE-1. A recomendação da vacinação de potros, baseados nos resultados, situou-se por volta dos dois meses de idade, pois nesse período grande parte da população estudada possuía títulos de anticorpos considerados baixos e provavelmente insuficientes frente a um possível desafio de campo.

**Palavras-chave:** vacinação, potros, vírus, proteção, HVE-1.

#### SUMMARY

A research was undertaken to determine the ideal time for vaccination of foals against equine herpesvirus type 1 under regional conditions. The protocols normally utilized are those from other countries. Sixty-one foals born from vaccinated mares against equine herpesvirus type 1 were utilized. The ideal time for vaccination taken in consideration the results obtained was around two months of age. These statements are based on the low antibody titers observed, probably not enough to protect horses from a field exposure.

**Key words:** vaccination, foals, virus, protection, EHV-1.

#### INTRODUÇÃO

O vírus de Rinopneumonite eqüina, comumente chamado de Herpesvírus equino tipo 1 (HVE-1), ou vírus

do aborto eqüino está distribuído mundialmente. Foi reconhecido primeiramente nos Estados Unidos por Dimock & Edwards apud BAGUST (1971) como causa de abortos em éguas. Outros problemas associados a infecção pelo HVE-1 incluem problemas respiratórios em potros, síndrome paralítica em animais adultos, doença perinatal em recém-nascidos e mais recentemente a descrição de edemas generalizados na cabeça e membros sem a presença de enfermidade respiratória (GREEN 1989).

Assim como outros herpesvírus, o HVE-1 pode estabelecer infecções latentes as quais são reativadas em situações de estresse (ALLEN & BRYANS, 1986). Esta característica é um importante fator na epidemiologia de infecção pelo HVE-1. Até recentemente, não havia informações relacionadas a proporção de eqüinos com infecções latentes pelo HVE-1. No entanto, a recente aplicação de técnica de reação de polimerase em cadeia (PCR), revelou que 80% de uma amostragem de eqüinos no Reino Unido, carregavam o genoma do HVE-1 latente nos linfonodos. Em razão do baixo número de abortos no Reino Unido, MUMFORD (1991) sugere que poucos eqüinos experimentam recrudescência da infecção latente ou que somente uma pequena proporção de infecções resultam em abortos.

DOLL & BRYANS (1963) estabeleceram que muitos eqüinos são infectados precocemente, geralmente por ocasião do desmame. A imunidade é de curta duração e a reexposição para o HVE-1 resulta invariavelmente em infecções suaves ou inaparentes, mas no caso de éguas prenhas pode levar a abortos durante os últimos 4 ou 5 meses de gestação.

A duração da imunidade passiva no potro não se estende por mais de seis meses, sendo que mesmo antes deste período os níveis de anticorpos detectados são de valor protetor duvidoso (JEFFCOTT, 1979). O colostro é fundamental para o potro, em função de que, ao nascer o animal é hipo ou agamaglobulinêmico

\* Trabalho parcialmente financiado pelo CNPq, FAPERGS E FIPE - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

\*\* Médico Veterinário - Rhodia Mérieux, Fazenda São Francisco s/nº, Caixa Postal 7. 13140-000 - Paulínia, SP.

\*\*\* Médico Veterinário, Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Microbiologia e Parasitologia da UFSM, Pesquisador do CNPq. 97119-900 - Santa Maria, RS, Brasil.

\*\*\*\* Médico Veterinário, Aluno do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFSM.



(McGUIRE & CRAWFORD, 1973; JEFFCOTT, 1974; WHITE & PUGH, 1988).

Achados de HIGGINS et al (1987) indicam que a vida média dos anticorpos derivados matematicamente contra o HVE-1 situa-se por volta dos 31 dias.

Entre o 3º e 4º mês de vida, quando os níveis de anticorpos passivos estão diminuindo, o potro ainda está protegido contra muitos patógenos de ambiente como resultado de anticorpos secretórios nas membranas mucosas e imunidade mediada por células (PLATT, 1983). O mesmo autor relata que anticorpos colostrais somente protegem contra tipos de microrganismos aos quais a égua foi exposta e que animais transferidos de local, pouco tempo antes de parição, podem não ter anticorpos para os tipos de microrganismos locais, uma vez que não tiveram tempo de formar imunidade contra estes agentes.

Trabalhos de KOHN et al (1989) relatam que pouco se sabe sobre a variação na concentração de imunoglobulina G (IgG) no colostro de éguas. Repetidas vacinações, particularmente no último mês de gestação, podem ter um efeito benéfico no conteúdo de Igs colostrais (PEARSON et al, 1984). SILVA et al (1984) trabalhando com imunoglobulinas totais determinaram que o nível máximo no soro do potro é verificado 18 horas pós-parto.

Em se tratando de imunidade efetiva, HUSTEAD (1991) afirma que esta somente é conseguida após vacinações múltiplas, referindo-se a isto como condicionamento imunológico. Segundo o autor, imunidade efetiva é definida não somente na habilidade do produto para prevenir infecção, mas também para reduzir os sinais clínicos e transmissão aos demais animais.

Prevenção da infecção, tanto da forma respiratória como abortiva, continua sendo um importante objetivo em todas as principais áreas criatórias de eqüinos. O grande valor do potro puro-sangue faz com que um único aborto torne-se uma grande perda econômica. Outro aspecto abordado por WITHERSPOON (1984) são as alterações respiratórias produzidas pelo HVE-1 em eqüinos jovens, as quais prejudicam sua performance atléctica.

Trabalhos de PURDY et al (1984) indicam que a vacinação em potros contra o HVE-1 deva iniciar entre o 3º e 4º mês de idade, quando a maioria dos anticorpos derivados matematicamente tenham chegado a níveis considerados não protetores. Estudos desenvolvidos por KENDRICK & STEVENSON (1979) apontaram que a ausência de anticorpos detectáveis de origem materna em soros de potros ocorreram aos 180 dias (com variação de 124-228 dias). AMIRBKOV et al (1986) postularam que títulos > 1:8 foram suficientes para proteger potros de um desafio com o HVE-1. KAWAKAMI et al (1974) apontaram que infecção prévia era um pré-requisito para estimular uma forte resposta de anticorpos quando do uso de vacinas inativadas para o HVE-1.

Contrário aos protocolos de vacinação indicados pelos fabricantes de vacina contra o HVE-1, WITHERSPOON (1984) recomenda o uso destas com maior freqüência do que o usual, apontando esta modificação como de importância crítica na aquisição de alto grau de eficácia. Para isto, o mesmo sugere que a primeira dose seja dada aos 30 dias pós-nascimento, com duas doses subseqüentes aos 60 e 90 dias.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Potros

O presente estudo foi desenvolvido com potros pertencentes ao Haras Santa Maria do Araras, São José dos Pinhais (Paraná) e, as atividades laboratoriais desenvolvidas no Setor de Virologia da Universidade Federal de Santa Maria. Para tal, utilizou-se 61 potros puro-sangue de corrida, filhos de éguas que receberam três doses de vacina inativada (Pneumoabort-K)<sup>a</sup> contra o HVE-1 ao 5º, 7º e 9º mês de gestação.

Os animais foram monitorados sorologicamente do nascimento até o sexto mês de vida (3, 6, 12, 18 e 24 horas; 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 71, 86, 101, 116, 131, 146, 161 e 176 dias), para a detecção de anticorpos contra o HVE-1.

### - Soros

Todos os soros coletados foram centrifugados para clarificação e inativados a 56° C por 30 minutos, sendo então conservados a -18° C para posterior utilização.

### - Vírus

O HVE-1 utilizado na prova de soro-neutralização em microplaca foi a cepa RAC H<sup>b</sup> (subtipo 1).

### - Células utilizadas e diluente

Utilizou-se células de rim de coelho (RK<sub>13</sub>) e como diluente MEM<sup>c</sup> adicionado de antibióticos e antifúngicos (240UI de penicilina<sup>d</sup>, 0,2mg de estreptomicina<sup>e</sup> e 0,02mg de fungizon<sup>f</sup>, por ml).

### Sorologia

Para a detecção de anticorpos contra o HVE-1 utilizou-se a prova de soro-neutralização (SN) em microtécnica (CARBREY et al, 1971). Para cada grupo de amostras de soro testadas, o vírus era retitulado pelo método descrito por REED & MUENCH (1938) e com a utilização de padrões conhecidos de soro positivo e negativo. As placas eram observadas diariamente e o re-



sultado anotado quando a titulação do vírus apresentava de 100-400  $DICT_{50}$  (dose infectante em cultivo de tecido), sendo consideradas positivas as amostras nas quais havia neutralização do efeito citopático do vírus (ECP) e negativas quando havia ECP caracterizado por lise celular.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do presente estudo pode-se constatar que os maiores e menores títulos geométricos encontrados situaram-se as 18 horas e aos 161 dias com valores de 37,74 e 1,04, respectivamente (Figura 1).

O aumento nos níveis de anticorpos a partir da primeira coleta evidencia que anticorpos produzidos pela égua são transferidos via colostro, e esse mecanismo é de vital importância para o potro neonato, no que diz respeito a sua capacidade de enfrentar microrganismos presentes no meio. Isto deve-se ao fato de que, ao nascer, o potro é hipo ou agamaglobulinêmico (JEFFCOTT, 1974; WHITE & PUGH, 1988).

O nível máximo de anticorpos específicos ao HVE-1, verificados 18 horas pós-parto, corrobora com os achados de SILVA et al (1984) trabalhando com imunoglobulinas totais, ao passo que os menores (161 dias) estão de acordo com a afirmação de JEFFCOTT (1979) e KENDRICK & STEVENSON (1979). Assim sendo, a imunidade passiva no potro não se estende por mais de seis meses, sendo que mesmo antes disto os níveis de anticorpos detectados são de valor protetor duvidoso (JEFFCOTT, 1979; KENDRICK & STEVENSON, 1979). Ressalta-se que aos 176 dias de idade, começou a ocorrer um leve aumento no título geométrico médio (GMT) provavelmente em resposta a uma infecção subclínica com conseqüente resposta imune ativa.

Os valores do título médio geométrico (GMT) aqui reportados são menores do que os habitualmente comentados na literatura estrangeira, quando da avaliação de títulos referentes à imunidade passiva. Uma possível explicação para isto seria o fato de que a imunidade para o HVE-1 é de curta duração e há necessidade de infecção prévia pelo HVE-1 para a estimulação de altos níveis de anticorpos quando da utilização de vacinas inativadas, como descrito por KAWAKAMI et al (1974).

Outro aspecto a ser abordado é de que a maior

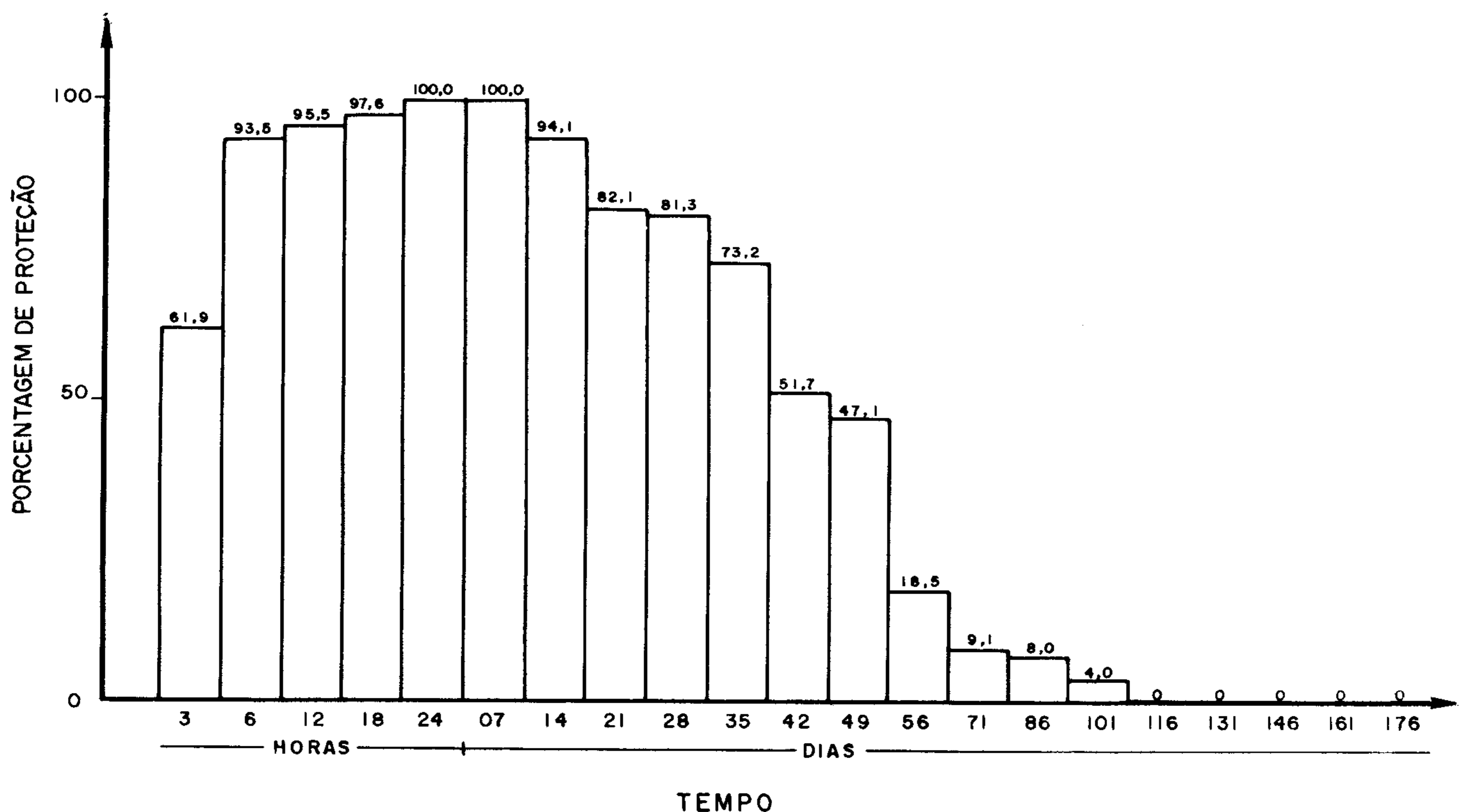


FIGURA 1 - Porcentagem de potros protegidos contra o Herpesvirus equino tipo 1 de acordo com a época da coleta de sangue considerando o título de  $> 1:8$  em soroneutralização como protetor (AMIRBKOV et al, 1986).

diluição do soro utilizada no presente trabalho foi de 1:128, ficando desta maneira alguns títulos subestimados, os quais porventura poderiam apresentar níveis mais elevados de anticorpos e conseqüentemente alterariam o valor do GMT.

Com relação a persistência dos títulos de anticorpos soroneutralizantes (Tabela 1), pode-se constatar que a partir do 28º dia houve um decréscimo nos níveis de anticorpos (títulos máximo e mínimo), sugerindo um catabolismo por parte destes, assim como uma possível diluição em função do aumento do peso corporal (McGUIRE & CRAWFORD, 1973).

A utilização do título na diluição de 1:8 como padrão de proteção (AMIRBKOV, 1986) possibilitou a verificação do percentual da população protegida na época da coleta (Figura 1). Assim, a população estudada encontrava-se 100% protegida desde as 24 horas até o 7º dia pós-nascimento. A partir daí os títulos foram decrescendo, estando 50% da população protegida por volta dos 45 dias. Ressalta-se aqui o papel fundamental

TABELA 1 - Níveis de anticorpos soro-neutralizantes contra o Herpesvirus equino tipo 1 relacionando a idade do potro com o valor correspondente do título geométrico médio (GMT), o desvio padrão (DP) e os títulos mínimos e máximos em cada coleta.

IDADE	GMT	DP	TÍTULO		
			(MÍNIMOS/MÁXIMOS)		
03 h*	8,40	1,39	neg	/	1:64
06 h	20,35	1,13	1:4	/>	1:128
12 h	35,63	1,36	1:4	/>	1:128
18 h	37,74	1,19	1:4	/>	1:128
24 h	34,82	1,17	1:8	/>	1:128
07 d**	25,28	0,99	1:8	/>	1:128
14 d	14,35	1,00	1:2	/>	1:128
21 d	11,03	1,05	1:2	/>	1:128
28 d	9,88	0,99	neg	/	1:32
35 d	8,00	0,94	neg	/	1:32
42 d	6,00	0,91	neg	/	1:16
49 d	5,06	0,95	neg	/	1:16
56 d	3,25	0,89	neg	/	1:8
71 d	2,44	0,89	neg	/	1:8
86 d	2,30	0,87	neg	/	1:8
101 d	2,08	0,78	neg	/	1:8
116 d	1,50	0,60	neg	/	1:4
131 d	1,18	0,47	neg	/	1:4
146 d	1,09	0,45	neg	/	1:4
161 d	1,04	0,23	neg	/	1:2
176 d	1,17	0,53	neg	/	1:4

\* - Horas

\*\* - Dias

desempenhado pela imunidade celular quando de infecções herpéticas e o seu provável incremento quando da utilização de vacinas inativadas, contribuindo também para a aquisição de um bom **status** imunitário.

A recomendação de PURDY et al (1978) e FLYNN (1984) é para que a primovacinação em potros seja efetuada entre o 3º e 4º mês de vida. No entanto, baseado nos resultados encontrados recomenda-se a vacinação por volta dos dois meses de idade, visto que nessa idade grande parte da população estudada apresentava níveis de anticorpos provavelmente insuficientes frente a um desafio de campo.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Médicos Veterinários Inês Nicolosso Castro de Luz, Flávio Desessards De La Corte, Joaquim Lopes de Alda e Carlos Antonio Mondino Silva pela coleta e cedência das amostras para a realização do presente trabalho.

#### FONTES DE AQUISIÇÃO

- a - Pneumoabort-K - Fort Dodge Laboratories, Iowa, USA.
- b - RAC H - Escola Superior de Veterinária, Hannover, Alemanha.
- c - MEM - Eagle's Minimal Essential Medium Gibco - Gran Island USA.
- d - PENICILLIN SQUIBB - Squibb and Sons, Inc., Princeton, New Jersey, USA.
- e - STREPTOMICIN SULFATE PFIZER - Laboratories Division Pfizer, Inc., New York, USA.
- f - FUNGIZON - Squibb Indústria Química - Av. João Dias, 1084 - Santo Amaro, SP.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, G.P., BRYANS, J.T. Molecular epizootiology, pathogenesis and prophylaxis of equine herpesvirus infection. In: **Prog Vet Microb Immun**, s.ed., v. 2, 1986, p. 78-144.
- AMIRBKOV, M., YUROV, K.P., KRYUKOV, N.N. Formation of post vaccinal immunity in equine rhinopneumonitis. **Veterinariya** v. 5, p. 34-36, 1986.
- BAGUST, T.J. The equine herpesviruses. **Vet Bull**, v. 41, n. 2, p. 79-92, 1971.
- CARBREY, E., BROWN, L.N., T.L., et al. Recommended standard laboratory techniques for diagnosing infectious bovine rhinotracheitis, bovine virus diarrhea and shipping fever (parainfluenza-3). **Proc Us Anim Hith Assoc**, v. 75, p. 629-648, 1971.
- DOLL, E.R., BRYANS, J.T. Epizootology of equine viral



- rhinopneumonitis. *J Am Vet Med Assoc*, v. 185, n. 1, p. 31-37, 1963.
- FLYNN, D.V., BAILEY, J.M., KAHRS, R.F. Guidelines for vaccination of horses. *J Am Vet Med Assoc*, v. 185, n. 1, p. 32-34, 1984.
- GREEN, P. Equine rhinopneumonitis. *Vet Rec*, v. 124, n. 15, p. 409, 1989.
- HIGGINS, W.P., GILLESPIE, J.H., ROBSON, D.S. Studies of maternally-acquired antibodies in the foal to equine influenza A1 and A2, and equine rhinopneumonitis. *Equine Vet Sc.* v. 7, n. 4, p. 207-210, 1987.
- HUSTEAD, D.R. **Rhinopneumonitis protection.** Fort Dodge Laboratories, USA, Technical Information, May, 22, 1991.
- JEFFCOTT, L.B. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. *Equine Vet J*, v. 6, n. 3, p. 109-115, 1974.
- JEFFCOTT, L.B. Aspectos práticos a respeito da imunidade passiva no potro recém-nascido. In: CICLO INTERNACIONAL DE CLINICA VETERINÁRIA EQUINA, 1979. São Paulo, *Anais...*, São Paulo, Gráfica Cairu, 1979, 263 p.
- KAWAKAMI, Y., SHIMIZU, V., MURASE, N. Vaccination of mares against abortion due to equine rhinopneumonitis virus. *Nat Inst Anim Hlth Quart*, v. 14, p. 209, 1974.
- KENDRICK, J.W., STEVENSON, W. Immunity to equine herpesvirus 1 infection in foals during the first year of life. *J Reprod Fert*, v. 27, p. 615-618, 1979.
- KOHN, C.W., KNIGHT, D., HUESTON, W. et al. Colostral and serum IgG, IgA, and IgM concentrations in standardbred mares and their foals at parturition. *J Am Vet Med Assoc*, v. 195, n. 1, p. 64-68, 1989.
- McGUIRE, I.C., CRAWFORD, T. B. Passive Immunity in the foal: Measurement of Immunoglobulin classes and specific antibody. *Am J Vet Res*, v. 34, n. 10, p. 1299-1303, 1973.
- MUMFORD, J.A. The epidemiology of equid herpesvirus abortion: a tantalising mystery. *Equine Vet J*, v. 23, n. 2, p. 77-78, 1991.
- PEARSON, R.C., HALLOWELLS, A.L., BAYLY, W.M. et al. Times of appearance and disappearance of colostral IgG in the mare. *Am J Vet Res*, v. 45, n. 1, p. 186-190, 1984.
- PLATT, H. Acute infections in young foals. *In Pract*, v. 5, n. 2, p. 41-49, 1983.
- PURDYM C.W., PORTER, R.C., FORD, S.J. Equine rhinopneumonitis vaccine: Immunogenicity and safety in foals. *Am J Vet Res*, v. 39, n. 5, p. 745-752, 1978.
- REED, R.H., HUENCH, H. A single method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Hyg*, v. 27, p. 493-497, 1938.
- SILVA, C.A.M., RUBIN, M.I.B., WAIRICH, F.L., et al. Diagnóstico de imunidade passiva adotiva adquirida através do colostro no potro recém-nascido. *Pesq Vet Bras*, v. 4, n. 1, p. 11-15, 1984.
- WHITE, S.L., RUGH, D.G. Passive immunoglobulin protection for the colostrum-deprived foal. *Equine Pract*, v. 10, n. 9, p. 24-26, 1988.
- WITHERSPOON, D.M. Vaccination against equine herpesvirus 1 and equine influenza infection. *Vet Rec*, v. 115, n. 14, p. 363, 1984.